ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

XII ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ СТУДЕНТОВ И АСПИРАНТОВ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

«МОЛОДАЯ ФАРМАЦИЯ – ПОТЕНЦИАЛ БУДУЩЕГО»

14 марта – 18 апреля 2022 года

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ КОНФЕРЕНЦИИ

PROCEEDINGS OF THE CONFERENCE

BIOCAD Biotechnology Company

ВЕРТЕКС Фармацевтическая компания

Итоги конкурсной программы научных работ
XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов
с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего»

Трансляция пленарного заседания

https://spcpu.ru/himfarm_life/news/3095/

Официальная страница
XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов
с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего»

https://spcpu.ru/youngph/

young.pharm@pharminnotech.com

Программа конференции

https://docs.google.com/document/d/
e/2PACX-1vQsDM5M4nA7u7JN2vtWlrNPwJYv8YrsTtwRxgs2iZl_rZ90hKn4csFj
GFQL4l7skPpchAiqZTvtTL1C/pub

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**XII ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
СТУДЕНТОВ И АСПИРАНТОВ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

«МОЛОДАЯ ФАРМАЦИЯ – ПОТЕНЦИАЛ БУДУЩЕГО»

14 марта – 18 апреля 2022 года

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ КОНФЕРЕНЦИИ

PROCEEDINGS OF THE CONFERENCE

УДК 615.1+661.12(063)
ББК 52.82+52.81я54
М75

М75 «Молодая фармация – потенциал будущего», XII всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием (12 ; 2022; Санкт-Петербург). Сборник материалов конференции=Proceeding of the conference «Молодая фармация – потенциал будущего», 14 марта – 18 апреля 2022г. – Санкт-Петербург : Изд-во СПХФУ, 2022 . – 1362, [14] с. : ил.

ISBN 978-5-8085-0541-4

Сборник содержит тезисы докладов студентов, аспирантов, соискателей, стажеров-исследователей, молодых ученых ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России и других фармацевтических, медицинских и технических вузов Российской Федерации и ряда других государств, представленные на XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», 2022 г.

Все материалы публикуются в авторской редакции.

УДК 615.1+661.12(063)
ББК 52.82+52.81я54

ISBN 978-5-8085-0541-4

© Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, 2022

Уважаемые коллеги!

Традиционно, весной мы подводим итоги научных исследований студентов и аспирантов. Лучшие работы собраны в Сборнике материалов XII Всероссийской конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего».

Конференция как платформа для обсуждения актуальных вопросов интенсивно развивающейся фармацевтической отрасли дает возможность научной коммуникации, обмена знаниями и опытом как между студентами, аспирантами и их научными руководителями – представителями учебных заведений Российской Федерации и иностранных вузов-партнеров, так и с представителями фармацевтических компаний, а также является уникальной площадкой демонстрации последних достижений фармацевтической отрасли.

В ходе дискуссии участники конференции рассмотрели широкий круг актуальных профессиональных проблем, обменялись накопленным опытом и передовыми практиками.

Успешный опыт проведения конференции предыдущего года в онлайн-формате был вновь востребован. Несмотря на ограничения нам удалось расширить географию участников и экспертного сообщества. Конференция стала значимым событием, отвечающим современным вызовам.

Желаю всем участникам конференции дальнейшей плодотворной работы, интересных дискуссий, новых идей и достижения намеченных целей!

Игорь Анатольевич Наркевич,
Ректор ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России

Дорогие студенты и аспиранты, неравнодушные исследователи, а возможно, и будущие коллеги!

Наука – это креативно и реактивно. Красиво и амбициозно. Мощно и футуристично. Наука – это вы, стратеги и строители завтрашнего дня, предвестники изменений, которые опережают время.

Фармацевтическая компания «ВЕРТЕКС» традиционно поддерживает конференцию как одно из знаковых событий для молодых ученых.

Вы своими руками творите то, что до вас никто не делал. От вашего интеллекта и воплощения идей зависит, как будут жить новые поколения. Это ваш выбор, предназначение и колоссальная ответственность. Но вы идете по этому пути. Желаю вам не сворачивать с него и следовать к своей цели, даже если результаты вашего труда не будут сиюминутными.

Сейчас время возможностей для отечественных компаний и российской науки. Они попадают в зону пристального внимания благодаря социальной значимости и укреплению национальной независимости.

Несмотря на непростой период, в приоритете оказываются российские фармпроизводители. Как и в предыдущие кризисы, они выходят на передний план с точки зрения импортозамещения и инноваций. Рекомендую вам обратить внимание именно на отечественных лидеров фарминдустрии, потому что в любой неоднозначной ситуации перемен они обеспечат вам перспективы и защищенность в нашей стране. Во всяком случае, приложат для этого все усилия. А сейчас у них есть весомые преимущества.

Желаю вам результативных дней конференции, эффективного нетворкинга, зорких глаз, острого ума, незаурядных решений, стремлений к высоким целям и непрерывного движения к новым открытиям.

С пожеланием успеха и здоровья,
Георгий Побелянский,
генеральный директор фармацевтической компании «ВЕРТЕКС»

ВЕРТЕКС
Фармацевтическая компания

Дорогие друзья и будущие коллеги!

Рад приветствовать вас на XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «МОЛОДАЯ ФАРМАЦИЯ – ПОТЕНЦИАЛ БУДУЩЕГО». За 12 лет, «МОЛОДАЯ ФАРМАЦИЯ» стала одной из самых востребованных площадок для обмена опытом и обсуждения прорывных технологий фармацевтики будущего, способных качественно изменить будущее каждого человека.

Развитие науки, поиск свежих и уникальных решений, способных вносить вклад в улучшение жизни людей являются для BIOCAD важнейшими задачами. Мы уделяем особое внимание поиску и развитию молодых и талантливых специалистов, способных внести существенный вклад в российские биотехнологии. Именно поэтому на протяжение одиннадцати лет BIOCAD является партнером Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета, а высокотехнологичные производственные и научно-исследовательские площадки компании стали приоритетными базами для практики студентов учебного заведения.

Биотехнологии – это быстроразвивающаяся и невероятно перспективная отрасль, которая по темпам развития уже опережает IT-технологии. Каждый из вас, студентов с горящими глазами и инновационными идеями, может сделать шаг для того, чтобы стать частью великих преобразований и вписать свое имя в историю!

Выражаю особую благодарность ректорату и преподавательскому составу Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета за огромный вклад в подготовку профессиональных кадров для развития фармацевтической отрасли в России!

Желаю удачи и успехов всем участникам конференции!

Дмитрий Валентинович Морозов,
Председатель совета директоров компании BIOCAD

BIOCAD
Biotechnology Company

Программа стажировок
Новое поколение «ВЕРТЕКС»

Получи опыт до вручения диплома

«ВЕРТЕКС» - один из крупнейших фармпроизводителей России с современным производством, созданным в соответствии с мировыми стандартами.

Лекарства
• Оригинальные комбинированные препараты композиции
• Оригинальные препараты в разработке
• Дженерики
Косметические средства
Биологически активные добавки

Мы заботимся об улучшении качества жизни и укреплении здоровья миллионов людей, производя эффективные, безопасные, качественные и доступные продукты

Стажировка «Новое поколение «ВЕРТЕКС» - это

- Опытный наставник
- Ежемесячная стипендия
- Компенсация дороги и проживания
- Индивидуальная программа
- Включение в кадровый резерв
- Отзыв работодателя и рекомендации

Когда проходит стажировка?

С июля по сентябрь
Срок подачи заявки: до 25 мая
Продолжительность стажировки – 4 недели.

ВЕРТЕКС
Фармацевтическая компания
https://career.vertex.spb.ru/
https://vk.com/vertex_career

BIOCAD
Biotechnology Company

BIOCAD — международная инновационная биотехнологическая компания, объединяющая научно-исследовательский центр мирового уровня, современное фармацевтическое производство, доклинические и клинические исследования.

Компания производит препараты предназначеные для лечения самых сложных заболеваний, таких как рак, ВИЧ, рассеянный склероз и т. д. Наш приоритет — непрерывная работа над инновационными проектами в области разработки препаратов для новых биологических мишеней.

Главная ценность компании — её команда. Каждый сотрудник BIOCAD сочетает в себе уникальный опыт и знания!

61 препарат в портфеле, **из них 9** оригинальные, **22 —** биологические

Более 40 препаратов в разработке

32 года — средний возраст сотрудников

Более 40 лабораторий

Более 2800 сотрудников, **из них 30%** научные сотрудники

4 зарубежных офиса **9** производственных площадок

Стажировка

Стажировка — это возможность попробовать себя в роли сотрудника компании, прокачать практическиенавыки и узнатьто, чему ненаучат в университете!

Срок: от 1 до 3 месяцев

Стипендия: 35 000 рублей в месяц (до вычета НДФЛ)

Сезон: лето (отбор с марта) и зима (отбор с октября)

График: от 30 часов в неделю

Свяжитесь с нами:
+7 (812) 380 49 ::, biocad@biocad.ru
biocad.ru

Сканируй QR-КОД
и узнай о всех возможностях для старта карьеры мечты

Секция 1. Фармацевтические субстанции и вспомогательные вещества: новое в технологиях органического синтеза

Секция «Фармацевтические субстанции вспомогательные вещества: Новое в технологии органическом синтезе» открывала второй этап XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» 11 апреля. В работе приняли участие студенты, магистранты и аспиранты университетов и научно-исследовательских институтов России и Финляндии.

Необходимо отметить значительное разнообразия тем докладов, среди которых можно выделить несколько направлений органического синтеза и химической технологии фармацевтических субстанций, такие как химия и технология биологически активных карбоциклических и гетероциклических соединений, изучение новых элементорганических соединений, синтез новых природных материалов на основе аминирования лигнина, поиск новых технологий получения вспомогательных веществ для фармацевтической промышленности, синтез модицфицированных полисахаридов и другие.

Такое разнообразие тем, вызвало неподдельный интерес со стороны всей аудитории секции, значительное количество вопросов и дискуссию, нацеленную на продолжение работы и сотрудничество в дальнейшем между участниками и университетами, которые они представляли.

Также в работе секции приняли участие партнеры и спонсоры конференции, представители одной из ведущих фармацевтических компаний России АО Вертекс, АО Биокад.

В результате продолжительных обсуждений и дискуссий, была отмечена актуальность, теоретическая и практическая значимость для науки и отрасли всех докладов и при этом был сделан нелегкий выбор победителя секции – лучшего среди равных. Им стала Труханова Юлия Александровна с докладом на тему «Синтез новых производных пирролидин-2,5-диона, обладающих анальгезирующей активностью».

Без сомнений, работа секции «Фармацевтические субстанции вспомогательные вещества: Новое в органическом синтезе» стала заметным событием в химической науке.

Модератор секции
Борис Юрьевич Лалаев,
заведующий кафедрой ХТЛВ, к.х.н., доцент

УДК 66.095.253.094.524.5

ПОДХОД К СИНТЕЗУ САЛИЦИЛАНИЛИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ КАРБОКСИМЕТИЛЬНУЮ ГРУППУ

Васендин М.И., студ. 4 года обучения
Научный руководитель: **Дударев В.Г.**, канд. хим. наук, доцент кафедры ХТЛВ
(ORCID: 0000-0002-8003-3173)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: maksim.morozov@pharminnotech.com

В рамках проведённого исследования была предложена последовательность синтеза трёх изомеров (дихлорнитрофенокси)уксусных кислот для дальнейшего синтеза растворимых в воде салициланилидов с потенциальной антигельминтной активностью. Полученные производные могут обладать повышенной биодоступностью, а также более широким спектром действия против как кишечных, так и внекишечных гельминтов.

Ключевые слова: *салициланилид, карбоксиметильная группа, антигигельминтная активность, биодоступность, растворимость в воде.*

Гельминтозы – заболевания человека, животных и растений, вызываемые гельминтами – паразитическими червями. На данный момент в мире различными гельминтозами заражено более одного миллиарда человек. Среди гельминтозов органов пищеварения можно выделить наиболее опасную группу заболеваний – гельминтозы печени – описторхидозы. В мире заражены описторхозом до 40 миллионов людей и от 600 до 750 миллионов попадают в группу риска. География распространения описторхоза – территорию следующих стран: Россия, Таиланд, Корея, Китай и другие страны Евразии. В частности, зараженность описторхозом в Западной Сибири составляет не менее 30–60 %, на Урале – 20–40 % населения. Пациенты, страдающие от инвазии печеночных сосальщиков, могут быть выявлены далеко за пределами районов, эндемичных по данным гельминтозам и происходит распространение описторхоза на новые территории. Согласно классификации ВОЗ гельминтозы являются основным фактором риска развития онкологических заболеваний печени.

Несмотря на широкое распространение гельминтозов печени, тяжелые последствия паразитической инвазии и большое количество исследований на мировом рынке представлено ограниченное количество препаратов для лечения гельминтозов. В настоящее время для лечения описторхоза и клонорхоза применяют антигельминтные препараты широкого спектра действия. Основными препаратами на рынке являются альбендазол, мебендазол и празиквантел, среди которых лидером рынка является празиквантел. Все перечисленные препараты обладают рядом недостатков. В частности, празиквантел не является лекарственным препаратом, совершенным во всех отношениях, поскольку: неэффективен в отношении яиц и незрелых червей; обладает тяжелыми побочными эффектами, в том числе вызывающими поражения печени, может формировать резистентные формы гельминтов, не предотвращает реинфекции и применяется в виде рацемической смеси, а не в виде чистой активной формы, что ухудшает его фармакологические характеристики. Тем не менее, на сегодняшний день он, видимо, остается наиболее эффективным и востребованным лекарственным средством для лечения гельминтозов трематодной этиологии.

Несмотря на активные исследования за последние несколько десятков лет, появилось крайне мало новых антитрематодных средств. Научная проблема лечения гельминтозов связана со сложным жизненным циклом паразитов, которые включают до 7 жизненных форм и несколько промежуточных хозяев. Ситуация осложняется также тем, что ни одна из антигельминтных лекарственных субстанций не производится в России. В качестве причин следует отметить сложность синтеза (так, например, синтез празиквантела включает 10 стадий) и труднодоступность некоторых реагентов (например, 5-хлорсалициловой кислоты для синтеза фенасала, 2,3-дихлорфенола для синтеза триклабендазола).

Среди антигельминтных средств большой интерес представляет собой группа галогензамещённых салициланилидов, к которой относятся фенасал, рафоксанид, клозантел и оксиклозанид. В СПХФУ и Всероссийском научно-исследовательском институте фундаментальной и прикладной паразитологии им. К. И. Скрябина был исследован ряд салициланилидов для определения зависимости «структура-активность», а также их фармакотоксикологические свойства. В недавних работах показано, что *N*-(4-алкокси-3-галогенфенил)амиды 3,5-дигалогенсалициловой кислоты обладают заметной антигельминтной активностью в отношении *Hymenolepis nana*, причём в ряду бромпроизводных наиболее активно и мало токсично этоксипроизводное [1]. Показано также, что *N*-(4-метил-3-хлорфенил)-2-ацетокси-3,5-дихлорбензамид (соединение под шифром МСТ-02) обладает малой токсичностью, не эмбриотоксичен для крыс и в то же время обладает высокой активностью в отношении кишечных гельминтозов – гименолепидоза, стронгилятоза и мониезиоза.

Синтез салициланилидов достаточно прост (3-4 химические стадии), не требует труднодоступных реактивов, а потому коммерчески выгоден. Однако в силу крайней малой растворимости в воде ограничено их всасывание в желудочно-кишечном тракте и биодоступность [2]. Так, в работе [3] показано, что соединение МСТ-02 действует на *O. filineus in vitro*, но малоактивен *in vivo* на модели с хомяками. Повысить растворимость в воде можно введением в молекулу гидрофильных групп, таких как карбоксильные, сульфогруппы, аммониевые катионы и т. д. В то же время необходимо сохранить в структуре алкоксигруппы, поскольку известно, что их наличие придаёт веществам достаточно высокую противогименолепидозную активность. Поэтому в качестве заместителей нами было предложено использовать карбоксиметильные группы.

Основная часть

Материалы и методы

Предложен путь синтеза трёх изомерных дихлорнитрофеноксиуксусных кислот, исходя из технического 2,4-дихлорфенола, фенола или 4-нитрофенола. В работе также использовали хлоруксусную кислоту, гидроксид натрия, соляную кислоту конц., серную кислоту конц., метилхлорацетат, гидроксид калия, тетрабутиламмония йодид, калия карбонат, пероксид водорода, уксусную кислоту.

Результаты и обсуждение

1. Получение (4-нитро-2,6-дихлорфенокси)уксусной кислоты.

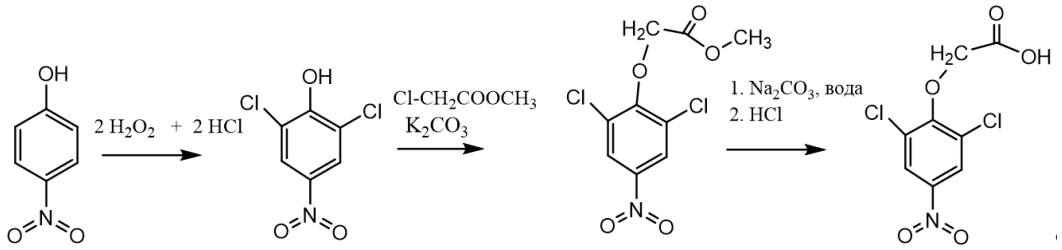


Рис. 1. Химическая схема получения (4-нитро-2,6-дихлорфенокси)уксусной кислоты

4-Нитрофенол подвергали окислительному хлорированию смесью пероксида водорода и соляной кислоты. После превращения продукта в калиевую соль с выходом 81 % проводили алкилирование метилхлорацетатом в присутствии 2 % мол. межфазного катализатора тетрабутиламмония иодида с почти количественным выходом. Гидролиз сложноэфирной группы проводили водным раствором карбоната натрия, после чего подкисляли концентрированной соляной кислотой, получая 4-нитро-2,6-дихлорфеноксиуксусную кислоту.

Спектры ЯМР полностью соответствуют строению полученных веществ. Так, в спектре ^{1}H ЯМР метилового эфира 4-нитро-2,6-дихлорфеноксиуксусной кислоты наблюдаются сигналы протонов ароматического кольца (8,37 ppm, 2H, s), протонов метиленовой группы (4,90 ppm, 2H, s), протонов метильной группы (3,74 ppm, 3H, s). В спектре ^{13}C метилового эфира наблюдаются сигналы атомов углерода карбонильной группы (168,1 ppm), ароматического кольца (125,1-155,7 ppm), метиленовой группы (69,8 ppm), метильной группы (52,5 ppm) (рис. 2).

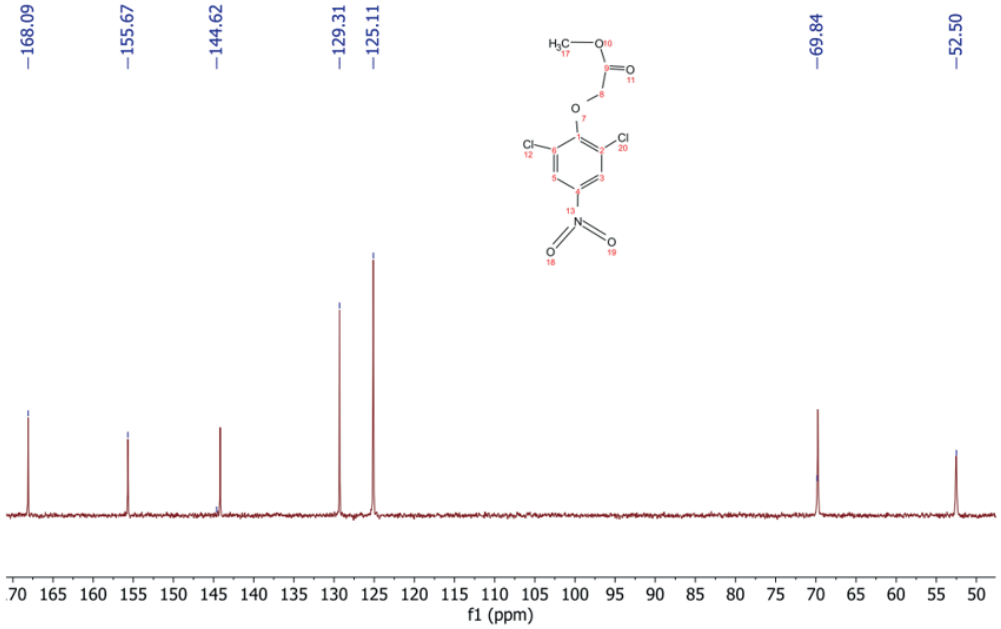


Рис. 2. Спектр ЯМР ^{13}C метилового эфира (4-нитро-2,6-дихлорфенокси)уксусной кислоты

2. *Получение (6-нитро-2,4-дихлорфенокси)уксусной кислоты.*

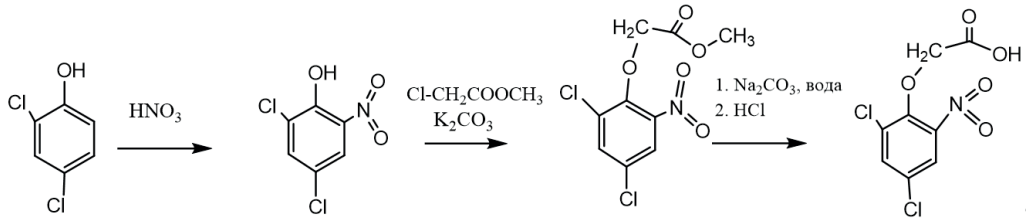


Рис. 3. Химическая схема получения (6-нитро-2,4-дихлорфенокси)уксусной кислоты

2,4-Дихлорфенол нитровали нитрующей смесью, затем превращали 2,4-дихлор-6-нитрофенол в калиевую соль и карбоксиметилировали метиловым эфиром хлоруксусной кислоты в присутствии 2 % мол. межфазного катализатора тетрабутиламмония иодида. Выход после нитрования и получения калиевой соли 82 %, а на стадии карбоксиметилирования почти количественный. После гидролиза метилового эфира раствором соды и подкисления соляной кислотой получали (6-нитро-2,4-дихлорфенокси)уксусную кислоту.

Спектры ЯМР полностью соответствуют строению полученных веществ. Так, в спектре ^{1}H ЯМР метилового эфира (6-нитро-2,4-дихлорфенокси)уксусной кислоты наблюдаются сигналы протонов ароматического кольца (8,1 ppm, 2H, s), протонов метиленовой группы (4,85 ppm, 2H, s), протонов метильной группы (3,34 ppm, 3H, s). В спектре ^{13}C метилового эфира наблюдаются сигналы атомов углерода карбонильной группы (168,3 ppm), ароматического кольца (124,4-145,7 ppm), метиленовой группы (70,5 ppm), метильной группы (52,5 ppm) (рис. 4).

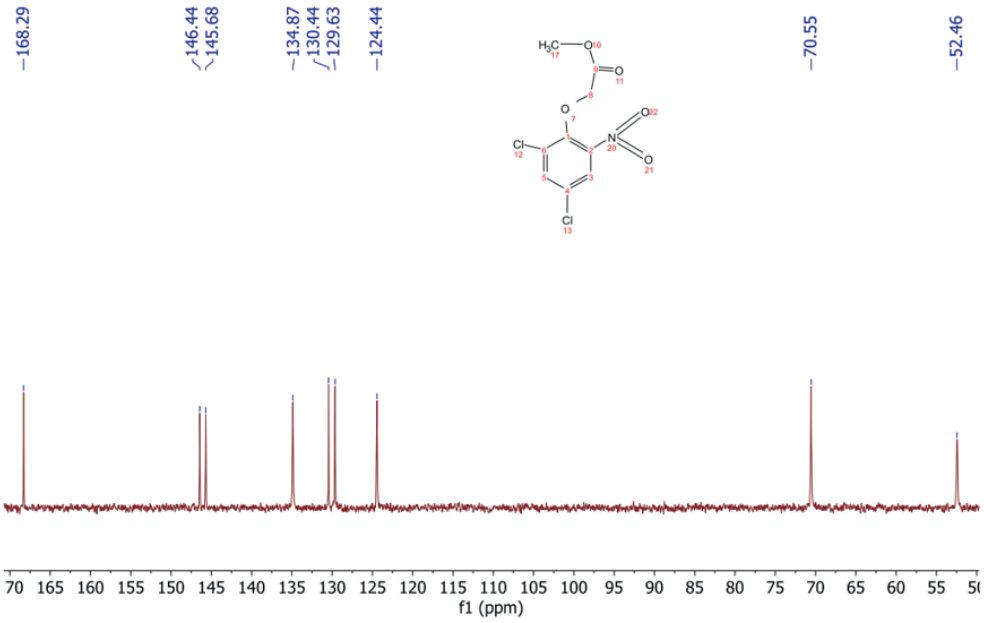


Рис. 4. ^{13}C ЯМР спектр метилового эфира (6-нитро-2,4-дихлорфенокси)уксусной кислоты

3. *Получение (5-нитро-2,4-дихлорфенокси)уксусной кислоты.*

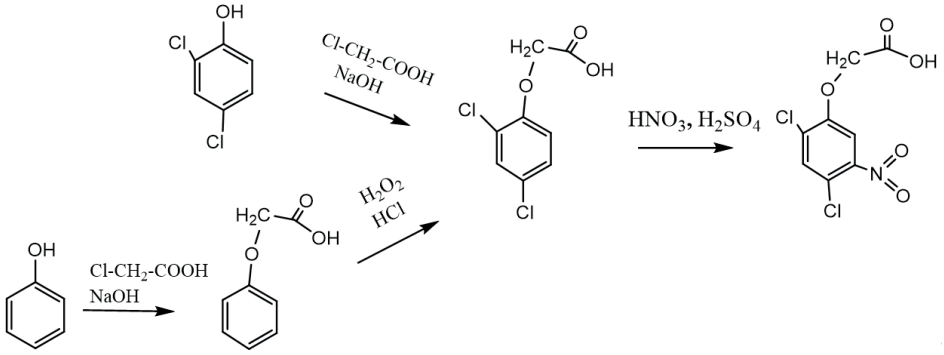


Рис. 5. Химическая схема получения (5-нитро-2,4-дихлорфенокси)уксусной кислоты

Анализ литературы показал, что при синтезе 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (известного пестицида) возможны два пути: хлорирование феноксиуксусной кислоты или карбоксиметилирование 2,4-дихлорфенола. Первый путь более предпочтителен для лабораторных условий, поскольку хлорирование фенола трудно контролируется и приводит к образованию примесей высокотоксичных диоксинов [4]. Выход на стадии хлорирования феноксиуксусной кислоты составляет 80 %. Нитрование полученного продукта нитрующей смесью проходит достаточно селективно в 5-положение с выходом после очистки 75 % [5].

Спектры ЯМР полностью соответствуют строению полученных веществ. В спектре ^{1}H ЯМР (5-нитро-4,6-дихлорфенокси)уксусной кислоты наблюдаются сигналы протонов ароматического кольца (7,83 ppm, 1H, s; 8,09 ppm, 1H, s), протонов метиленовой группы (4,98 ppm, 2H, s). В спектре ^{13}C наблюдаются сигналы атомов углерода карбонильной группы (168,3 ppm), ароматического кольца (126,4-145,4 ppm), метиленовой группы (70,1 ppm).

Заключение

В результате работы из доступного сырья несложными методами получены три изомера (дихлорнитрофенокси)уксусных кислот и доказано их строение. В дальнейшем планируется восстановление нитрогрупп, синтез амидов хлорсалициловых кислот, изучение растворимости в воде полученных производных.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.00.00. Химия
31.21.00 Органическая химия

ЛИТЕРАТУРА

1. Сравнительная оценка противогименолепидозной активности ряда хлор- и бромпроизводных салициланилидов / Г.А. Гицу [и др.] //Мед. паразитол. и паразит. бол. 2015. № 1. С. 42.

2. Физико-химические свойства и противоописторхозное действие механохимически синтезированных супрамолекулярных комплексов албендазола и полисахарида арабиногалактана из лиственниц Larix sibirica и Larix gmelinii / Ю.С. Чистяченко [и др.] //Доклады академии наук. 2014. Том 456. № 6. С. 1–3. DOI: 10.7868/S0869565214180273.

3. Влияние N-(4-метил-3-хлорфенил)-2-ацетокси-3,5-дихлорбензамида на половозрелых и ювенильных особей O. felineus в условиях in vitro и in vivo / Д.Ф. Августинович [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. 2017. Т. 37. №3. С. 17-26.

4. Process for the preparation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid: пат. EP 0 509 518 A1. Италия. Int. CI.5: C07C 51/363. N92106647.8/ Заявл.: 16.04.1992. Опубл.: 21.10.1992. 4 с.

5. Cavill G.W.K., Ford D.L. The Chemistry of Plant-growth Regulators. Part I. 2,4-Dichloro-6-hydroxyphenoxyacetic Acid and Related Compounds // Journal of the Chemical Society (Resumed). 1954. P. 565-568.

SUMMARY

AN APPROACH TO THE SYNTHESIS OF SALICYLANILIDES CONTAINING A CARBOXYMETHYL GROUP

Vasendin M.I., 4th year student
Academic advise: **Dudarev V.G.**, Candidate of Chemistry, Lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: maxim.morozov@pharminnotech.com

As part of the study, a sequence of synthesis of three isomers (dichloronitrophenoxy)acetic acids was proposed for further synthesis of water-soluble salicylanilides with potential anthelmintic activity. The resulting derivatives may have increased bioavailability, as well as a wider spectrum of action against both intestinal and extra-intestinal helminths.

Keywords: *salicylanilide, carboxymethyl group, anthelmintic activity, bioavailability, solubility in water.*

REFERENCES

1. Sravnitel'naja ocenka protivogimenolepidoznoj aktivnosti rjada hlor- i bromproizvodnyh salicilanilidov / G.A. Gicu Safarova [et al.] // Med. parazitol. i parazit. bol. 2015. N 1. P. 42.

2.. Physico-chemical properties and antiopistorchotic action of mechanochemical synthesed supramolecular complexes of albendazole and polysaccharide arabinogalactane from larch Larix sibirica и Larix gmelinii / Y.S. Tchistiachenko [et al] // Reports of Academy of sciences. 2014. Vol. 456. № 6. P. 1–3. DOI: 10.7868/S0869565214180273.

3. Vlijanie N-(4-metil-3-hlorfenil)-2-acetoksi-3,5-dihlorbenzamida na polovozrelyh i juvenil'nyh osobej O. felineus v uslovijah in vitro i in vivo / D.F. Avgustinovich [et al.] // Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal. 2017. T. 37. N 3. P. 17-26.

4. Process for the preparation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid: patent EP 0 509 518 A1. Italy. Int. CI.5: C07C 51/363. Application number: 92106647.8.: Date of filing: 16.04.92. Date of publication of application: 21.10.92. – 4 p.

5. Cavill G.W.K., Ford D.L. The Chemistry of Plant-growth Regulators. Part I. 2,4-Dichloro-6-hydroxyphenoxyacetic Acid and Related Compounds // Journal of the Chemical Society (Resumed). – 1954. – P. 565-568.

УДК 544:582.3

БУФЕРНЫЕ СВОЙСТВА ИОННЫХ ЖИДКОСТЕЙ НА ОСНОВЕ СОЛЕЙ 2-БЕНЗИЛАМИНОЭТАНОЛА В РЕАКЦИЯХ МЕЧЕНИЯ БИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХЕЛАТОРОВ ИЗОТОПАМИ ^{68}Ga И ^{18}F

Гаврилов В.А.[1], студ. 4 курса
Научный руководитель: **Антуганов Д.О.**[2], химик-эксперт
[1]Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),
190013, Санкт-Петербург, Московский пр., д. 26, Российская Федерация
[2] ФГБУ «Российский научный центра радиологии и хирургических технологий
им. ак. А.М. Гранова» Министерства Здравоохранения РФ,
197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 70
E-mail: vlga2011@yandex.ru

В ходе данной работы было показано, что N-бензилэтаноламмониевые (BAE) соли биологически активных карбоновых кислот являются перспективными буферными агентами для получения комплексов бифункциональных хелатирующих агентов с изотопами металлов ($^{68}Ga^{3+}$ и $Al^{18}F^{2+}$) с высокой степенью радиохимической конверсии (РХК). Был проведен скрининг шестнадцати буферов на основе карбоксилатов BAE. Буферные агенты на основе бензоата, циннамата, гидросукцината и сукцината BAE ([BAE]Benz, [BAE]Cin, [BAE]HSucc и [BAE]Succ, соответственно) оказались наиболее эффективными в реакциях ^{68}Ga-радиомечения. Для реакций $Al^{18}F$-радиомечения наиболее подходящими оказались буферы на основе циннамата, салицилата и хлоркрезоксиацетата BAE ([BAE]Cin, [BAE]Sal, [BAE]ClCrez, соответственно).

Ключевые слова: *радиофармпрепараты, галлий-68, фтор-18, буферный раствор, бифункциональный хелатирующий агент.*

На сегодняшний день химия радиофармацевтических препаратов (РФП), меченных изотопами галлий-68 (^{68}Ga) и фтор-18 (^{18}F), является одним из наиболее перспективных направлений в области позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). ПЭТ является важным методом медицинской визуализации в диагностике онкологических заболеваний, мониторинге терапевтической эффективности, доклинических исследованиях и общей молекулярной визуализации. Действие ПЭТ основано на улавливании с помощью ПЭТ-сканера пары гамма-квантов, образующихся при аннигиляции позитронов с электронами. Позитроны возникают при распаде позитрон-излучающего радиоизотопа, входящего в состав РФП, который вводится в организм перед исследованием. Среди радионуклидов, используемых в ПЭТ, ^{68}Ga является одним из самых привлекательных, что обуславливается простотой его получения, а также оптимальными физическими свойствами ($T_{1/2}$ = 68 мин, 89% β+). Основным методом получения изотопа ^{68}Ga являются коммерческие сорбционные генераторы $^{68}Ge/^{68}Ga$ (^{68}Ge: $T_{1/2}$ = 270 дней). Альтернативным подходом является получение изотопа на малых медицинских циклотронах по ядерной реакции $^{68}Zn(p;n)^{68}Ga$ в жидкостной или твердотельной мишени. Основной реакционноспособной формой для изотопа галлий-68 является катион $^{68}Ga^{3+}$. Кроме того, ^{68}Ga в катионной форме способен образовывать комплексы с пептидами и другими макромолекулами, содержащими донорные атомы азота и кислорода в составе бифункциональных хелатирующих агентов. Например, одним из самых важных РФП для диагностики рака предстательной железы с помощью ПЭТ является пептид PSMA-HBED-CC (PSMA-11) в составе которого ациклический хелатор HBED-CC образует донорно-акцепторную связь с катионом $^{68}Ga^{3+}$ [1].

Для эффективного синтеза РФП очень важно правильно подобрать условия реакции (температура, pH среды и др.). Как правило, образование связи ^{68}Ga-хелатор возможно только в узком диапазоне pH (3,5–4,5)[2], в связи с чем во время ^{68}Ga-радиомечения буферный раствор должен обеспечивать pH раствора около 4, т.к. при повышении значения pH до 7 катион $^{68}Ga^{3+}$ будет переходить в коллоидную форму. Кроме того, он должен быть нетоксичным и предпочтительно обладать слабой способностью к комплексообразованию металлов, чтобы избежать образования комплексов с изотопом галлия. В настоящее время среди буферов, используемых в реакциях получения ^{68}Ga-радиомеченых пептидов, наиболее широко распространено соединение (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота) или HEPES. При всех его преимуществах, широко описанных во множестве источников [3], HEPES определен в Европейской фармакопее как токсичное вещество с максимальной суточной дозой для парентерального введения 200 мкг [4]. В результате, перед введением препарата в организм человека необходимо выполнять очистку РПФ (^{68}Ga-радиомеченых пептидов) методом твердофазной экстракции. В связи с этим в последние годы активно развивается направление использования протонных ионных жидкостей (ПИЖ) в качестве буферных растворов в синтезе РФП.

Ионные жидкости представляют собой большой класс соединений, состоящих из объемных органических катионов и анионов протонной кислоты с температурой плавления ниже температуры кипения воды. Ключевыми свойствами, которые отличают ПИЖ от других ионных жидкостей, являются перенос протона от кислоты к основанию, что приводит к наличию протоно-донорных и -акцепторных участков, которые можно использовать для создания сети с водородными связями. Использование ПИЖ в качестве буферов позволило бы упростить метод очистки препаратов на основе галлия-68 или полностью исключить его.

Основным преимуществом генератора $^{68}Ge/^{68}Ga$ является его автономность, долгий срок работы (до 1 года) и относительно короткий период полураспада (68 мин). В тоже время, генератор $^{68}Ge/^{68}Ga$ не может обеспечить больше чем 3-4 клинические дозы за один синтез РФП. Поэтому наряду с химией изотопа ^{68}Ga активно развивается альтернативный

подход получения РФП, основанный на реакции комплексообразования катиона $Al^{18}F^{2+}$ с хелатирующими агентами в составе молекул клинически значимых пептидов. Изотоп фтор-18 в форме аниона $^{18}F^-$ нарабатывается по ядерной реакции $^{18}O(p;n)^{18}F$ в количестве до 50-70 доз РФП. Период полураспада изотопа фтор-18 составляет 110 минут, что делает его удобным с логистической точки зрения. Так же он имеет наименьший пробег позитронов в ткани (2.3 мм), т.е. расстояние от точки излучения до точки аннигиляции, что обеспечивает очень хорошее пространственное разрешение и чувствительность при ПЭТ-визуализации.

В реакциях мечения пептидов изотопом ^{18}F также важно соблюдать уровень pH ~4, необходимый для образования комплекса $[Al^{18}F]^{2+}$. Более кислые условия (pH < 4) благоприятствуют образованию $[^{18}F]HF$, а более щелочные (pH > 4) – образованию нерастворимых соединений гидроксида алюминия[5].

Целью данной работы является скрининг нового класса ПИЖ на основе N-бензилэтаноламмониевых (BAE) карбоксилатов в качестве буферных агентов для проведения реакций ^{68}Ga- и ^{18}F-радиомечения.

Изотоп ^{68}Ga для реакций радиомечения получали с помощью генератора $^{68}Ge/^{68}Ga$ (ЗАО «Циклотрон», Россия), элюирование проводилось 5 мл 0.1 М HCl. Изотоп ^{18}F для реакций радиомечения получали на циклотроне GE PetTrace 800 (GE HEalthcare, Уппсала, Швеция), путем облучения воды состава $H_2{}^{18}O$ (>97% обогащения по изотопу ^{18}O).

Общая методика ^{68}Ga-радиомечения: 3.6 нмоль хелатора (*p*-SCN-Bn-DOTA; *p*-SCN-Bn-NOTA; HBED-CC) помещали в микроцентрифужную пробирку и растворяли в 25 мкл буферного раствора (0.1-1 М водный раствор) и 37.5 мкл EtOH. Затем к полученной смеси добавляли аликвоту 125 мкл $^{68}GaCl_3$. Радиоактивное мечение проводили в закрытой пробирке при температурах от 25 °C до 95 °C в течение 10 мин при перемешивании 1000 RPM в термошейкере Biosan TS-100C.

Общая методика ^{18}F-радиомечения: в пробирку к 3 мкл 2 мМ раствора $AlCl_3$ (NaAc 0.1 М pH = 4) добавляли 100 мкл 0.05 М водного раствора буфера, 100 мкл ДМСО и 10 мкл водного $[^{18}F]$-фторида. После образования комплекса $[Al^{18}F]^{2+}$ (3 мин при комнатной температуре) к реакционной смеси добавляли 20 мкл HBED-CC (0.5 мг/мл). Реакцию проводили в закрытой пробирке при 50 °C в течение 20 мин при перемешивании 1000 RPM в термошейкере Biosan TS-100C.

Радиохимическую конверсию (РХК) реакции определяли с помощью метода радио-тонкослойной хроматографии (пластины Sorbfil, элюент 1 М NH_4Ac/MeOH = 1:1). Тонкослойные хроматографические пластины анализировали с помощью ТСХ-сканера (MiniGita, Raytest). Все эксперименты повторялись трижды.

Первоначально был проведен скрининг шестнадцати BAE карбоксилатов в реакциях ^{68}Ga-радиомечения с модельным хелатором *p*-SCN-Bn-DOTA при температуре 95 °C и концентрации буфера 1 М. В результате, наиболее эффективными оказались бензоат, циннамат, гидросукцинат и сукцинат, РХК которых оказалась выше 98%. На основании полученных результатов данные анионы были выбраны для дальнейших исследований.

Далее была проверена возможность образования комплексов ^{68}Ga с p-SCN-Bn-DOTA в условиях низкотемпературного радиомечения (не выше 37 °C). Результаты эксперимента представлены в таблице 1. Самые высокие значения РХК в обоих случаях были достигнуты в реакциях с буфером на основе BAE гидросукцината ([BAE]HSucc).

Таблица 1 – Низкотемпературное ^{68}Ga-радиомечение p-SCN-Bn-DOTA (2.5 мкг *p*-SCN-Bn-DOTA, 25 мкл 1 М водного раствора буфера, 37.5 мкл EtOH, 125 мкл $^{68}GaCl_3$ в 0.1 М HCl с генератора, 10 мин)

Буфер	РХК, %	
	25 °C	37 °C
[BAE]Benz	14.4 ± 1.6	35.1 ± 3.8
[BAE]Cin	7.2 ± 2.4	39.5 ± 3.4
[BAE]HSucc	26.9 ± 0.7	65.3 ± 3.9
[BAE]Succ	5.4 ± 2.7	18.0 ± 2.7

Помимо низкотемпературных условий так же была проверена РХК в реакциях ^{68}Ga-радиомечения при 70 °C. В результате для всех буферов РХК была выше 95%, за исключением бензоата BAE ([BAE]Benz), где РХК равнялась 45%.

На следующем этапе работы было изучено влияние концентрации буферного раствора на РХК. Выяснилось, что в отличие от ранее исследованных ПИЖ на основе солей триэтаноламина и трис(гидроксиметил)метиламмония[4], высокие значения РХК (>95%) возможно получить при использовании растворов (BAE) солей с концентрацией 0.5 М.

Дальнейшие эксперименты с хелаторами *p*-SCN-Bn-NOTA и HBED-CC, включенными в структуру многих клинически значимых РФП, показали, что во всех случаях могут быть достигнуты значения РХК выше 95%, за исключением хелатора HBED-CC в буферах на основе бензоата и циннамата BAE, где РХК была 85% и 75%, соответственно (табл. 2).

Таблица 2 – ^{68}Ga-радиомечение хелаторов *p*-SCN-Bn-NOTA и HBED-CC (2.0 мкг *p*-SCN-Bn-NOTA или 1.5 мкг HBED-CC, 25 мкл 1 М водного раствора буфера, 37.5 мкл EtOH, 125 мкл $^{68}GaCl_3$ в 0.1 М HCl с генератора, 95 °C, 10 мин)

Буфер	РХК, %	
	p-SCN-Bn-NOTA	HBED-CC
[BAE]Benz	99.7 ± 0.1	85.4 ± 4.6
[BAE]Cin	99.6 ± 0.2	75.0 ± 0.6

Буфер	РХК, %	
	p-SCN-Bn-NOTA	HBED-CC
[BAE]HSucc	99.8 ± 0.2	99.5 ± 0.1
[BAE]Succ	99.6 ± 0.2	96.5 ± 0.2

Далее был проведен скрининг вышеупомянутых BAE карбоксилатов в реакциях ^{18}F-радиомечения с хелатором HBED-CC. Также был измерен pH, при котором проходила реакция (табл.3). Высокие выходы были получены в буферах [BAE]Cin, [BAE]Sal, [BAE]ClCrez. Примечательно то, что, несмотря на описанный в литературе узкий диапазон pH, равный 4-5, удалось достичь высоких значений РХК при pH в диапазоне 5-6 и выше.

Таблица 3 – ^{18}F-радиомечение хелатора HBED-CC (3 мкл 2 мМ раствора AlCl3 (NaAc 0.1 M pH=4); 100 мкл буфера 0.05 M; 100 мкл DMSO, 10 мкл $^{18}F_{-aq}$.; 20 мкл HBED-CC (0.5 мг/мл), 50 °C, 20 мин, 1000 RPM)

№	pH	Буфер	РХК, %
1	6.07	[BAE]Benz	4.6 ± 0.4
2	6.32	[BAE]Cin	90.1 ± 4.3
3	5.51	[BAE]Sal	94.2 ± 1.9
4	5.83	[BAE]Crez	29.7 ± 4.0
5	5.65	[BAE]ClCrez	96.2 ± 0.6
6	4.59	[BAE]HOx	0
7	4.33	[BAE]Ox	0
8	5.50	[BAE]HMal	0
9	7.54	[BAE]Mal	0
10	5.95	[BAE]HSucc	89.4 ± 2.8
11	5.77	[BAE]Succ	88.8 ± 1.33
12	3.64	[BAE]H3Prm	0
13	4.74	[BAE]H2Prm	44.0 ± 1.3
14	5.38	[BAE]HPht	80.4 ± 3.4
15	4.25	[BAE]Pht	18.6 ± 1.0
16	5.40	[BAE]OHNPh	85.9 ± 4.4

В данном исследовании показано использование солей N-бензилэтаноламмония с биологически активными карбоновыми кислотами в качестве эффективных буферов для ^{68}Ga- и ^{18}F-радиомечения. Среди тестируемых BAE карбоксилатов наиболее перспективными для реакций мечения ^{68}Ga оказались соли бензойной, коричной и янтарной кислот. При этом соли янтарной кислоты показали себя одинаково хорошо в реакциях с тремя различными хелаторами. Кроме того, было выяснено, что для обеспечения высокой РХК в реакциях ^{68}Ga-радиомечения достаточно использовать 0.5 М концентрации буферных растворов. В реакциях ^{18}F-радиомечения лучше всего себя показали соли коричной, салициловой и хлоркрезоксиуксусной кислот. В дальнейшей работе планируется изучить вопросы, связанные с применением синтезированных буферных агентов в синтезе клинически значимых РФП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Evaluation of Protic Ionic Liquids Based on Triethanolammonium and Tris(hydroxymethyl)amino-methylammonium Salts as Buffers for ^{68}Ga-Radiolabelling of PSMA-HBED-CC / D. Antuganov [et al.] // ChemistrySelect. 2019. Vol. 4. P. 12524-12527.

2. Diethanolammonium protic ionic liquids – promising buffers for the synthesis of 68Ga- labelled radiopharmaceuticals / Yu.A. Kondratenko [et al.] // J. Mol. Liq. 2021. Vol. 339. P. 117029-117038.

3. Optimal buffer choice of the radiosynthesis of ^{68}Ga-Dotatoc for clinical application / M. Bauwens [et al.] // Nucl. Med. Commun. 2010. Vol. 31. P. 753–758.

4. European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg: Council of Europe. Vol. 3. P. 1150–1152.

5. Archibald, S.J., Allott, L. The aluminium-[18F]fluoride revolution: simple radiochemistry with a big impact for radiolabelled biomolecules // EJNMMI radiopharm. Chem. 2021. N4. P. 30.

6. Alkanolammonium Protic Ionic Liquids for Low Temperature ^{68}Ga-Radiolabeling of DOTA-Functionalized Compounds / D. Antuganov [et al.] // ChemistrySelect. 2020. Vol. 5. P. 10953-10957.

SUMMARY

BUFFER PROPERTIES OF IONIC LIQUIDS BASED ON 2-BENZYLAMINOETHANOL SALTS IN RADIOLABELIBG REACTIONS OF BIFUNCTIONAL CHELATING AGENTS WITH ISOTOPES ^{68}GA AND ^{18}F

Gavrilov V.A.[1], 4rd year student
Academic advise:: **Antuganov D.O.**[2], chemist-expert
[1]St. Petersburg State Institute of Technology (Technical University)
190013, St. Petersburg, Moskovsky pr., 26, Russian Federation
[2]Granov Russian Research Center of Radiology & Surgical Technologies
Leningradskaya Street 70 Pesochny, St. Petersburg 197758, Russian Federation
E-mail: vlga2011@yandex.ru

In this work, it was shown that N-benzylethanolammonium (BAE) salts of biologically active carboxylic acids are promising buffer agents for the preparation of complexes of bifunctional chelating agents with metal isotopes ($^{68}Ga^{3+}$ and $Al^{18}F^{2+}$) with a high degree of radiochemical conversion (RCC). Sixteen buffers based on BAE carboxylates were screened. Buffer agents based on BAE benzoate, cinnamate, hydrosuccinate, and succinate ([BAE]Benz, [BAE]Cin, [BAE]HSucc, and [BAE]Succ, respectively) proved to be the most effective in ^{68}Ga radiolabeling reactions. For $Al^{18}F$ radiolabeling reactions, buffers based on cinnamate, salicylate, and chlorocresoxyacetate BAE ([BAE]Cin, [BAE]Sal, [BAE]ClCrez, respectively) turned out to be the most suitable.

Keywords: *radiopharmaceuticals, gallium-68, fluorine-18, buffer solution, bifunctional chelating agent.*

REFERENCES

1. Evaluation of Protic Ionic Liquids Based on Triethanolammonium and Tris(hydroxymethyl)amino-methylammonium Salts as Buffers for ^{68}Ga-Radiolabelling of PSMA-HBED-CC / D. Antuganov [et al.] // ChemistrySelect. 2019. Vol. 4. P. 12524-12527.
2. Diethanolammonium protic ionic liquids – promising buffers for the synthesis of 68Ga- labelled radiopharmaceuticals / Yu.A. Kondratenko [et al.] // J. Mol. Liq. 2021. Vol. 339. P. 117029-117038.
3. Optimal buffer choice of the radiosynthesis of ^{68}Ga-Dotatoc for clinical application / M. Bauwens [et al.] // Nucl. Med. Commun. 2010. Vol. 31. P. 753–758.
4. European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg: Council of Europe. Vol. 3. P. 1150–1152.
5. Archibald, S.J., Allott, L. The aluminium-[18F]fluoride revolution: simple radiochemistry with a big impact for radiolabelled biomolecules // EJNMMI radiopharm. Chem. 2021. N4. P. 30.
6. Alkanolammonium Protic Ionic Liquids for Low Temperature ^{68}Ga-Radiolabeling of DOTA-Functionalized Compounds / D. Antuganov [et al.] // ChemistrySelect. 2020. Vol. 5. P. 10953-10957.

УДК 61:615.01

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ СИНТЕЗИРОВАННЫХ N-ЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФТАЛИМИДА

Дмитриева Д.С., студ. 5 курса
Труханова Ю.А., студ. 2 курса магистратуры
Руководители: **Куваева Е.В.**, к. фарм. наук, доцент, доц. кафедры органической химии,
Тернинко И.И., д. фарм. наук, доцент, проф. кафедры фармацевтической химии,
Ивкин Д.Ю., к. биол. наук, доцент, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: dmitrieva.dina@pharminnotech.com

Описан химический синтез *N*-замещенных производных фталимида – 2-(фенил(арилимино)метил)изоиндолин-1,3-дионов с различными заместителями. С помощью компьютерной программы GUSAR получены данные острой токсичности синтезированных соединений, которые были оценены методом in vivo. С применением компьютерной программы PASS-online получен прогноз спектра биологической активности синтезированных соединений. Для синтезированного ряда соединений проверена анальгезирующая активность методом *in vivo*.

Ключевые слова: *N-производные фталимида, фталевый ангидрид, анальгезирующая активность, острая токсичность.*

Производные изоиндолин-1,3-диона являются важным классом химических соединений, обладающих широким спектром биологической активности [1-8].

Из литературы известно несколько способов синтеза N-замещенных производных фталимида [9,10]. Наиболее простым методом синтеза является взаимодействие ангидридов соответствующих дикарбоновых кислот с первичными аминами [11].

Целью работы стала разработка технологичного способа получения новых *N*-замещенных производных фталимида на основе реакции ангидрида фталевой кислоты с *N*-арилбензамидинами, изучение их биологической активности.

Материалы и методы

Синтез целевых продуктов осуществлен в лабораторных условиях на товарном сырье квалификации «х.ч.». *N*-арилбензамидины синтезированы на кафедре органической химии нашего университета (СПХФУ).

Тонкослойную хроматографию для доказательства индивидуальности соединения и полноты прохождения реакции выполняли на пластинах Silicagel 60 F254 (Merck), элюент – этилацетат-гексан (2:1), проявление в УФ свете.

Прогнозирование острой токсичности синтезированных соединений осуществляли с использованием локальной версии программного обеспечения «GUSAR» [12].

Острую токсичность *in vivo* проводили на лабораторных мышах-самцах массой 20±2 грамм, из которых были сформированы группы по 10 особей на одну дозировку исследуемого соединения. Число групп варьировалось в зависимости от результатов исследования с целью выявления экспериментальной среднелетальной дозы. Опытным животным однократно внутрибрюшинно вводили 1 мл исследуемого соединения в дозировках 1200 мг/кг, 1300 мг/кг, 1400 мг/кг для соединения **3a**, в дозировках 1200 мг/кг, 1300 мг/кг для соединения **3b** и в дозировках 800 мг/кг, 1000 мг/кг, 1200 мг/кг, 1400 мг/кг, 1600 мг/кг, 1800 мг/кг, 2000 мг/кг для соединения **3c**. Выживаемость животных определяли путем наблюдения за опытными образцами животных через 24 и 48 ч от момента введения синтезированного соединения. Наблюдение за животными осуществляли в течение 72 ч.

Экспериментальные среднелетальные дозы рассчитаны по методу наименьших квадратов с помощью программного обеспечения «Statistica 7.0».

Прогнозирование биологической активности синтезированных соединений осуществляли с помощью компьютерного скрининга с использованием программы PASS-online [13] для определения спектра активности *in silico*.

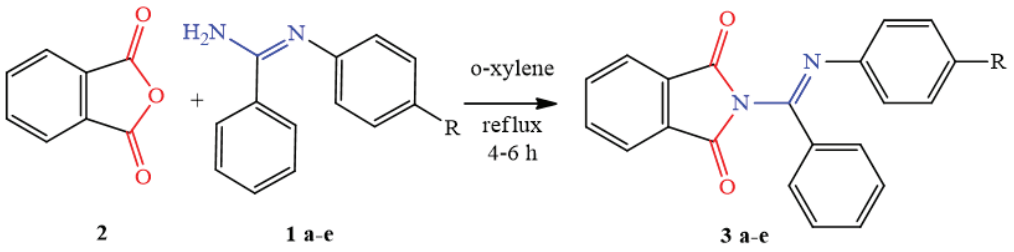
Анальгезирующая активность синтезированных соединений была исследована методом *in vivo* на лабораторных мышах-самцах весом 20±2 грамм в дозировке 100 мг/кг. Для экспериментальной оценки анальгезирующей активности синтезированных соединений была использована модель «уксуснокислые корчи». Судороги у животных, объединенных в три группы по 10 особей, вызывали внутрибрюшинным введением 0.5 % раствора уксусной кислоты. Исследуемое соединение, препарат сравнения и физиологический раствор вводили внутрибрюшинно опытным животным за 40 минут до начала эксперимента. Регистрировали время начала судорог и их количество в течение 20 минут. Анальгезирующую активность исследуемого соединения оценивали по достоверному уменьшению числа корчей в получавшей препарат группе относительно контрольной группы. Показателем эффективности являлся коэффициент угнетения болевой реакции (УБР), который рассчитывался по формуле:

$$\text{УБР}, \% = \left(1 - \frac{\text{среднее число корчей в группе}}{\text{среднее число корчей в контроле}}\right) * 100\%$$

Результаты и их обсуждение

Нами был разработан технологичный способ получения 2-(фенил(арилимино)-метил)изоиндолин-1,3-дионов **3a-e**. Установлено, что оптимальным условием образования *N*-замещенных производных фталимида из *N*-арилбензамидинов и ангидрида фталевой кислоты является применение неполярных растворителей, таких как бензол и о-ксилол. Использование полярных протонных растворителей не приводит к образованию желаемого продукта. Согласно Фармакопее Российской Федерации [14], бензол относится к растворителю первого класса токсичности, поэтому в качестве растворителя для данного синтеза был выбран о-ксилол.

Синтез 2-(фенил(арилимино)метил)изоиндолин-1,3-дионов **3a-e** осуществляли кипячением в среде о-ксилола *N*-арилбензамидинов **1a-e** с фталевым ангидридом **2** (см. рисунок).



R=H (a), OMe, (b) NO_2 (c), Br (d), CH_3 (e)

Рисунок. Получение 2-(фенил(арилимино)метил)изоиндолин-1,3-дионов (3a-e)

Ход реакции контролировали методом ТСХ. Выход целевых продуктов составлял от 53 до 94 % в пересчете на *N*-арилбензамидин.

В качестве основных соединений, для последующих исследований токсичности и биологической активности, были выбраны **3a-c**, которые в своей структуре содержат сильные донорные и акцепторные заместители, что в дальнейшем сделать корреляцию между строением соединений и их активностью.

Все эксперименты на животных были проведены в соответствии с Решением Совета Евразийской экономической комиссии N81 от 3 ноября 2016 года «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» и Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Британскими учеными У. Расселом и Р. Берчем была разработана национальная концепция «3R» (от англ. Reduction, Refinement, Replacement) [15, 16], основной целью которой является повышение сочувствия к животным, участвующим в научных экспериментах. Согласно одному из постулатов данной концепции, а именно «Reduction», все исследования *in vivo* были проведены только для соединений, представляющих наибольший научный интерес.

Прогнозирование острой токсичности с использованием локальной версии программного обеспечения «GUSAR» позволило определить начальные дозировки для проведения эксперимента. Среднелетальная доза синтезированных соединений, согласно прогнозируемым данным, представлена в таблице.

Таблица – Прогнозируемые среднелетальные дозы для синтезированных соединений

Исследуемое соединение	Rat IP LD50 (mg/kg)	Mouse IP LD50 (mg/kg)
3a	722.6	1445.2
3b	572.4	1144.8
3c	358.0	716.0

Нами экспериментально были установлены среднелетальные дозы. Для соединения **3a** 1300 мг/кг, для соединения **3b** – 1300 мг/кг, для соединения **3c** – 2000 мг/кг. Среди ряда синтезированных соединений, соединение **3c** – 2-(((4-нитрофенил)имино)(фенил)метил)изоиндолин-1,3-дион обладает наименьшей токсичностью. Исследуемые соединения относятся к 5 классу токсичности по классификации Сидорова К.К. [17] – «практически нетоксично». При этом стоит отметить, что акцепторные заместители уменьшают токсичность соединений.

Согласно скринингу биологической активности, основанному на программном обеспечении PASS-online, рассматриваемые соединения обладают выраженной анальгезирующей активностью.

Исследование влияния на болевую чувствительность методом *in vivo* подтвердило степень выраженности анальгезирующего действия исследуемых соединений при болях, вызванных химическими раздражителями-альгогенами (модель перитовисцеральной боли – тест «уксуснокислые корчи»). Исследуемые соединения превосходят препарат сравнения по силе анальгезирующего действия.

Для 2-(фенил(фенилимино)метил)изоиндолин-1,3-диона **3a** анальгезирующая активность была исследована в эквимолярной терапевтической концентрации препарата сравнения и по результатам превосходила референтный препарат (Метамизол натрия) в 1,6 раза. Для соединений **3b** и **3c** в ходе проведения исследования в эквимолярной терапевтической концентрации препарата сравнения было установлено полное угнетение корчей у опытных животных в сравнении с референтным препаратом.

Заключение

• Разработан технологичный способ получения новых *N*-замещенных производных фталимида **3a-e** на основе реакции *N*-арилбензамидинов и ангидрида фталевой кислоты.

• Для соединений **3a-c** исследована острая токсичность. Наименьшей токсичностью среди синтезированных соединений обладает соединение **3c**. Все исследуемые соединения относятся к 5 классу токсичности – «практически нетоксично».

• Для соединений **3a-c** изучена анальгезирующая активность на лабораторных мышах методом in vivo. Показано, что соединение **3a** превосходит референтный препарат (Метамизол натрия) в 1,6 раза. Для соединений **3b,c** наблюдалось полное угнетение корчей у опытных животных в сравнении с референтным препаратом сравнения.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность
61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств
76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.00 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Enantioselective Synthesis of Succinimides by Michael Addition of 1,3-Dicarbonyl Compounds to Maleimides Catalyzed by a Chiral Bis(2-aminobenzimidazole) Organocatalyst / E. Gómez-Torres [et al.] // European J. Org. Chem. 2013. N 8. P. 1434-1440.

2. Phthalimide-(N-alkylbenzylamine) cysteamide hybrids as multifunctional agents against Alzheimer's disease: Design, synthesis, and biological evaluation / H. Zhang [et al.]// Chem Biol Drug Des. 2021. N 98(4). P. 493-500. doi: 10.1111/cbdd.13905.

3. Design, synthesis, and bio-evaluation of new isoindoline-1,3-dione derivatives as possible inhibitors of acetylcholinesterase / M. Hassanzadeh [et al.] // Res Pharm Sci. 2021. N 16(5). P. 482-492. doi: 10.4103/1735-5362.323915.

4. A New N-Substituted 1 H-Isoindole-1,3(2 H)-Dione Derivative-Synthesis, Structure and Affinity for Cyclooxygenase Based on In Vitro Studies and Molecular Docking / D. Szkatuła [et al.]// Int J Mol Sci. 2021. N 22(14). P. 7678. doi: 10.3390/ijms22147678.

5. Discovery of phthalimide derivatives as novel inhibitors of a soluble epoxide hydrolase / I. Mahlooji. [et al.]// Arch Pharm (Weinheim). 2020. N 353(8). e2000052. doi: 10.1002/ardp.202000052.

6. Synthesis, characterization and interaction mechanism of new oxadiazolo-phthalimides as peripheral analgesics / Antunes, R. [et al.] // J. Mol. Struct. 2003. N 660. P. 1-13. doi:10.1016/S0022-7 2860(03)00418-6.

7. Reddy, Y.D. Kumari Y.B., Dubey P.K Synthesis of a novel water soluble phthalimide derivative of acetaminophen as potential analgesic and antipyretic agent // Indian J. Chemistry. 2013. N 52B. P. 691-693.

8. Synthesis and hypolipidemic activity of N-12 substituted phthalimides / Sena V.L [et al.] // Farm. 2003. N 58. P. 1283-1288. doi:10.1016/S0014-827X(03)00185-X. 13

9. Substituted Amides and Hydrazides of Dicarboxylic Acids. Part 11. Synthesis and Hypertensive Activity of a Series of Pyridylamides of Several Dicarboxylic Acids / Dolzhenko A. V. et al. //ChemInform. 2002. T. 33. N 36. P. 17-19.

10. Hall I, Wong O, Scovill J. The cytotoxicity of N-pyridinyl and N-quinolinyl substituted derivatives of phthalimide and succinimide // Biomed Pharmacother. 1995. N 49(5). P. 251-258. doi:10.1016/0753-3322(96)82631-X

11. Substituted Amides and Hydrazides of Dicarboxylic Acids. Part 9. Pharmacological Activity of the Reaction Products of 2-Aminopyridines and 2-Aminopyrimidine with Anhydrides of Dicarboxylic Acids / Kolotova N.V. [et al.] // ChemInform. 2001. T. 32. N 33. P. 26-30.

12. GUSAR V. 2011.1: система моделирования острой токсичности [для моделирования] / разработчики А. Захаров, В. Поройков. М.: 2011. (Электронная дистрибьюция). Загл. с титул. экрана. Электронная программа: электронная.

13. PASS Online. Way2Drug: [веб-ресурс]. M. URL: www.way2drug.com/PASSOnline (дата обращения 28.02.2022). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.

14. ОФС.1.10008.15 Остаточные органические растворители. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М., 2018. С. 203-207. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/203/ (дата обращения 28.02.2022)

15. National Centre for the Replacement Refinement and Reduction of Animals in Research. [Электронный ресурс] URL: https://www.nc3rs.org.uk/ (дата обращения 28.02.2022)

16. Flecknell, P. «Replacement, Reduction, Refinement», ALTEX – Alternatives to animal experimentation.2002. N 19(2). P. 73–78. [Электронный ресурс] URL: https://www.altex.org (дата обращения 28.02.2022).

17. Методические указания МУ 1.2.1105-02 «Оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 10 февраля 2002 г.). – URL: https://base.garant.ru/4179159/ (дата обращения 28.02.2022). – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст: электронный.

SUMMARY

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF NEW SYNTHESIZED H-SUBSTITUTED PHTHALIMIDE DERIVATIVES

Dmitrieva D.S., 5th year student, **Truhanova J.A.**, 2nd year master's student
Scientific directors: **Kuvaeva E.V.**, Candidate. in Pharmaceutical Sciences, associate professor;
Terninko I.I., Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor; **Ivkin D.Y.**, Candidate of Biological Sciences, associate professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: dmitrieva.dina@pharminnotech.com

The chemical synthesis of N-substituted phthalimide derivatives, 2-(phenyl(arylimino)methyl)isoindoline-1,3-diones, with various substituents is described. Using the GUSAR computer program, data on the acute toxicity of the synthesized compounds were obtained, which were evaluated by the in vivo method. Using the computer program PASS-online, a prediction of the spectrum of biological activity of the synthesized compounds was obtained. For the synthesized series of compounds, the analgesic activity was tested by the in vivo method.

Keywords: *N-derivatives of phthalimide, phthalic anhydride, analgesic activity, acute toxicity.*

REFERENCES

1. Enantioselective Synthesis of Succinimides by Michael Addition of 1,3-Dicarbonyl Compounds to Maleimides Catalyzed by a Chiral Bis(2-aminobenzimidazole) Organocatalyst / E. Gómez-Torres [et al.] // European J. Org. Chem. 2013. N 8. P. 1434-1440.

2. Phthalimide-(N-alkylbenzylamine) cysteamide hybrids as multifunctional agents against Alzheimer's disease: Design, synthesis, and biological evaluation / H. Zhang [et al.]// Chem Biol Drug Des. 2021. N 98(4). P. 493-500. doi: 10.1111/cbdd.13905.

3. Design, synthesis, and bio-evaluation of new isoindoline-1,3-dione derivatives as possible inhibitors of acetylcholinesterase / M. Hassanzadeh [et al.] // Res Pharm Sci. 2021. N 16(5). P. 482-492. doi: 10.4103/1735-5362.323915.

4. A New N-Substituted 1 H-Isoindole-1,3(2 H)-Dione Derivative-Synthesis, Structure and Affinity for Cyclooxygenase Based on In Vitro Studies and Molecular Docking / D. Szkatuła [et al.]// Int J Mol Sci. 2021. N 22(14). P. 7678. doi: 10.3390/ijms22147678.

5. Discovery of phthalimide derivatives as novel inhibitors of a soluble epoxide hydrolase / I. Mahlooji. [et al.]// Arch Pharm (Weinheim). 2020. N 353(8). e2000052. doi: 10.1002/ardp.202000052.

6. Synthesis, characterization and interaction mechanism of new oxadiazolo-phthalimides as peripheral analgesics / Antunes, R. [et al.] // J. Mol. Struct. 2003. N 660. P. 1-13. doi:10.1016/S0022-7 2860(03)00418-6.

7. Reddy, Y.D. Kumari Y.B., Dubey P.K Synthesis of a novel water soluble phthalimide derivative of acetaminophen as potential analgesic and antipyretic agent // Indian J. Chemistry. 2013. N 52B. P. 691-693.

8. Synthesis and hypolipidemic activity of N-12 substituted phthalimides / Sena V.L [et al.] // Farm. 2003. N 58. P. 1283-1288. doi:10.1016/S0014-827X(03)00185-X. 13

9. Substituted Amides and Hydrazides of Dicarboxylic Acids. Part 11. Synthesis and Hypertensive Activity of a Series of Pyridylamides of Several Dicarboxylic Acids / Dolzhenko A. V. et al. //ChemInform. 2002. T. 33. N 36. P. 17-19.

10. Hall I, Wong O, Scovill J. The cytotoxicity of N-pyridinyl and N-quinolinyl substituted derivatives of phthalimide and succinimide // Biomed Pharmacother. 1995. N 49(5). P. 251-258. doi:10.1016/0753-3322(96)82631-X

11. Substituted Amides and Hydrazides of Dicarboxylic Acids. Part 9. Pharmacological Activity of the Reaction Products of 2-Aminopyridines and 2-Aminopyrimidine with Anhydrides of Dicarboxylic Acids / Kolotova N.V. [et al.] // ChemInform. 2001. T. 32. N 33. P. 26-30.

12. GUSAR V. 2011.1: acute toxicity modeling system [for modeling] Zakharov, V. Poroikov. – Moscow: 2011. – (Electronic distribution). – Headers from the title screen – Electronic software: electronic.

13. PASS Online. Way2Drug: [web-resourse]. Moscow. URL: www.way2drug.com/PASSOnline (date of application 28.02.2022). Access mode: for registered users.

14. OFS.1.10008.15 Ostatochnye organicheskie rastvoriteli. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. XIV izd. T. 1. M., 2018. P. 203-207. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru (date of application 28.02.2022). (in Russian)

15. National Centre for the Replacement Refinement and Reduction of Animals in Research. [Internet]. URL: https://www.nc3rs.org.uk/ (date of application 28.02.2022). (in Russian)

16. Flecknell, P. (2002) «Replacement, Reduction, Refinement», ALTEX – Alternatives to animal experimentation, 19(2), P. 73–78. URL: https://www.altex.org (date of application 28.02.2022).

17. Metodicheskie ukazanija MU 1.2.1105-02 «Ocenka toksichnosti i opasnosti dezinficirujushhih sredstv» (utv. Glavnym gosudarstvennym sanitarnym vrachom RF 10 fevralja 2002 g.). [Internet]. URL: https://base.garant.ru/4179159/ (date of application 28.02.2022). Access mode: for registered users. (in Russian)

УДК 547.816

СИНТЕЗ И ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ПИРАНО[3,2-*c*]ХРОМЕНОВ

Домоцкая М.Ю., студ. 4 года обучения, **Вишняков Е.В.**, асп. 2 года обучения
Научный руководитель: **Чернов Н.М.**, канд. хим. наук, старший научный сотрудник
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: mariya.domockaya@spcpu.ru

Изучено взаимодействие электронодецифитных 3-винилхромонов с цианоуксусным эфиром в условиях основного катализа. Протекающая реакция ANRORC приводит к пирано[3,2-*c*]хроменам, который обладает флуоресцентными свойствами.

Ключевые слова: *флуоресценция, 3-винилхромон, ANRORC, пирано[3,2-c]хромен, цианоуксусный эфир.*

Ранее на кафедре органической химии был выполнен синтез перспективных флуоресцентных соединений – пиранохроменов – реакцией 3-винилхромонов с цианацетамидом. Проблема этого синтеза заключалась в том, что несмотря на определенную гибкость данной реакции, возможность образования двух продуктов приводит к средним выходам пиранохроменов (40-60%) [1].

Для увеличения выходов и исключения образования двух продуктов в качестве нуклеофильной компоненты было предложено использовать не цианацетамид, который мог вступать в реакцию как нитрильной, так и амидной группой, а цианоуксусный эфир, который вступает в реакцию только за счет цианогруппы. Таким образом, цель работы состоит в изучении реакции ANRORC винилхромонов **1a-r** с цианоуксусным эфиром **2** в мольном соотношении 1:1.5.

Реакция протекала в этаноле (рисунок 1) при использовании высокоосновного ненуклеофильного катализатора, такого как тетраметилгуанидин (TMG) (1.5 экв.) при кипении реакционной массы. В результате реакции был получен ряд пирано[3,2-c]хроменов **3a-r** с выходами вплоть до 90% (таблица 1).

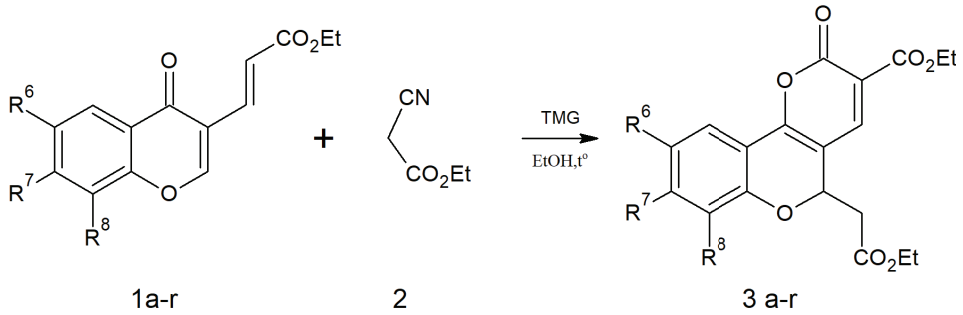


Рисунок 1. Взаимодействие 3-винилхромонов 1a-r с цианоуксусным эфиром (2)

Строение полученных соединений было доказано методом спектроскопии ЯМР ^{1}H и ^{13}C. Так, например, в спектре соединения **3a** мы наблюдаем очень характерную картину системы ABX, включая сигналы протона H-5 (5.53 дд, J = 5.1, 8.5 Гц) и мультиплет двух диастереотопных протонов группы CH_2 с химическим сдвигом 2.72 м.д. [2].

Одной из особенностей получаемых пирано[3,2-c]хроменов **1a-r**, является их способность к флуоресценции в жёлто-зелёном диапазоне. Это делает их перспективными для использования в качестве флуоресцентных меток и/или зондов. На данный момент были предварительно исследована флуоресценция соединения 3a, максимум эмиссии которого составляет 510 нм, стоксов сдвиг 4900 $см^{-1}$.

Таблица 1 – Выход синтезированных пирано[3,2-c]хроменов 3a-r

Соединение	R^6	R^7	R^8	Выход, %
3a	Cl	H	H	74
3b	H	H	H	87
3c	Br	H	H	78
3d	F	H	H	80
3e	NO_2	H	H	75
3f	Me	H	H	78
3g	MeO	H	H	84
3h	H	Me	H	68
3i	бензо		H	90
3j	H	OH	H	38
3k	Me	Me	H	54
3l	F	F	H	89
3m	Cl	H	Br	90
3n	Me	H	Br	77
3o	Me	H	NO_2	67
3p	H	MeO	H	55
3q	Br	MeO	H	61
3r	H	бензо		75

Таким образом, нами был разработан эффективный метод синтеза пирано[3,2-c]хроменов, функционализированных фрагментом уксусной кислоты и обладающих флуоресцентными свойствами. Метод синтеза характеризовался в среднем более высокими выходами, чем достигались с цианацетамидом (вплоть до 90%).

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.00.00 Химия

31.21.27 Гетероциклические соединения

ЛИТЕРАТУРА

1. Flexible Synthetic Approach to Fluorescent Chromeno[4,3-b]pyridines and Pyrano[3,2-c]chromenes from Electron-Deficient 3-Vinylchromones / N.M. Chernov [et al.] // ChemPlusChem. 2021. Vol. 86(9). P. 1256-1266.

2. Сильверстейн Р., Вебетер Ф., Кимл Д. Спектрометрическая идентификация органических соединений. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. 2011. С. 507.

SUMMARY

SYNTHESIS AND FLUORECENT PROPERTIES OF PIRANO[3,2-*c*]CHROMENES

Domotskaya M.Y., student 4 years of study, **Vishnyakov E.V.**, 2nd year student
Project leader: **Chernov N.M.**, PhD, senior researcher
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popov St., 14, Russian Federation
E-mail: mariya.domockaya@spcpu.ru

We studied the interaction of a representative of electron-deficient 3-vinylchromones with cyanoacetic ester under basic catalysis conditions. The ANRORC reaction leads to pyrano[3,2-c]chromenes, which has fluorescent properties.

Keywords: *fluorescence, 3-vinylchromone, ANRORC, pyrano[3,2-c]chromene, cyanoacetic ester.*

REFERENCES

1. Flexible Synthetic Approach to Fluorescent Chromeno[4,3-b]pyridines and Pyrano[3,2-c]chromenes from Electron-Deficient 3-Vinylchromones / N.M. Chernov [et al.] // ChemPlusChem. 2021. Vol. 86(9). P. 1256-1266.
2. Silverstein R., Webeter F., Kiml D. Spectrometric identification of organic compounds. M.: BINOM. Laboratory of Knowledge. 2011. P. 507.

УДК 546.05

ВНУТРИКОМПЛЕКСНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ГИДРОКСИАЛКИЛАМИНОВ С СОЛЯМИ ПИРОМЕЛЛИТОВОЙ КИСЛОТЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Завьялова Д.А.[1,2], маг. 1 года обучения
Научный руководитель: **Кондратенко Ю.А.**[2], к.х.н., ст. научный сотрудник
[1]Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),
190013, Санкт-Петербург, Московский пр., д. 26, Российская Федерация
[2]Институт химии силикатов им. И.В. Гребенщикова РАН,
199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 2, Российская Федерация
E-mail: starshova18@gmail.com

В ходе работы синтезированы соли Cu(II), Co(II), Ni(II) пиромеллитовой кислоты, среди которых удалось установить кристаллическую структуру нового представителя металл-органических каркасных структур – смешанного комплекса пиромеллитата кобальта (II) и натрия (I). Впервые было исследовано взаимодействие Cu(II)-, Co(II)-, Ni(II)-солей пиромеллитовой кислоты с гидроксиалкиламинами: трис(2-гидроксипропил)амином (TPA), трис(гидроксиметил)аминометаном (TRIS) и бис(2-гидроксиэтил)аминотрис(гидроксиметил) метаном (BIS-TRIS). Представлены результаты характеризации данных комплексов методами ИК-, электронной спектроскопии, масс-спектрометрии, элементного и термического анализа. Структура комплексов BIS-TRIS с пиромеллитатами Co(II) и Ni(II) исследована методом монокристальной рентгеновской дифракции.

Ключевые слова: *металл-органические каркасные структуры, гидрометаллатраны, биометаллы, пиромеллитовая кислота, биологически активные вещества.*

На сегодняшний день разработка и исследование металл-органических каркасных структур (МОКС) вызывает большой научный интерес. МОКС представляют собой вещества, состоящие из ионов или кластеров металлов, координированных органическими лигандами. Благодаря своему структурному разнообразию, стабильности молекул, хорошим сорбционным свойствам и т.д. этот класс веществ находит широкое применение в области разделения газов, гетерогенного катализа, оптики, химической сенсорики и биомедицины. В частности, стоит отметить использование МОКС в качестве носителей лекарственных препаратов [1]. Это обуславливается низкой токсичностью данных веществ, их биоразлагаемостью, биосовместимостью и устойчивостью по отношению к воде.

Ведущей стратегией в разработке металл-органических каркасных структур является выбор подходящих мультидентатных органических лигандов. Для решения этой задачи нами был рассмотрен класс гидрометаллатранов – координационных внутрикомплексных соединений гидроксиалкиламинов с солями металлов, характеризующихся би- или трициклическим строением. Строение гидрометаллатранов определяется соотношением, валентностью и природой исходных реагентов.

Известно, что гидрометаллатраны проявляют ярко выраженную биологическую активность благодаря сочетанию биоактивного металла с малотоксичными и фармокологически активными лигандами. Внутрикомплексные соединения гидроксиалкиламинов являются потенциальными донорами микробиоэлементов и моделями металлоферментов. Ранние исследования позволили установить их иммуномодулирующую и антипролиферативную активность [2], а также обнаружить в ряду гидрометаллатранов антидоты смертельных и тяжелых отравлений этанолом и угарным газом [3].

Целью данной работы является синтез и исследование новых потенциально биологически активных МОКС в ряду гидрометаллатранов на основе гидроксиалкиламинов и аниона пиромеллитовой кислоты (1,2,4,5-бензолтетракарбоновая кислота, PMA).

Основанием выбора пиромеллитовой кислоты является то, что благодаря возможности замещения атомов водорода при четырех карбоксильных группах данная кислота широко используется в синтезе координационных соединений полимерной структуры, показывающих адсорбционную, каталитическую и противовирусную активность [4].

В качестве исходных гидроксиалкиламинов (HAA) были использованы трис(2-гидроксипропил)амин (TPA), бис(2-гидроксиэтил)аминотрис(гидроксиметил)метан (BIS-TRIS) и трис(гидроксиметил)аминометан (TRIS). Выбранные лиганды представлены на рисунке 1.

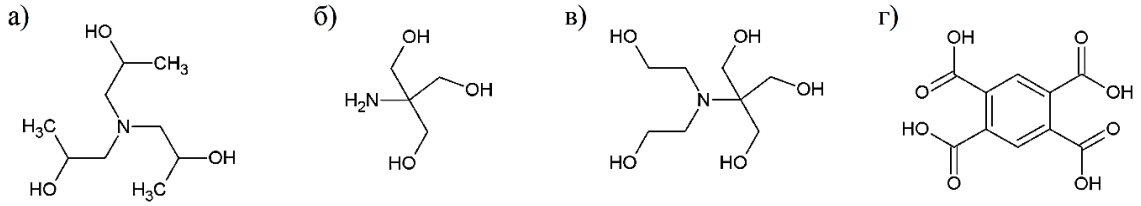


Рисунок 1. Исходные лиганды: а) TPA; б) TRIS; в) BIS-TRIS; г) PMA

На первом этапе работы нами была поставлена задача синтезировать Cu(II), Co(II) и Ni(II) пиромеллитаты общей формулы $[M_2(PMA)\cdot mH_2O]_n$ согласно известной методике. Методом рентгеноструктурного анализа удалось изучить структуру синтезированного гетероядерного пиромеллитата Co(II) и Na с формулой $[Co_3(\mu\text{-}ONa)_6(PRM)_3(H_2O)_{18}]_n$ (рис. 2). В данном соединении атом кобальта гексакоординирован четырьмя карбоксилатными группами аниона пиромеллитовой кислоты и двумя молекулами H_2O. Атомы Na также проявляют октаэдрическую геометрию. Карбоксилатные группы пиромеллитат аниона, образуя координационные связи с атомами кобальта, выступают мостиковыми лигандами, что приводит к формированию полимерной структуры. Это в свою очередь позволяет отнести синтезированный комплекс к МОКС.

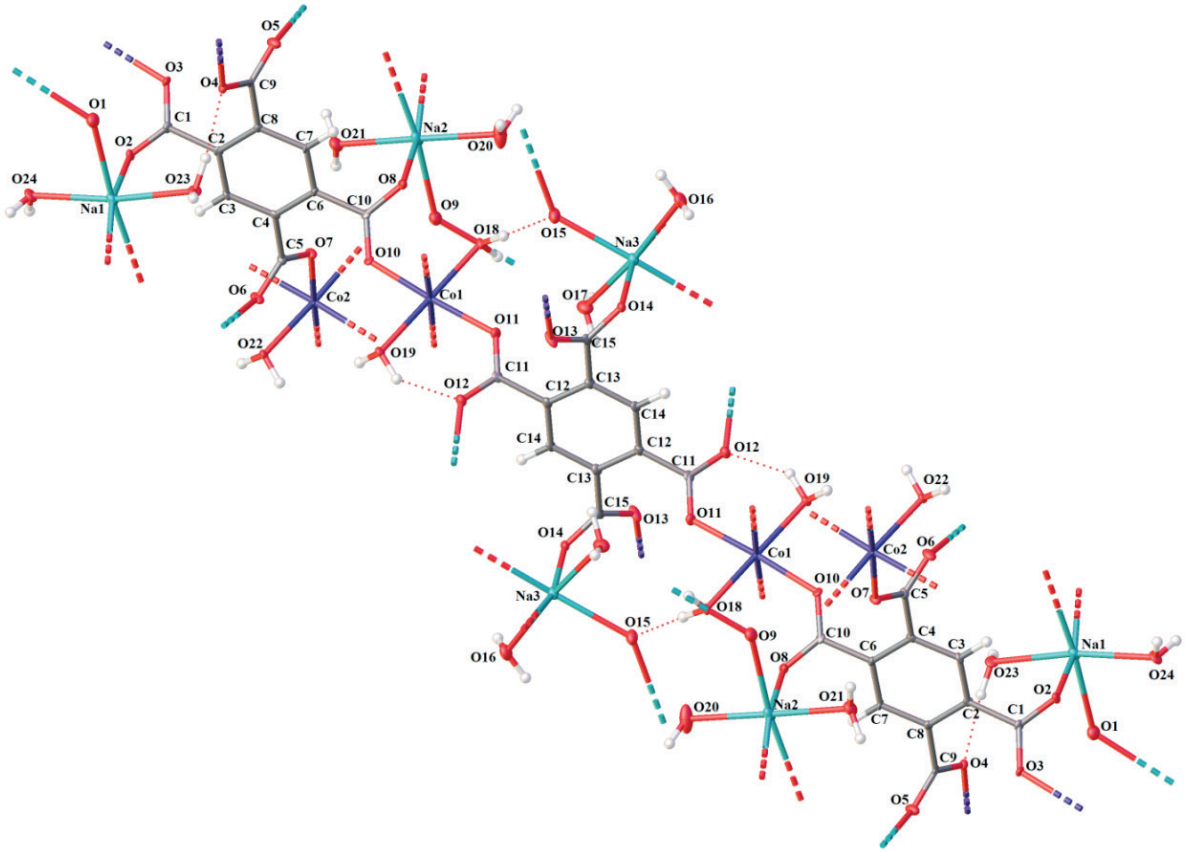


Рисунок 2. Кристаллическая структура комплекса $Co_3(\mu\text{-}ONa)_6(PRM)_3(H_2O)_{18}]_n$

На втором этапе работы было изучено взаимодействие синтезированных пиромеллитатов Cu(II), Co(II), Ni(II) с гидроксиалкиламинами TPA, TRIS, BIS-TRIS в водной среде при молярных соотношениях реагентов 1:2 или 1:3 (в случае TRIS). Комплексы были выделены в виде окрашенных осадков медленным упариванием растворителя при комнатной температуре и охарактеризованы методами ИК, электронной спектроскопии, масс-спектрометрии, элементным, термическим и рентгеноструктурным анализом.

Данные элементного анализа, предполагаемый состав и выход синтезированных комплексов **1-9** представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Данные элементного анализа, предполагаемый состав и выход синтезированных комплексов 1-9

№	M	HAA	M.c.	Выход, %	Предполагаемая структура	Рассчитано	Найдено
1	Cu	TPA	1:2	56	$C_{37}H_{79}Cu_2N_3O_{24}$ $[Cu_2(PRM)(TPA)_3](H_2O)_7$	C – 41.26; H – 7.39; N – 3.90;	C – 41.20; H – 7.32; N – 4.07;
2	Cu	TRIS	1:3	61	$C_{18}H_{28}CuN_2O_{16}$ $[Cu(PRM)(TRIS)_2](H_2O)_2$	C – 36.52; H – 4.77; N – 4.73;	C – 36.43; H – 5.72; N – 4.40;
3	Cu	BIS-TRIS	1:2	55	$C_{34}H_{69}Cu_2N_3O_{28}$ $[Cu_2(PRM)(BIS\text{-}TRIS)_3]\ (H_2O)_5$	C – 37.29; H – 6.35; N – 3.84;	C – 37.25; H – 6.24; N – 4.00;
4	Co	TPA	1:2	66	$C_{28}H_{48}Co_3N_2NaO_{17}$ $[Co_3Na(PRM)(TPA^-)_2]\ (H_2O)_3$	C – 38.02; H – 5.47; N – 3.17;	C – 37.91; H – 5.14; N – 4.16;
5	Co	TRIS	1:3	67	$C_{18}H_{28}CoN_2O_{16}$ $[Co(Pm)(TRIS)_2]\ (H_2O)_2$	C – 36.81; H – 4.81; N – 4.77;	C – 36.39; H – 5.50; N – 4.91;
6	Co	BIS-TRIS	1:2	61	$C_{26}H_{54}Co_2N_2O_{23}$ $[Co_2(PRM)(BIS\text{-}TRIS)_2]\ (H_2O)_5$	C – 35.46; H – 6.18; N – 3.18;	C – 35.44; H – 6.29; N – 3.60;
7	Ni	TPA	1:2	53	$C_{37}H_{75}Ni_2N_3O_{22}$ $[Ni_2(PRM)(TPA)_3](H_2O)_5$	C – 43.09; H – 7.33; N – 4.07;	C – 43.37; H – 7.71; N – 4.32;
8	Ni	TRIS	1:3	51	$C_{22}H_{37}Ni_2N_3O_{18}$ $[Ni_2(PRM)(TRIS)_3](H_2O)$	C – 35.28; H – 4.98; N – 5.61;	C – 35.10; H – 5.70; N – 5.60;
9	Ni	BIS-TRIS	1:2	53	$C_{26}H_{50}Ni_2N_2O_{21}$ $[Ni_2(PRM)(BIS\text{-}TRIS)_2]\ (H_2O)_3$	C – 37.00; H – 5.97; N – 3.32;	C – 37.19; H – 6.31; N – 3.54;

Результаты ИК спектроскопии комплексов характеризуются наличием уширенных полос валентных колебаний ν(OH) групп в диапазоне 3379-3249 $см^{-1}$. Полосы при значениях волнового числа 2975-2840 $см^{-1}$ относятся к валентным колебаниям ν(CH), ν(CH_2), ν(CH_3) групп гидроксиалкиламинов, а также пиромеллитат лиганда. Полосы при 1577-1561 $см^{-1}$ и 1387-1370 $см^{-1}$ относятся к валентным колебаниям карбоксилатных групп Prm аниона. Валентные колебания ароматического кольца (Ar) проявляются при значениях волнового числа в области 1657-1450 $см^{-1}$.

Электронные спектры поглощения пиромеллитатов биогенных металлов и их комплексов с соответствующими гидроксиалкиламинами в диапазоне 315–1000 нм представлены на рисунке 3. В исследуемом интервале длин волн спектры комплексов Cu(II) (рис. 3, а) характеризуются полосами поглощения с двумя максимумами в области при 332 и 340 нм в случае комплексов **1**, **3** и одним максимумом при 319 нм в случае комплекса **2**, которые связаны с внутрилигандным π-π*-переходом пиромеллитат аниона. Наблюдаемые полосы при 727 и 676 нм соответствуют d-d переходам металла. Как и комплексы Cu(II), координационные соединения Co(II) с TPA, TRIS и BIS-TRIS (рис. 3, б) характеризуются полосами π-π*-переходов лиганда с максимумами при 332 и 340 нм (комплекс **4**, **5**). В случае комплекса **6** максимум этой полосы смещен в УФ-область. Также наблюдаются уширенные полосы при 570 (комплексы **4**, **5**) и 519 нм (комплекс **6**), связанные с d-d переходом металла. В электронных спектрах комплексов Ni(II) (рис. 3, в) наблюдаются полосы при 319 нм (комплекс **8**) и ниже, которые относятся, как и в спектрах комплексов Cu(II) и Co(II), к π-π* переходам. Полосы при 375 и 380 нм, наблюдаемые в спектрах **8** и **9**, обусловлены полосой поглощения азот-металл с переносом заряда. Полосы при 613 и 619 нм связаны с d-d переходами.

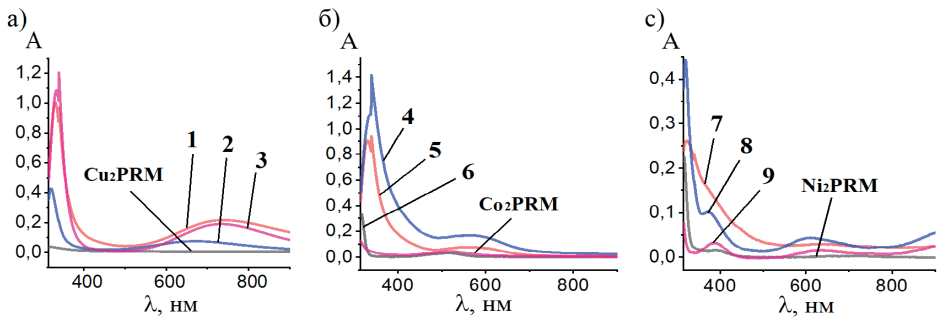


Рисунок 3. Электронные спектры поглощения комплексов 1-9

Комплексы **1-9** были также исследованы методом масс-спектрометрии. В спектрах комплексов проявляются пики ионов гидроксиалкиламинов $[HAA+H]^+$ и ионов солей гидроксиалкиламинов с металлом $[HAA+M]^+$, где M = Cu, Co и Ni. В большинстве масс-спектров исследуемых комплексов были обнаружены пики, соответствующие фрагментам ионов: $[HAA+Na]^+$, $[M(HAA)+H]^+$, $[M(HAA)+H_2O]^+$, $[M(PRM)(HAA)]^+$, $[M(PRM)(HAA)+H]^+$, $[M(PRM)(HAA)+H_2O]^+$, где M = Cu, Co, Ni; HAA = гидроксиалкиламин TPA, TRIS, BIS-TRIS.

Методом термического анализа были исследованы комплексы в диапазоне температур от 40 до 600 °C. Процесс термической деструкции сопровождался 3-4 ступенями потери массы. Начало термической деструкции наступало в диапазоне 109-118 °C, что было связано с удалением молекул кристаллизационной воды. Вторая (основная) стадия деструкции наступает при 246-267°C и сопровождается выделением тепла, паров воды и углекислого газа. При 356-380°C наблюдалось активное горение карбонизированного углерода. Полученные данные показали, что до начала деструкции плавление веществ не наблюдается, что является отличительной особенностью комплексов с пиромеллитовой кислотой в отличие от комплексов гидроксиалкиламинов с одноосновными карбоновыми и неорганическими кислотами [5].

Структура полученных комплексов пиромеллитата Co(II) с BIS-TRIS (**6**) и Ni(II) с BIS-TRIS (**9**) была исследована методом рентгеноструктурного анализа (рис. 4).

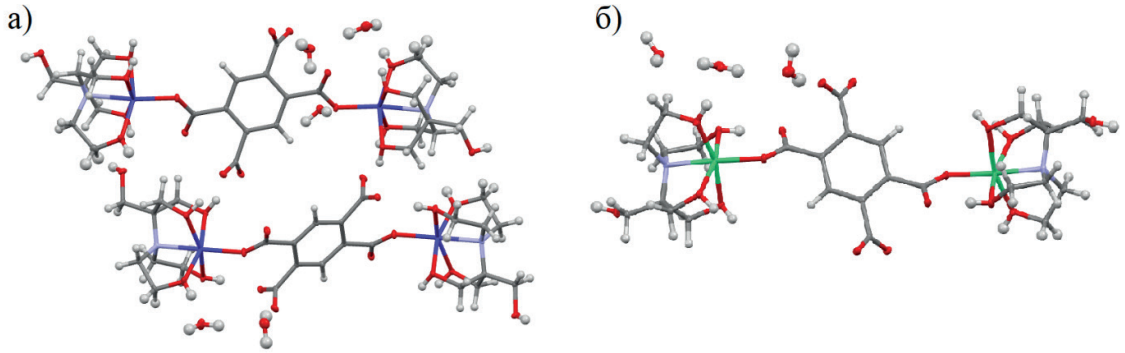


Рисунок 4. Кристаллическая структура комплексов 6 и 9

Согласно полученным данным эти соединения являются биядерными комплексами с общей формулой $[M_2(PRM)(BIS\text{-}TRIS)_2](H_2O)_n$. В кристаллической структуре комплекса **6** (рисунок 4, а) центральные атомы кобальта гексакоординированы за счет атомов O гидроксиалкильных ветвей и атома N пентадентатного лиганда BIS-TRIS и карбоксилатной группой пиромеллитовой кислоты, которая выступает мостиковым лигандом. Исходя из полученной кристаллической структуры исходного пиромеллитата кобальта $[Co_3(\mu\text{-}ONa)_6(PRM)_3(H_2O)_{18}]_n$, можно заметить, что в синтезированном комплексе на его основе отсутствуют атомы Na, а атомы Co(II) сохраняют свою октаэдрическую координацию. Молекулы воды не участвуют в координации с атомом кобальта и переходят в свободную форму. Структура комплекса **9** (рисунок 4, б) аналогична комплексу **6**. Атомы никеля гексакоординированы за счет атомов O и N от пентадентатного лиганда BIS-TRIS и карбоксилатной группой мостикового PRM лиганда.

Среди синтезированных гидрометаллатранов комплексы пиромеллитатов с TRIS (**2**, **5**, **8**) были выбраны для исследования их противомикробной активности на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии ПСПбГМУ по отношению к штаммам *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*. Комплексы показали активность к диплоидному грибу *C. Albicans* (минимальная ингибирующая концентрация 25 мкг/мл). В исследуемом диапазоне концентраций (25-100 мкг/мл) соединения оказались не активными по отношению к бактериям *S. aureus* и *E. coli*.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами были синтезированы соли Cu(II), Co(II) и Ni(II) пиромеллитовой кислоты. Методом монокристальной рентгеновской дифракции была изучена кристаллическая структура пиромеллитата Co(II). Результаты показали, что это соединение является гетероядерным комплексом с полимерной структурой, которая дает возможность отнести данное вещество к новому представителю МОКС. На второй стадии были синтезированы новые представители биологически активных гидрометаллатранов на основе комплексов пиромеллитатов биометаллов и гидроксиалкиламинов TPA, TRIS и BIS-TRIS. Процесс термической деструкции комплексов

характеризуется многоступенчатой потерей массы (3-4 ступени) с ярко выраженными экзотермическими эффектами. Начало деструкции наступает в диапазоне 109-118°С и связано с удалением молекул кристаллизационной воды. Методом рентгеноструктурного анализа были исследованы кристаллические структуры комплексов пиромеллитатов Cu(II) и Ni(II) с BIS-TRIS, отвечающие общей формуле $[M_2(PRM)(BIS\text{-}TRIS)_2](H_2O)_n$. В обоих комплексах атомы металлов проявляют октаэдрическую геометрию за счет координации с атомами азота и кислорода гидроксиалкильных ветвей BIS-TRIS, действующего как пентадентатный лиганд, и карбоксилатной группой пиромеллитат лиганда. Исследования противомикробной активности позволили обнаружить селективное ингибирующее действие комплексов TRIS с солями Cu(II), Co(II) и Ni(II) к грибу *Candida albicans*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nanoscaled Metal-Organic Frameworks for Biosensing, Imaging, and Cancer Therapy / J. Zhou [et al.]// Advanced Healthcare Materials. 2018. N 7. 1800022. https://doi.org/10.1002/adhm.201800022.

2. Колесникова О.П., Мирскова А.Н., Адамович С.Н., Кузнецова Г.А., Кудаева О.Т., Гольдина И.А., Сафронова И.В., Мирсков Р.Г., Гайдуль К.В., Воронков М.Г. Скрининг иммуноактивных свойств комплексов триэтаноламина с солями биомикроэлементов // Бюлл. СО РАМН. 2009. N 6. V 140. С. 73.

3. Цинксодержащий антидот отравления этанолом и способ лечения с его использованием: пат. 2418580 Рос. Федерация N 2009149343/15. Заявл. 29.12.2009. Опубл. 20.05.2011. Бюл. N 14.

4. Antiviral, Antibacterial, Antifungal, and Cytotoxic Silver (I) BioMOF Assembled from 1,3,5-Triaza-7-Phoshaadamantane and Pyromellitic Acid / S.W. Jaros [et al.] // Molecules. 2020. Vol. 25. N 9. P. 2119. https://doi.org/10.3390/molecules25092119.

5. Synthesis, crystal structure and properties of copper(II) complexes with triethanolamine and carboxylic acids (succinic, salicylic, cinnamic) / Y.A. Kondratenko [et al.] // Transition Metal Chemistry. 2019. V 45. N 1. P. 71–81. https://doi.org/10.1007/s11243-019-00359-7.

SUMMARY

INTRA-COMPLEX COMPOUNDS OF HYDROXYALKYLAMINES WITH SALTS OF PYROMELLITIC ACID AS PROMISING BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Zavyalova D.A.[1,2], 1nd year master student
Academic advise: **Kondratenko Y.A.**[2], Candidate of chemical sciences, Senior Scientific Researcher
[1]St. Petersburg State Technological Institute (Technical University),
190013, St. Petersburg, Moskovsky pr., 26, Russian Federation
[2] I. V. Grebenshchikov Institute of Silicate Chemistry, RAS, 199034, St. Petersburg, Makarov emb., 2, Russian Federation
E-mail: starshova18@gmail.com

In the course of the study, salts of Cu(II), Co(II), Ni(II) pyromellitic acid were synthesized, among them it was possible to establish the crystal structure of a new representative of metal-organic frameworks – a mixed complex of cobalt (II) and sodium (I) pyromellitate. The interaction of Cu(II)-, Co(II)-, Ni(II)-salts of pyromellitic acid with hydroxyalkylamines such as tris(2-hydroxypropyl)amine (TPA), tris(hydroxymethyl)aminomethane (TRIS) and bis(2-hydroxyethyl)aminotris(hydroxymethyl) methane (BIS-TRIS) was studied for the first time. The results of characterization of these complexes by methods of IR, UV spectroscopy, mass spectrometry, elemental and thermogravimetric analysis are presented. The structure of BIS-TRIS complexes with Co(II) and Ni(II) promellitates was studied by single-crystal X-ray diffraction.

Keywords: *metal-organic frameworks, hydrometalloatrans, bimetals, pyromellitic acid, biologically active substances.*

REFERENCES

1. Nanoscaled Metal-Organic Frameworks for Biosensing, Imaging, and Cancer Therapy / J. Zhou [et al.]// Advanced Healthcare Materials. 2018. N 7. 1800022. https://doi.org/10.1002/adhm.201800022.

2. Kolesnikova O.P., Mirskova A.N., Adamovich S.N., Kuznetsova G.A., Kudaeva O.T., Goldina I.A., Safronova I.V., Mirskov R.G., Gaidul K.V., Voronkov M.G. Skrining immunoaktivnyh svojstv kompleksov trietanolamina s solyami biomikroelementov // Byull. SO RAMS. 2009. N 6. V 140. P. 73. (in Russian)

3. Zinc-containing antidote of ethanol poisoning and a method of treatment with its use: pat. 2418580 Russian Federation N 2009149343/15. Application 29.12.2009. Publ. 20.05.2011. Bul. N 14.

4. Antiviral, Antibacterial, Antifungal, and Cytotoxic Silver (I) BioMOF Assembled from 1,3,5-Triaza-7-Phoshaadamantane and Pyromellitic Acid / S.W. Jaros [et al.] // Molecules. 2020. Vol. 25. N 9. P. 2119. https://doi.org/10.3390/molecules25092119.

5. Synthesis, crystal structure and properties of copper(II) complexes with triethanolamine and carboxylic acids (succinic, salicylic, cinnamic) / Y.A. Kondratenko [et al.] // Transition Metal Chemistry. 2019. V 45. N 1. P. 71–81. https://doi.org/10.1007/s11243-019-00359-7.

УДК 615.356

ОБЗОР СИСТЕМ ПАТОГЕНРЕДУКЦИИ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ, В ЧАСТНОСТИ ОСНОВАННЫХ НА СУБСТАНЦИИ РИБОФЛАВИНА

Карапетян М.Т., специалитет 5 год обучения
Научный руководитель: **Лалаев Б.Ю.**, канд. хим. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация;
Певцов Д.Э., канд. мед. наук,
Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова,
197101, улица Льва Толстого, 19
E-mail: karapetyan.marsel@pharminnotech.com

С целью выяснить какие методы преодоления инфекционных осложнений при переливании компонентов крови используются в Санкт-Петербургских отделах переливания крови (ОПК), был проведен опрос позволяющий выяснить какие системы патогенредукции и в каком количестве задействуются на практике. По результатам проведенного исследования установлено самая популярная система в Санкт-Петербурге, это Mirasol, также определено что 100% тромбоцитов подвергаются патогенредукции, а свежезамороженная плазма лишь в количестве до 10%, остальные 90% проходят процесс карантинизации.

Ключевые слова: *Mirasol, Intercept, Teraflex рибофлавин, патогенредукция, вирусинактивация, карантинизация, плазма, тромбоциты.*

Возникновение инфекционных осложнений при переливаниях компонентов крови все еще имеют место быть, однако человечество стремительно уменьшает риск подобных событий с каждым десятилетием. Длительный период времени с начала 80-х до конца 90-х годов в этом направлении не было прогресс, однако в настоящее наблюдаются успехи. Введение скрининговых тестов для отбора доноров позволили повысить безопасность трансфузий. Для иммунокомпроментированных больных, также являются значимыми: вирусы герпеса, для которых не предусмотрено проведение скрининга. Кроме того, скрининг не позволяет выявить неизвестные патогены. Одним из выходов стал метод карантинизации, при котором компоненты крови сдаются на карантинизацию (в 2022 году сроком 4 месяца) [2] и хранятся на складе, и используются только после повторного обследования донора крови с целью покрытия самого продолжительного серонегативного периода инфекции. Карантинизации подлежит эритроцитарная масса, а также свежезамороженная плазма (СЗП). Метод не позволяет обрабатывать таким образом лейкоцитарную массу и концентраты тромбоцитов. В качестве альтернативы существует метод патогенредукции, который позволяет уничтожить гемотрансмиссивные инфекционные агенты в донорской крови, ее компонентах и препаратах [5].

В 2001 году *Conformité Européenne* (CE mark) была одобрена первая технология редукции (инактивации) патогенов основанная на фотоактивных свойствах метиленовой сини (в России одобрена в мае 2006 года). Это позволило оперативно в кратчайшие сроки создавать запасы «безопасной» плазмы, а также предотвратить передачу от донора к реципиенту широкого спектра вирусных инфекций. В мае 2002 года компания «Cerus» зарегистрировала Intercept, использующий в качестве фотоактивного вещества псорален S-59, стала возможна инактивация тромбоцитов. В 2007 году появившееся система Mirasol от компании «TerumoBCT» использовала совершенно безопасное вещество с точки зрения FDA рибофлавин (витамин B_2). Были попытки создать системы без фотоактивного вещества (Theraflex УФ), однако они не показали значительных результатов редукции [1]. (Метод не позволяет подвергать редукции эритроциты в виду высокой оптической плотности, в данный момент ведутся исследования в этой области, но зарегистрованных методов нет) (Таблица 1).

Цель моего исследования выяснить какие методы преодоления инфекционных осложнений используют в Санкт-Петербурге в 2022. Определить какая система является самой часто используемой, а также какой процент СЗП и тромбоцитов проходят процесс патогенредукции.

Таблица 1 – Краткое описание характеристик систем [4]

Система	Фотосенсибилизирующий агент	Основные фотопродукты	Необходимые условия	Дополнительные шаги
Theraflex	Отсутствует	Отсутствуют	УФС (254 нм)	Отсутствуют
Theraflex MB	Метиленовый синий	Azure A Azure B Leuko-MB Thionine	Видимый свет 590 или 630 нм	Фильтрация
Intercept	Амотосален (S-59)	Димеры амотосалена	320-400 нм	Фильтрация
Mirasol	Рибофлавин	Люмихром	УФ (280-400 нм)	Отсутствуют

Сравнительный обзор систем, представленных на рынке: в подавляющем большинстве систем вирусинактивации используются фотосенсибилизаторы, которые поглощая световую энергию, переходят в возбужденное состояние, в последствии вступая в фотохимические реакции. Кратко отмечу что существует 4 типа фотохимических реакции. 1, 2, 4 типы являются кислородозависимыми, а 3 способен протекать в отсутствии кислорода. Природа фотосенсибилизатора

определяет условия облучения, а также необходимость проведения дополнительных шагов, для приведения продукта в конечный вид (рис. 1).

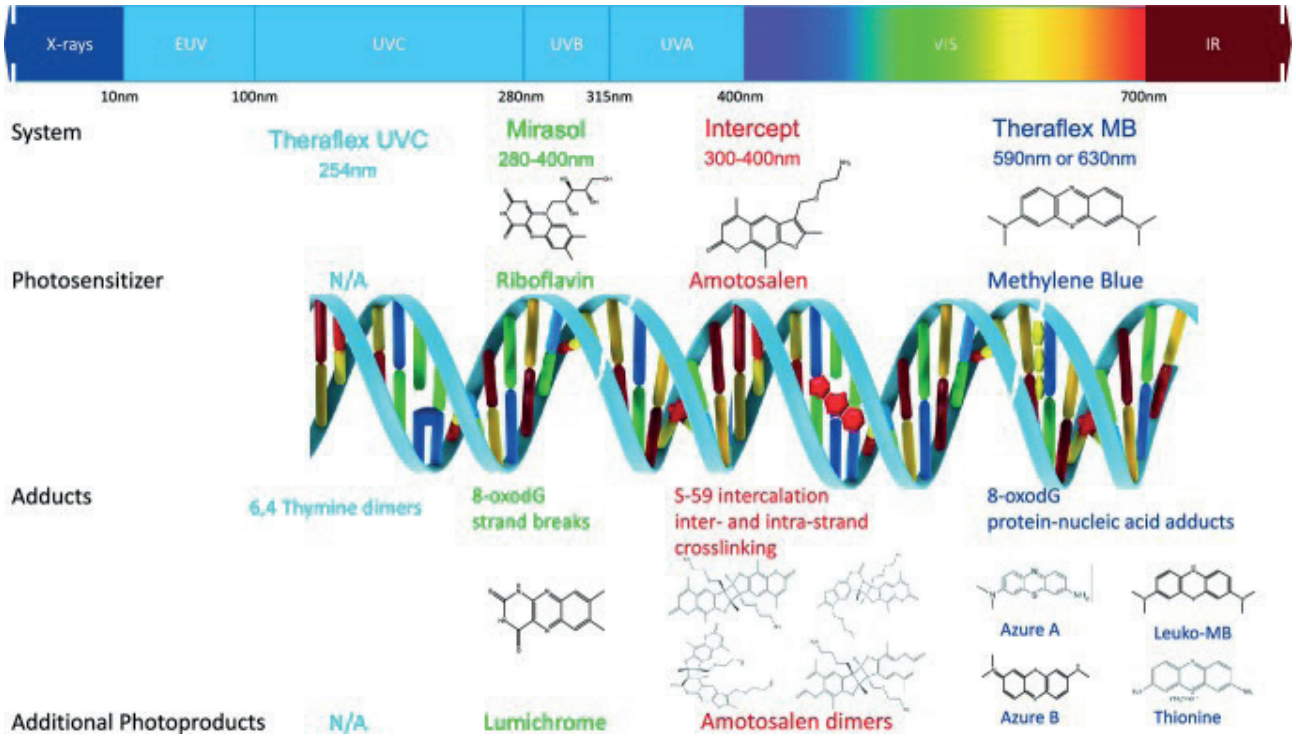


Рисунок 1. Иллюстрированное фотохимических механизмов для технологий снижения патогенов Theraflex UVC, Mirasol, Intercept и Theraflex метиленового синего (MB) [4]

Theraflex MB (Macopharma; France) он же просто «Макотроник»**:** Система с метиленовым синим. Метиленовый синий известен с 19-го века, в те времена он использовался для лечения малярии. Позже его стали использовать для фотодинамического лечения рака посредством его свойства повреждать ДНК, а также за счет способности создавать «окислительный стресс», приводящий к апоптозу раковых клеток. Кроме того, фенотиазиновые красители каковым является метиленовый синий обладают антисептическим действием, его применяет внутрь при инфекциях мочевыводящих путей.

Метиленовый синий, может встраиваться в ДНК (реакция 4 типа). В присутствии кислорода, способен образовывать активные формы кислорода (реакции 2 типа), а также посредством переноса электронов супероксидный анион-радикал (реакция 1 типа), которые способствуют окислению нуклеиновых кислот, в частности, остатков гуанина, что в последствии препятствует репликации патогенов. Для «активации» метиленового синего используют облучатель воспроизводящий видимый свет с длиной волны 590 или 630 нм (метиленовый синий имеет пик поглащения в диапазоне 620-670 нм). Метиленовый синий используется только для инактивации СЗП, так как ввиду гидрофильности молекулы не способен проникать в клетки компонентов крови, вероятнее всего фотосенсибилизатор остается локализованным в области внешней мембраны клеток, а также белков. Кроме того, после процедуры облучения, необходимо снизить концентрацию метиленового синего (до 0.1- 0.3 мкм) посредством применения фильтра Blueflex от Macopharma [3,4].

Intercept (Cerus Corp., Concord, CA, USA): Используется амотосален в качестве фотосенсибилизатора в присутствии УФА 320-400 нм. С 1974 году псорален в сочетании со светом УФА используется для лечения кожных заболеваний таких как псориаз, экзема, атопический дерматит (ПУВА-терапия). Амотосален представляет собой трициклическую молекулу, состоящую из фурана и кумаринового фрагмента. Поскольку псоралены по своей природе плоские ароматические молекулы, они обладают высокой склонностью с обратимой интеркаляции в двойную спираль нуклеиновых кислот (реакция 4 типа). После активации посредством УФА образуются ковалентные поперечные связи с пиримидиновыми основаниями как в ДНК, так и с РНК. Такие «сшивки» предотвращают спиральное раскручивание и репликацию нуклеиновых кислот с помощью полимераз. Благодаря наличию в молекуле боковой цепи (представляющей собой производное амина) способен проникать через клеточные мембраны, что позволяет технологию использовать для обработки тромбоцитов и СЗП. После процедуры требуется продукты крови отфильтровать для удаления псоралена и его фотопродуктов с помощью устройства для адсорбции [4].

Mirasol (TeumoBCT, Lakewood, CO, USA)**:** Система, использующая рибофлавин и УФ свет в диапазоне от 280-400 нм. Рибофлавин является естественным соединением для человека. Его производные ФАД и ФМН, являются коферментами для 30 ферментов, осуществляющих перенос водорода на различные субстраты. Фотохимический механизм действия рибофлавина опосредуется фотохимическими реакциями 1 и 2 типа. При активации УФ-светом рибофлавин происходит окисление остатков гуанина в ДНК и РНК. Фотопродуктом рибофлавина является люмихром (рис. 2).

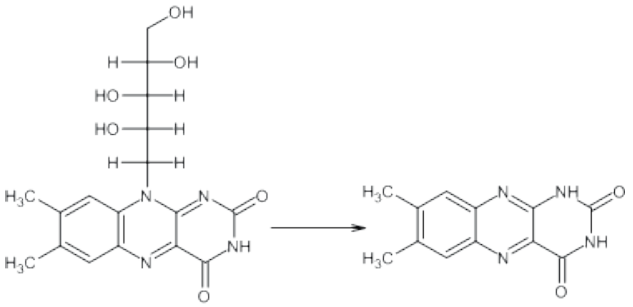


Рисунок 2. Переход рибофлавина в люмихром

С точки зрения FDA рибофлавин классифицируется как соединение GRAS (Generally Regarded as Safe или обычно является безопасным). Действительно токсикологические исследования, проведенные компанией TerumoBCT и другими организациями, показали, что нет никаких опасений при переливании обработанной УФ-излучением СЗП и тромбоцитов. В связи с этим не требуется дополнительных процедур для удаления фотосенсибилизатора [4].

Рассмотрим возможные методы синтеза рибофлавина. В промышленности рибофлавин получают химическим синтезом из 3,4-диметил-анилина и рибозы или микробиологическим способом.

Микробиологический метод: Микробиологический метод подразумевает использование дрожжеподобных грибов Eremothecium ashbyii и Ashbya gossipii, данные виды способны синтезировать рибофлавин в количествах до 3,8 и 6,4 г/л соответственно. Добиться высоких значений синтеза позволяет воздействие мутагенами на штамм микроорганизма с целью подавить механизм ретроингибрования, который задействуется в ходе синтеза витамина B_2, а также «идеальный» состав культуральной жидкости. В состав среды для культивирования входит: соевая мука, сахароза, кукурузный экстракт, карбонат кальция, хлорид натрия, гидрофосфат калия, витамины и технический жир. В случае использования в качестве продуцента E. ashbyii используют споры, выращенные на пшене. Перед подачей культуральной жидкости в ферментер, среду необходимо простерилизовать, посредством добавления к ней антибиотиков и антисептиков. Из культуральной жидкости выделяют при pH 4,5-7 в труднорастворимой восстановленной форме с выходом около 90%. Для осаждения рибофлавина в качестве восстановителя применяют гидросульфит. Биосинтез микробиологическим путем по своей эффективности уступает химическому методу [6].

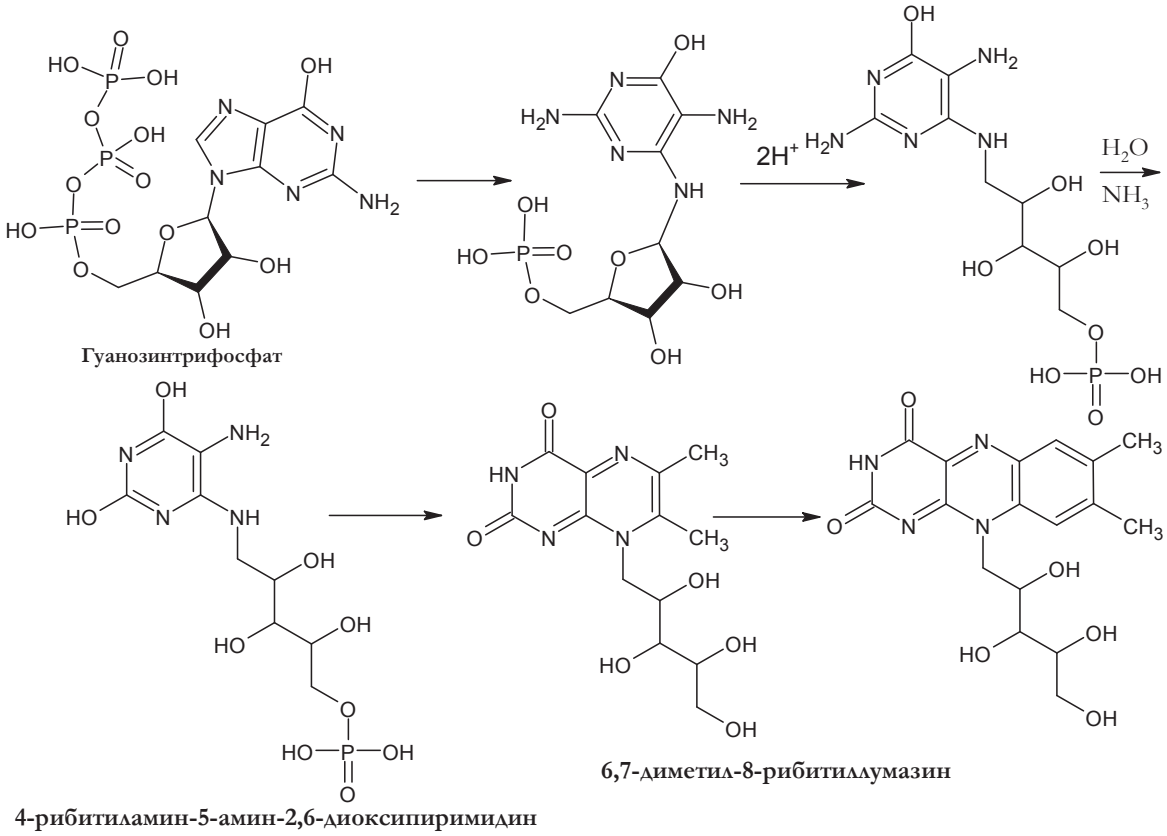


Рисунок 3. Микробиологический путь синтеза рибофлавина схематически [9]

Предполагаемый механизм микробиологического синтеза: Восстановление продукта перегруппировки Амадори, дезаминирование и дефосфорилирование приводят к образованию предшественника флавина 4-рибитиламин-5-амин-2,6-диоксипиримидина. В результате спонтанного присоединения диацетила образуется 6,7-диметил-8-рибитиллумазин.

Для завершения построения флавинового кольца требуется еще четыре атома углерода, которые доставляются второй молекулой диацетила [8].

Промышленный способ: рибофлавин синтезируют путем конденсации 3,4-диметиланилина с D-рибозой. Полученный имин гидрируют, затем через реакцию азосочетания образуют арилрибамин и конденсируют его с аллоксаном [7].

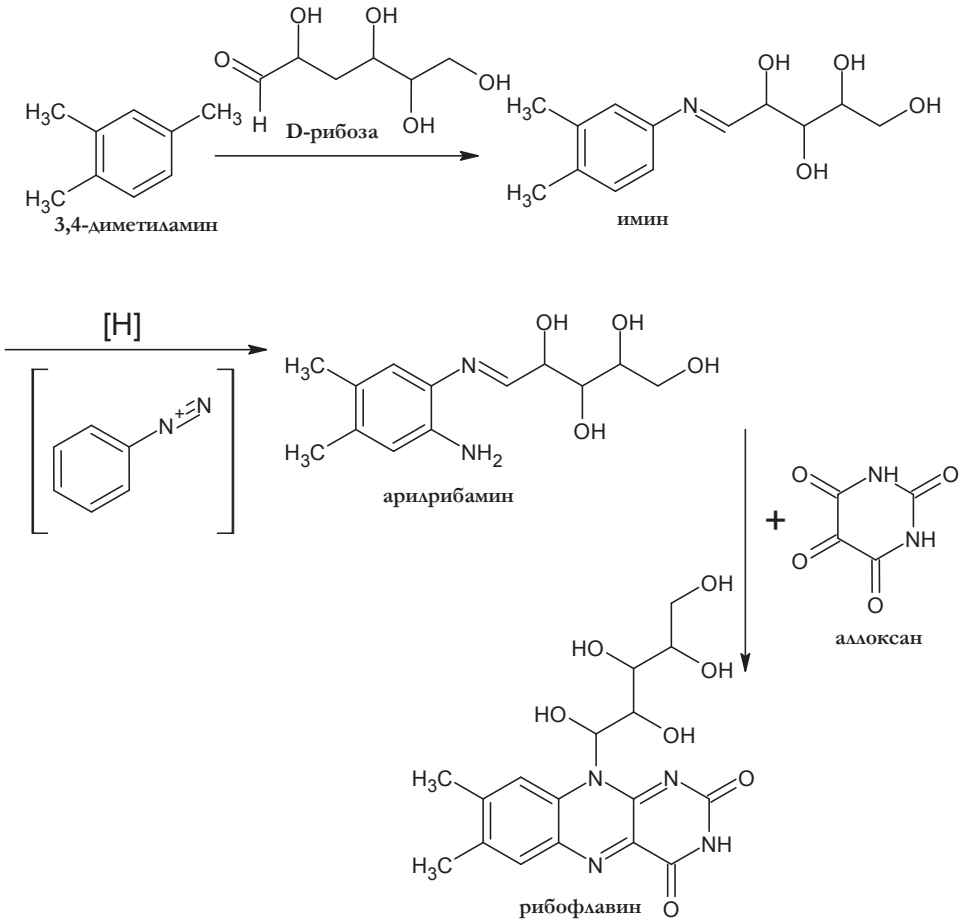


Рисунок 4. Химический путь получения рибофлавина [7]

Материалы и методы: всего в Санкт-Петербурге 20 ОПК, среди них 8 федерального уровня и 12 городского. По специально разработанному перечню вопросов проведен анкетный опрос 15 руководителей отделов переливания крови (ОПК) Санкт-Петербурга, из них 6 федерального уровня, а также 9 городского. Исследование было самоинициированным. Конфликта интересов не наблюдалось. Анкета, по которой проводился опрос, состояла из 5 вопросов, которые формируют представление о том, как Санкт-Петербурге в 2022 году преодолевают возникновение инфекционных реакций при переливании компонентов крови. Обработку результатов исследования проводили с использованием электронных таблиц MS Excel.

Результаты и обсуждение: По результатам опроса выявлено что 100% тромбоцитов, а также не более 10% СЗП проходят патогенредукцию. Остальные более 90% СЗП проходят карантинизацию. В обязательном порядке патогенредукцию проходит антиковидная плазма.

Рисунок 5. Множество холодильников для хранения и карантинизации компонентов крови в ОПК ПСПБГМУ

Среди 15 ОПК, которые участвовали в исследовании в Санкт-Петербурге, два не владеют ни одной технологией патогенредукции, а также не заготавливает концентраты тромбоциты, несмотря на то что *ПП РФ 797 от 22 июня 2019 года* [2] не накладывает таких ограничений, среди них один центр федерального уровня. Данные центры вынуждены использовать метод карантинизации.

Количество систем в ОПК

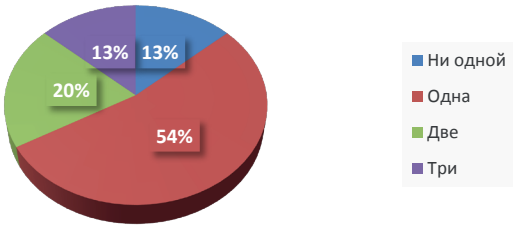


Диаграмма 1. Отображение количества систем в ОПК

Остальные центры владеют по меньшей мере одной системой патогенредукции. Так восемь центров владеют одной системой патогенредукции, среди которых четыре федерального уровня. Пять из них владеют системой Mirasol, два Intercept и один центр использует «Макотроник». Три центра городского уровня владеют двумя системами патогередукции, среди них следующие комбинации: Intercept и Mirasol (в двух центрах), а также Intercept и «Макотроник». Два центра среди которых один федерального уровня владеют всеми ныне существующими системами патогенинактивации (диаграммы 1 и 2).

Доля каждой системы патогенредукции

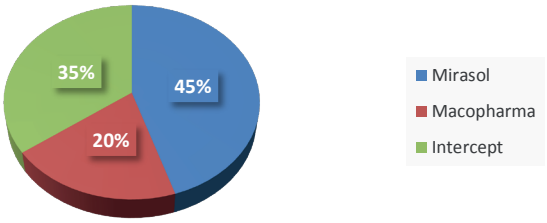


Диаграмма 2. Доля каждой системы патогенредукции

Стоит также отметить, что руководители ОПК стремятся в диверсификации, то есть к владению множеством систем, это связано трудностями эксплуатации, а именно системы нуждаются в расходных материалах, которые также как сами аппараты приобретаются и производятся за рубежом, в частности как отмечалось ранее «родиной» систем Mirasol и Intercept является США, а «Макотроника» Франция, в связи с этим не исключаются перебои с их поставками. Кроме того, 11 из 15 респондентов на вопрос что является лимитирующим фактором не позволяющим патогенредуцировать более

10 % СЗП, вместо карантинизации ответили финансирование. Для сравнения можно привести таблицу соотнщений карантинизации и патогенредукции в странах Европы (таблица 2).

Таблица 2 – Соотношение карантинизации и патогенредукции СЗП на 2018 год [5]

Страны	Карантинизация %	Патогенредукция %
Люксембург	0	100
Нидерланды	100	0
Германия	100	0
Франция	57	43
Швейцария	80	20
Бельгия	0	100
Чехия	100	0
Румыния	100	0
Болгария	0	0
Швеция	0	0
Словения	0	0
Словакия	42	0
Польша	69	0
Греция	20	8

Заключение: в результате исследования выявлено что 100% тромбоцитов, а также 90% СЗП проходят патогенредукцию. Самой востребованной системой в Санкт-Петербурге является Mirasol. Кроме того, по заверениям самих руководителей станции стремятся к владению всеми возможными системами патогенредукции с целью предупреждения возможных перебоев поставок расходных материалов. Или как указал один из респондентов «Мы ждем отечественную систему».

ТЕМАТИЧЕСКАЯ РУБРИКА

76.29.33 Гематология и трансфузиология

ЛИТЕРАТУРА

1. Инактивация патогенов в клеточных компонентах крови / Губанова М.Н. [и др.] // Трансфузиология. 2017. Т. 18. N 3. С. 15-36.

2. Постановление Правительства РФ от 22 июня 2019 г. N 797 «Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов и о признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации»[Электронный ресурс]. Режим доступа : https://base.garant.ru/72284110/

3. Жибурт Е.Б., Филина Н.Г., Губанова М Н. Вирусинактивация плазмы // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. 2007. Т. 2. N 1. С. 105-110.

4. Chemical and biological mechanisms of pathogen reduction technologies / Mundt J. M. [et al.] // Photochemistry and photobiology. 2014. Т. 90. N 5. С. 957-964.

5. Трансфузиология / Рагимов А.А. [и др.]. 2018. С. 184-187.

6. Цетенко Н.А., Токарева А.Ю. Биотехнологическое производство водорастворимых витаминов // Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук. 2020. С. 206-209.

7. Производные изоаллоксазина в качестве лекарственных средств / Мельникова О.А. [и др.] // Хроники объединенного фонда электронных ресурсов Наука и образование. 2016. N 11. С. 18-18. С. 7-8.

8. Мецлер Д.Э. Биохимия: химические реакции в живой клетке. М.: Мир, 1980. С. 174-175.

SUMMARY

REVIEW OF PATHOGEN REDUCTION SYSTEMS OF BLOOD COMPONENTS USED IN ST. PETERSBURG, IN PARTICULAR BASED ON THE SUBSTANCE RIBOFLAVIN

Karapetyan M.T., 5th year undergraduate
Academic advise: **Lalaev B.U.**, Candidate of Chemical Sciences, senior lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
Pevtsov D.E., Candidate of Medical Sciences, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg
19, Lev Tolstoy St., St. Petersburg, 197101, Russian Federation
E-mail: karapetyan.marsel@pharminnotech.com

In order to achieve any methods of combating infectious complications during the transfusion of blood components are used in the St. Petersburg departments of blood transfusion (DBT), the authors conducted a survey on the problems of pathogenetic

reduction in a certain amount of the population. According to the results of the study, the most common system in St. Petersburg named Mirasol was installed, it was also determined that 100% of platelets are susceptible to pathogen reduction, but plasma was susceptible in the amount of 10%, the remaining of plasma (90%) is accompanied by a quarantine process.

Keywords: *Mirasol, Intercept, Taraflex, riboflavin, pathogen reduction, virus inactivation, quarantine, plasma, platelets.*

REFERENCES

1. Inactivation of pathogens in blood cell component / Gubanova M.N. et al. // Transfusiology. 2017. Vol. 18. N 3. P 15-36.

2. Decree of the Government of the Russian Federation No. 797 dated June 22, 2019 «On Approval of the Rules for Procurement, Storage, Transportation and Clinical Use of Donated Blood and Its Components and on Invalidation of Certain Acts of the Government of the Russian Federation» [Internet]. Access mode: https://base.garant.ru/72284110/

3. Zhiburt E.B., Filina N.G., Gubanova M.N. Plasma viral activation // Bulletin of the National Medical and Surgical Center named after NO Pirogov. 2007. Vol. 2. N 1. P 105-110.

4. Chemical and biological mechanisms of pathogen reduction technologies / Mundt J. M. [et al.] // Photochemistry and photobiology. 2014. T. 90. N 5. C. 957-964.

5. Transfusiology / Ragimov A.A.[et al]. 2018. P 184-187.

6. Tsetenko N.A., Tokareva A.Yu. Biotechnological production of water-soluble vitamins // Topical issues of pharmaceutical and natural sciences. 2020. P 206-209.

7. Isoalloxazine derivatives as medicines / Melnikova O.A. [et al.] // Chronicles of the United Fund of Electronic Resources Science and Education. 2016. N 11. P 18-18. P 7-8.

8. Metzler D.E. Biochemistry: chemical reactions in a living cell. M.: Mir, 1980. P 174-175.

УДК: 61:615:07

МИКРОЭКСТРАКЦИОННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАНИЛАМИДОВ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ В СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ РАСТВОРИТЕЛИ

Ковальчук Я.А., студ. 2 курса
Руководитель: **Вах К.С.**, кандидат хим. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный университет
199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7-9, Российская Федерация
E-mail: anyakovalchuk653@gmail.com

Разработан новый способ выделения сульфаниламидных лекарственных веществ, в частности сульфапиридина, сульфадимезина и сульфаметоксазола, из биологических жидкостей в супрамолекулярные растворители для последующего определения аналитов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием (ВЭЖХ-УФ).

Ключевые слова: *супрамолекулярные растворители, микроэкстракция, биологические жидкости, сульфаниламидные препараты, первичные амины, алкилполигликозиды.*

Сульфаниламиды, в частности сульфапиридин, сульфадимезин и сульфаметоксазол (рис. 1) являются противомикробными препаратами широкого спектра действия, которые находят применение при лечении различных инфекционных заболеваний. Мониторинг данных лекарственных веществ в биологических жидкостях крайне необходим для улучшения их терапевтического эффекта и исключения побочного влияния на организм пациента.

Сульфапиридин **Сульфадимезин** **Сульфаметоксазол**

Рисунок 1. Структурные формулы лекарственных веществ

Из-за сложного химического состава биологических жидкостей их прямой анализ не представляется возможным, следовательно, необходимо включение стадии пробоподготовки, нацеленной на устранение матричных эффектов и концентрирование аналитов. В современном мире все более привлекательными становятся методы, соответствующие принципам «зеленой» химии, в частности жидкостная микроэкстракция.

Целью данной работы явилась разработка нового способа выделения и концентрирования сульфаниламидов из биологических жидкостей, основанного на использовании «зеленых» экстрагентов, в частности супрамолекулярных растворителей для последующего определения аналитов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием (ВЭЖХ-УФ). Для создания супрамолекулярного растворителя использовали алкилполигликозид и первичный амин. При смешении выбранных веществ с раствором пробы наблюдалось *in situ* генерирование фазы супрамолекулярного растворителя, в которую извлекались целевые аналиты. Были исследованы параметры, влияющие на эффективность экстракции: объем пробы, тип и объем экстрагента и высаливающего агента.

Материалы и методы

Супрамолекулярные растворители представляют собой наноструктурированные жидкости с особыми свойствами. Они образуются в коллоидных растворах амфифильных соединений в результате последовательных явлений самоорганизации и коацервации. Изначально в гомогенном растворе амфифильного вещества протекает процесс самоорганизации, при котором изолированные молекулы амфифила объединяются в трехмерные агрегаты, такие как мицеллы или везикулы. При этом концентрация амфифила должна быть выше критической концентрации мицеллообразования. Далее протекает процесс коацервации. Агрегаты, соединяясь в более крупные частицы, отделяются от коллоидного раствора и образуют новую жидкую несмешивающуюся с водой фазу, обогащенную амфифильными соединениями, которую и называют супрамолекулярный растворитель.

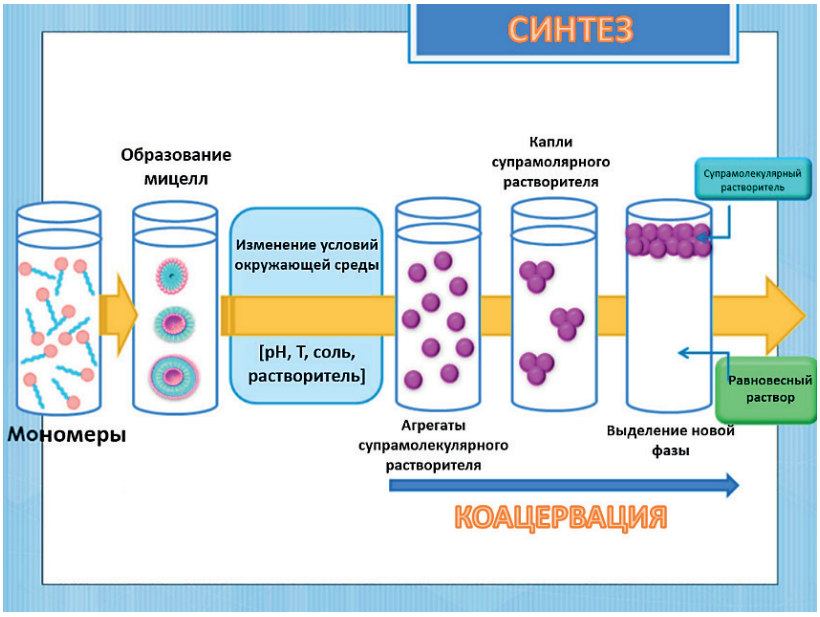


Рисунок 2. Схема синтеза супрамолекулярных растворителей

В предложенном способе на первом этапе неоиногенное поверхностно-активное вещество алкилполигликозид добавляют к водному раствору пробы, после чего в системе наблюдается образование изотропного раствора. На втором этапе при введении в экстракционную систему агента коацервации (первичного амина) наблюдается образование фазы супрамолекулярного растворителя, в которую извлекаются целевые компоненты. Далее экстракционную систему центрифугируют, отделяют органическую фазу и проводят определение аналитов методом ВЭЖХ-УФ, предварительно разбавив отобранную фазу смесью метанол:ацетонитрил (2:1) в соотношении 1:1.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования были изучены параметры, влияющие на извлечение аналитов. Было установлено, что для генерирования фазы супрамолекулярного растворителя и выделения сульфаниламилов оптимальными являются алкилполигликозид C08/10 (рис. 3А), а также гептиламин (рис. 3Б). Несмотря на большее значение площади пика для гексиламина, было принято решение использовать гептиламин в качестве коацервата из-за недостаточного для анализа объема выделяющейся органической фазы в случае с гексиамином. При этом для извлечения аналитов достаточно всего 60 мкл гептиламина и 200 мкл 5 % раствора алкилполигликозида C08/10.

На следующем этапе были изучены различные соли натрия, которые способствуют с одной стороны уменьшению влияния факторов окружающей среды, например температуры, на объём выделившейся фазы супрамолекулярного растворителя, а с другой – увеличивают эффективность извлечения аналитов за счет высаливающего эффекта. Среди исследованных солей были изучены NaCl, Na_2CO_3, Na_2HPO_4 и $(NH_4)_2SO_4$. Несмотря на то, что сульфат аммония обеспечивает более высокие значения аналитического сигнала, в системе наблюдалось выделение осадка, что сильно затрудняло проведение анализа. Таким образом, для последующих исследований был выбран карбонат натрия (рис. 4).

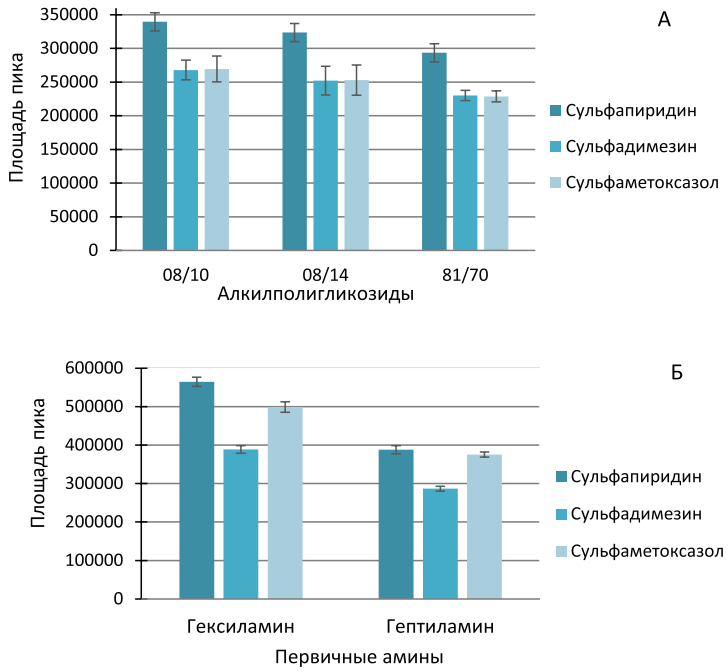


Рисунок 3. Выбор оптимального алкилполигликозида (А) и первичного амина (Б) (С(аналитов)=10 мг/л)

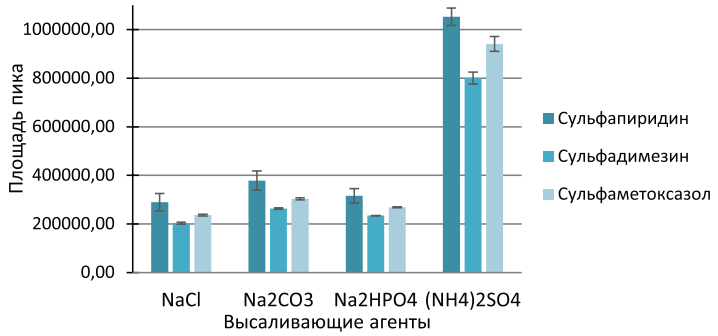


Рисунок 4. Выбор высаливающего агента

Также в диапазоне от 500 до 2000 мкл был оптимизирован объем раствора пробы. Установлено, что оптимальным является объем 2 мл (рис. 5).

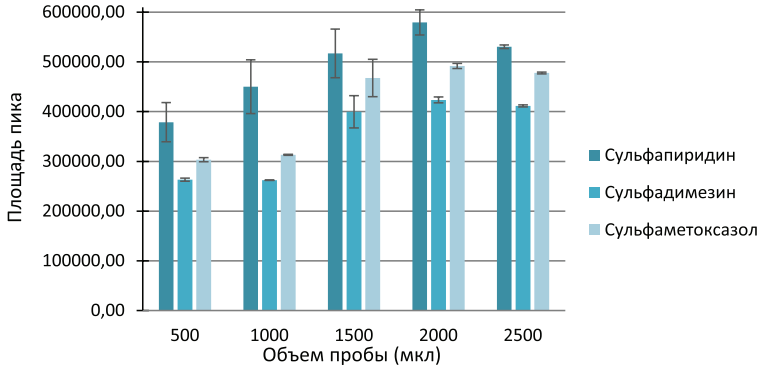


Рисунок 5. Оптимизация объема пробы

В таблице 1 указаны аналитические характеристики разработанного способа определения сульфаниламидов после оптимизации условий извлечения. Предел обнаружения для всех трех аналитов составил 0,02 мг/л, при этом СКО не превышает 10%.

Таблица 1 – Аналитические характеристики разработанной методики

Параметр	Аналит		
	Сульфапиридин	Сульфадимезин	Сульфаметоксазол
Диапазон определяемых концентраций, мг/л	0,05-50	0,05-50	0,05-50
Предел обнаружения, мг/л	0,02	0,02	0,02
ОСКО, %	10	10	10
Степень извлечения, % (n=3)	69±3	60±3	56±3
Коэффициент концентрирования	4,2 ± 0,3	3,4 ± 0,2	3,4 ± 0,2

Заключение

Данная работа была направлена на разработку нового, экспрессного и эффективного способа определения сульфаниламидов в биологических жидкостях с применением экологически безопасных супрамолекулярных растворителей.

Апробация разработанного способа рассмотрена на реальных образцах биологических жидкостей с предварительным выделением сульфапиридина, сульфадимезина и сульфаметоксазола и последующем их определении методом ВЭЖХ-УФ.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00. Медицина и здравоохранение

76.01.00. Общие вопросы медицины и здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Fernández, E., & Vidal, L. Liquid-Phase Extraction and Microextraction // Ionic Liquids in Separation Technology Elsevier Ltd. 2014. P 107–152. DOI: 10.1016/B978-0-444-63257-9.00003-1

2. Caballo, C., Sicilia, M.D., & Rubio, S. Supramolecular Solvents for Green Chemistry // In The Application of Green Solvents in Separation Processes Elsevier Inc. 2017 P 111-137 DOI: 10.1016/B978-0-12-805297-6.00005-X

3. Ballesteros-Gomez A, Sicilia MD, Rubio S. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review // Anal. Chim. Acta., 2010. 677: 108–130. DOI: 10.1016/j.aca.2010.07.027.

4. Ping Wang, J. L. H. Z. Simultaneous determination of seven sulfonamides and metronidazole and chloramphenicol in cosmetics by high performance liquid chromatography //Chinese Journal of Chromatography. 2007. N 25(5). P. 743-6

5. Nagaraja, P., Naik, S.D., Shrestha, A.K., & Shivakumar, A. A sensitive spectrophotometric method for the determination of sulfonamides in pharmaceutical preparations / P. Nagaraja [et al.] // Acta Pharmaceutica. 2007. Vol. 57(3). P 333–342. DOI: 10.2478/v10007-007-0026-4

SUMMARY

CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF SULFONAMIDES IN BIOLOGICAL FLUIDS USING SUPRAMOLECULAR SYSTEMS BASED ON PRIMARY AMINES

Kovalchuk Y.A., 2th year student

Academic advice: **Vakh K.S.**, candidate of chemical sciences

St. Petersburg State University

7/9, Universitetskaya Emb., St. Petersburg, 199034, Russian Federation

E-mail: anyakovalchuk653@gmail.com

A new extramolecular system has been developed that determines the separation and concentration of sulfanilamide drugs, in particular sulfapyridine, sulfadimesine and sulfamethoxazole, from biological fluids for the determination of analytes by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection (HPLC-UV).

Keywords: *supramolecular solvents, microextraction, biological fluids, sulfanilamide drugs, primary amines, alkylpolyglycosides.*

REFERENCES

1. Fernández, E., & Vidal, L. Liquid-Phase Extraction and Microextraction // Ionic Liquids in Separation Technology Elsevier Ltd. 2014. P 107–152. DOI: 10.1016/B978-0-444-63257-9.00003-1

2. Caballo, C., Sicilia, M.D., & Rubio, S. Supramolecular Solvents for Green Chemistry // In The Application of Green Solvents in Separation Processes Elsevier Inc. 2017 P 111-137 DOI: 10.1016/B978-0-12-805297-6.00005-X

3. Ballesteros-Gomez A, Sicilia MD, Rubio S. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review // Anal. Chim. Acta., 2010. 677: 108–130. DOI: 10.1016/j.aca.2010.07.027.

4. Ping Wang, J. L. H. Z. Simultaneous determination of seven sulfonamides and metronidazole and chloramphenicol in cosmetics by high performance liquid chromatography //Chinese Journal of Chromatography. 2007. N 25(5). P. 743-6

5. Nagaraja, P., Naik, S.D., Shrestha, A.K., & Shivakumar, A. A sensitive spectrophotometric method for the determination of sulfonamides in pharmaceutical preparations / P. Nagaraja [et al.] // Acta Pharmaceutica. 2007. Vol. 57(3). P 333–342. DOI: 10.2478/v10007-007-0026-4

УДК 54:547.7

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ 3-(4-ОКСО-4*Н*-ХРОМЕН-3-ИЛ)АКРИЛОНИТРИЛОВ С 1,2-БИНУКЛЕОФИЛЬНЫМИ РЕАГЕНТАМИ

Кошульникова Н.Е., студ. 4 курса, **Кустин Р.П.**, асп. 2 года обучения
Руководитель: **Чернов Н.М.**, канд. хим. наук., ст. науч. сотрудник
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: nataliya.koshulnikova@spcpu.ru

Разработана методика взаимодействия 3-(4-оксо-4Н-хромен-3-ил)акрилонитрилов с такими 1,2-бинуклеофильными реагентами, как гидразин и гидроксиламин. В процессе работы были синтезированы соответствующие 3-[5-(2-гидроксифенил)-1Н-пиразол-4-ил]-акрилонитрилы и 3-[5-(2-гидроксифенил)-1,2-оксазол-4-ил]акрилонитрилы.

***Ключевые слова**: хромон, пиразол, изоксазол, гидразин, гидроксиламин.*

Электронодефицитные 3-винилхромоны – полифункциональные соединения, способные выступать в качестве удобных субстратов при получении различных гетероциклических структур. В частности, 3-винилхромоны со сложноэфирной группой в составе винильного фрагмента продемонстрировали свою реакционную способность при синтезе таких структур, как хроменопиримидины [1], хроменопиридины и пиранохромены [2]. В этих работах были изучены реакции 3-винилхромонов с различными реагентами, в т.ч. бинуклеофильными. Однако взаимодействие 3-винилхромонов с 1,2-бинуклеофильными реагентами в литературе не представлено. Таким образом, целью настоящего исследования стало изучение свойств 3-(4-оксо-4*Н*-хромен-3-ил)акрилонитрилов **1 a-e**, в частности их взаимодействие с 1,2-бинуклеофильными реагентами.

В качестве 1,2-бинуклеофильных реагентов были использованы гидразин и гидроксиламин. Реакцию с ними вели в этаноле при комнатной температуре. Было установлено, что действие 1,2-бинуклеофила на субстрат приводит к рециклизации хромонового цикла и образованию нового пиразольного или оксазольного циклов. Таким образом были получены соединения **2 a-e** и **3 c-e** с выходами 57-97%. Строение веществ доказывали с использованием спектров ЯМР ^{1}H и ^{13}C.

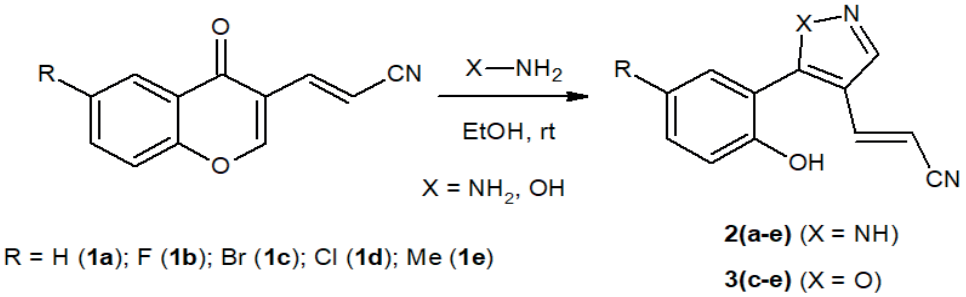


Рисунок. Взаимодействие 3-(4-оксо-4*Н*-хромен-3-ил)акрилонитрилов с 1,2-бинуклеофильными реагентами

В среднем реакция проходила за 1-2 часа. Контроль хода реакции осуществлялся методом ТСХ на пластинах Silufol-UV-254, детектирование в УФ-свете. Зависимость времени реакции от природы заместителя не обнаружена. Однако производные с электродонорными заместителями **2e** были получены с меньшим выходом, чем с электроакцепторными **2 b-d**.

Таким образом, в ходе работы была разработана простая в воспроизведении методика взаимодействия 3-(4-оксо-4*Н*-хромен-3-ил)акрилонитрилов с 1,2-бинуклеофильными реагентами (гидразин, гидроксиламин) и получены соответствующие 1,2-азолы.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.00.00 Химия
31.21.27 Гетероциклические соединения

ЛИТЕРАТУРА

1. Convenient Synthesis of Fluorescent Chromeno[4,3-d]pyrimidines from Electron-Deficient 3-Vinylchromones / N.M. Chernov [et al.] // Synthesis. 2020. Vol. 52 P. 40-50. DOI: 10.1055/s-0039-1690723.

2. A Flexible synthetic approach to fluorescent chromeno[4,3-b]pyridines and pyrano[3,2-c]chromenes from electron-deficient 3-vinylchromones / N.M. Chernov, [et al.]// ChemPlusChem. 2021. Vol. 86. P. 1256-1266. DOI: 10.1002/cplu.202100296.

SUMMARY

REACTIONS OF 3-(4-OXO-4*H*-CHROMEN-3-YL)ACRYLINENITRILE WITH 1,2-BINUCLEOPHYLIC COMPOUNDS

Koshulnikova N.E., 4th year student**, Kustin R.P**., 2nd year PhD student
Academic advise: **Chernov N.M.**, Candidate of chemical science, Senior Scientific Researcher
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov, St. Petersburg, 197376, Russian Federation

A procedure has been developed for the interaction of 3-(4-oxo-4H-chromen-3-yl)acrylonitriles with 1,2-binucleophilic reagents such as hydrazine and hydroxylamine. During the work, the corresponding 3-[5-(2-hydroxyphenyl)-1H-pyrazol-4-yl]-acrylonitriles and 3-[5-(2-hydroxyphenyl)-1,2-oxazol-4-yl]acrylonitriles were synthesized.

Keywords: *chromone, pyrazole, izoxazole.*

REFERENCES

1. Convenient Synthesis of Fluorescent Chromeno[4,3-d]pyrimidines from Electron-Deficient 3-Vinylchromones / N.M. Chernov [et al.] // Synthesis. 2020. Vol. 52 P. 40-50. DOI: 10.1055/s-0039-1690723.
2. A Flexible synthetic approach to fluorescent chromeno[4,3-b]pyridines and pyrano[3,2-c]chromenes from electron-deficient 3-vinylchromones / N.M. Chernov, [et al.]// ChemPlusChem. 2021. Vol. 86. P. 1256-1266. DOI: 10.1002/cplu.202100296.

УДК 546.05

ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОАЦИЛОКСИГЕРМАТРАНОВ, ПУТЕМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АМИНОКАРБОНАТОВ ГЕРМАНИЯ С ТРИЭТАНОЛАМИНОМ

Кунина В.С., студ. 4 курса обучения, **Лёзов Д.В.**, асп. 3 курса обучения
Научный руководитель: **Кочина Т.А.**, докт. хим. наук, проф.
Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),
190013, Московский проспект, д. 24-26/49 лит. А, Санкт-Петербург, Российская Федерация
Институт химии силикатов им. И.В.Гребенщикова РАН, Санкт-Петербург,
199034, Санкт-Петербург, наб. Адм. Макарова, д. 2, Российская Федерация
E-mail: varenka.kunina@yandex.ru

Нами было изучено взаимодействие D,L-триптофоната, L-лейцината, L-серината, D,L-метионата и L-цистеината германия с триэтаноламином ($N(C_2H_4OH)_3$) в водной среде при нагревании (90°C) в молярном соотношении 1:1. В результате были получены новые ранее не изученные соединения ряда аминоацилоксигерматранов. Состав и структуру определяли элементным анализом, ЯМР (^{13}C, ^{1}H) и ИК-спектроскопией. Структура синтезированных соединений в данный момент исследуется методом рентгеноструктурного анализа.

Ключевые слова: *аминоацилоксигерматраны, биологическая активность, GeO_2, триэтаноламин, водная среда, гипервалентное состояние, трансаннулярная связь.*

В настоящее время для химической науки особый интерес для изучения представляют органические соединения германия с расширенной координационной сферой, обладающие высокой биологической активностью и нашедшие применение в области медицины. [1]. К биологическим свойствам таких соединений относится способность обеспечивать перенос кислорода в тканях организма, повышать его иммунный статус, проявлять противоопухолевую активность [2]. Уже известен широкий ряд внутрикомплексных трициклических соединений германия с общей формулой $RGe(OCH_2CH_2)_3N$, носящих название герматраны. Наиболее изученный представитель, 1-герматранол-гидрат, впервые синтезированный академиком М.Г. Воронковым, обладает высокой биологической активностью (противоопухолевая, антиоксидантная, адаптогенная, противогипоксическая, нейротропная, актопротекторное действие, стимулирует биосинтез иммуноглобулинов, стимулирует восстановительные процессы в организме вследствие усиления митохондриального (тканевого) дыхания в клетках организма) [2].

Характер биологической активности напрямую зависит от природы заместителя при атоме германия, в связи с чем существует необходимость в поиске наиболее эффективных заместителей. При работе в этом направлении запатентованы аддукты герматранов с карбоновыми и аминокислотами, проявляющие высокую физиологическую активность [3].

Цель настоящего исследования состоит в получении и изучении свойств новых ранее неизученных аминоацилоксигерматранов путем взаимодействия D,L-триптофоната, L-лейцината, L-серината, D,L-метионата и L-цистеината германия с триэтаноламином. Синтез продуктов велся в два этапа. На первом – получение комплексов оксида германия с аминокислотами (аминокарбонатов германия) по запатентованной методике [3]. На втором – взаимодей-

ствие синтезированных комплексов с триэтаноламином в водной среде при температуре 80-90ºС в соотношении комплекс:триэтаноламин – 1:1 в обоих случаях. Целевые продукты были выделены в виде порошков с выходами 79%, 93%, 95%, 86% и 83% соответственно.

Материалы и методы

Продукты взаимодействия изучали методами ЯМР-спектроскопии, ИК-Фурье спектроскопии и элементного анализа. Данные физико-химические методы анализа были проведены с помощью ЯМР-спектрометра Bruker Avance III в D_2O, ИК-Фурье спектрометра ФСМ 2202 с использованием прессованных гранул KBr и анализатора элементного состава Euro EA3028-HT для одновременного определения C, H и N путем сжигания образца в токе кислорода.

Результаты и обсуждение

Продукты взаимодействия комплексов оксида германия (II) и аминокислот (герматранил D,L-триптофаната, L-лейцината, L-серината, D,L-метионата, L-цистеината) с триэтаноламином синтезированы и охарактеризованы с помощью ЯМР, ИК-Фурье спектроскопии и элементного анализа. Ниже представлена схема синтеза соответствующих аминоацилоксигерматранов (рис. 1).

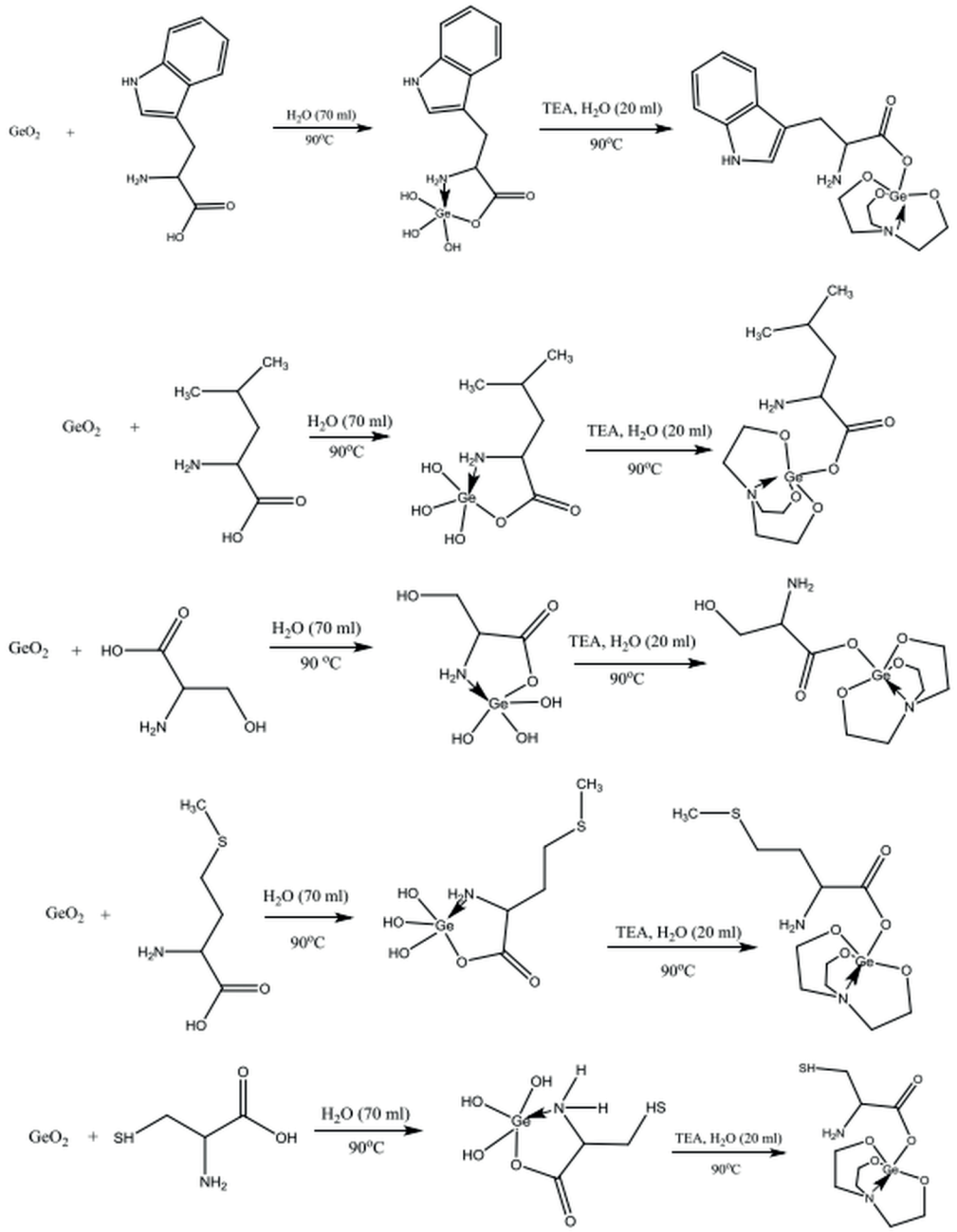


Рисунок 1. Получение D,L-триптофаната, L-лейцината, L-серината, D,L-метионата и L-цистеината германия и их взаиомдействие с триэтаноламином

В результате проведения ИК-спектроскопии были обнаружены полосы 520-550 см$^{-1}$, 594 см$^{-1}$, 1273 см$^{-1}$, характеризующие связи атранового цикла, что доказывает получение соединений предполагаемой структуры (табл. 1).

Таблица 1 – Данные ИК-спектроскопии соединений 1-5

Соединение	Волновое число, $см^{-1}$	Отнесение
1	505.4	ν Ge-O(C=O)
	529	
	547.6	ν_{as} GeO_3
	595	δ GeOC
	637	ν_{as} GeO_3
	679	
	1273	ν CO (Ge)
2	536.4	ν_{as} GeO_3
	636.5	ν_{as} GeO_3
	675	
	1273.4	ν CO (Ge)
3	524.7	ν_{s} GeO_3
	594	δ GeOC
	636.4	ν_{as} GeO_3, δ COH (спирт.)
	678.9	
	1273	ν CO (Ge), δ COH (спирт.)
4	490	ν Ge-O(C=O)
	551.6	ν_{s} GeO_3
	594	δ GeOC
	636.5	ν_{as} GeO_3
	682.7	
	717.5	
	1275.6	ν CO (Ge)
5	536.1	ν_{as} GeO_3
	635.7	ν_{as} GeO_3
	680,2	
	1273.9	ν CO (Ge)

По результатам прогноза биологической активности (табл. 2) можно предположить, что полученные соединения способны обеспечивать перенос кислорода в тканях организма, вносить терапевтический эффект при депрессии и фобических расстройствах, предотвращать развитие сердечно-сосудистых заболеваний, проявлять противоопухолевую активность и бороться с последствиями лечения онкологии, защищать организм от излучений, а также помогать в выводе токсинов из организма.

Таблица 2 – Результаты прогноза биологической активности, рассчитанное с помощью программы «Pass»

Аминоацилоксигерматраны	Прогноз биологического действия
1	Антигипоксическое действие (0,811) Агонист 5 Гидрокситриптамина 2В (0,542) НАДФН-ингибитор цитохром-с2-редуктазы (0,485)
2	Лечение фобических расстройств (0,906) Антигипоксическое действие (0,826) Ингибитор фактора свертывания крови Limulus C (0,724)
3	Ингибитор пероксидазы НАДФН (0,892) Агонист целостности мембраны (0,813) Ингибитор адгезии тромбоцитов (0,578)
4	Лечение мукозита (0,850) Липотропный препарат (0,723) Радиопротектор (0,59)
5	Ингибитор пероксидазы НАДФН (0,953) Агонист фактора роста фибробластов (0,791) Антитоксический (0,658)

Заключение

Полученные аминоацилокисгерматраны, являются потенциальными биологически активными веществами, которые могут проявлять быть использованы в различных областях медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ле Н.Т.З. Ge-карбоксилирование 1-герматранола: дис… кан. хим. наук. Иркутск, 2014. 25 с.
2. Герматранол-гидрат, стимулирующий экспрессию матричной РНК триптофанил-тРНК-синтетазы : пат. 2553986 Рос. Федерация. № 2014111732/04 / М.М. Расулов [и др.]. Заявл. 26.03.14. Опубл. 20.06.15. Бюл. N 17. 11 с.
3. Пат. 2476436 Российская Федерация, МПК C07F 7/30 A61K 31/28. Комплексные соединения германия с аминокислотами и карбоновыми кислотами / А.Д. Исаев [и др.] ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «ВДС ФАРМА». N : 2012102525/04. Заявл. 25.01.2012. Опубл. 27.02.2013.

Авторы выражают благодарность ресурсному центру СПБГУ «Методы анализа состава вещества» и инжиниринговому центру СПБГТИ.

SUMMARY

GERMANIUM COMPLEX COMPOUNDS WITH AMINOACIDS AND THEIR INTERACTION WITH TRIETHANOLAMINE

Kunina V.S., student. 4 courses of study, **Lezov D.V.**, asp. 3 courses of study
Head: **Kochina T.A.**, Dr. chem. sciences, prof.
St. Petersburg State Technological Institute (Technical University),
190013, Moscow prospect, 24-26/49 lit. A, Saint Petersburg, Russian Federation
I.V. Grebenshchikov Institute of Silicate Chemistry of the Russian Academy of Sciences
St. Petersburg, 199034, St. Petersburg, nab. Adm. Makarova, 2, Russian Federation
E-mail: varenka.kunina@yandex.ru

We studied the interaction of D,L-tryptophonate, L-leucinate, L-serinate, D,L-methionate and L-germanium cysteinate with triethanolamine ($N(C_2H_4OH)_3$) in an aqueous medium when heated (90°C) in a molar ratio of 1:1. As a result, new previously unexplored compounds of a number of aminoacyloxygermatrans were obtained. The composition and structure were determined by elemental analysis, NMR (^{13}C, ^{1}H) and IR spectroscopy. The structure of the synthesized compounds is currently being investigated by X-ray diffraction analysis.

Keywords: *aminoacyloxyhermatrans, biological activity, GeO_2, triethanolamine, aqueous medium, hypervalent state, transannular bond.*

REFERENCES

1. LE Nyat Thun Zang Ge-carboxylation of 1-germatranol: dis. for the degree of Candidate of Chemical Sciences. Irkutsk, 2014. 25 p.
2. Germatranol hydrate stimulating the expression of matrix RNA tryptophanyl-tRNA synthetase : pat. 2553986 Ros. Federation. No. 2014111732/04 / M.M. Rasulov [et al.]. Application 26.03.14. Publ. 20.06.15. Bul. N 17.11 P.
3. Pat. 2476436 Russian Federation, IPC C07F 7/30 A61K 31/28. Complex compounds of germanium with amino acids and carboxylic acids/ A.D. Isaev [et al.]; applicant and patent holder Limited Liability Company «VDS PHARMA». N : 2012102525/04. Application 25.01.2012. Publ. 27.02.2013.

The authors express their gratitude to the St. Petersburg State University Resource Center "Methods of Substance Composition Analysis" and the engineering center of St. Petersburg State Technical University.

УДК 547.874

ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ К СИНТЕЗУ 1,3,5-ТРИАЗИНОВЫХ СИСТЕМ

Левшукова П.О., аспирант 1 года обучения (ORCID: 0000-0001-6229-0339),
Колесник Д.А. (ORCID: 0000-0002-5527-6595)
Научные руководители: **Куваева Е.В.,** канд. фарм. наук, доцент кафедры органической химии (ORCID: 0000-0002-1894-884X); **Яковлев И.П.,** д-р хим. наук, заведующий кафедрой органической химии (ORCID: 0000-0003-1251-8782)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: levshukova.polina@pharminnotech.com

Целью работы является обзор литературных данных о подходах к синтезу новых 1,3,5-триазиновых соединений, которые обладают противомикробной активностью. В качестве источников информации использовали Интернет-ресурсы (Google Scholar, PubMed, SciFinder) и библиотечные базы данных (e-Library, Scopus, Web of Science). На основании

рассмотренных методов синтеза противомикробных препаратов, в основе которых лежит 1,3,5-триазиновый цикл, можно сделать вывод, что в большинстве способов получения в качестве исходного реагента используется 2,4,6-трихлор-1,3,5-триазин. Наименее изучены реакции рециклизации, как способ получения производных 1,3,5-триазина.

Ключевые слова: *1,3,5-триазин, противомикробная активность, азотсодержащие компоненты, цианурилхлорид, нуклеофильное замещение, рециклизация.*

Введение. Применение антибиотиков, зачастую, необоснованное и незавершенными курсами лечения, приводит к развитию резистентности микроорганизмов к известным противомикробным препаратам, что на сегодняшний день является одной из наиболее серьезных угроз для здоровья человека. Следовательно, получение новых антимикробных соединений, которые могут быть впоследствии рассмотрены в качестве субстанций для создания новых эффективных препаратов, является важным направлением фармации и медицины.

В то же время, среди производных 1,3,5-триазина известны соединения, которые имеют широкий диапазон биологической активности [1, 2], в том числе, они проявляют выраженную противомикробную активность.

Таким образом, целью работы является обзор литературных данных о подходах к синтезу новых 1,3,5-триазиновых соединений, которые обладают противомикробной активностью.

Материалы и методы

В качестве источников информации использовали Интернет-ресурсы (Google Scholar, PubMed, SciFinder) и библиотечные базы данных (e-Library, Scopus, Web of Science).

Результаты и обсуждения

Наибольшее практическое значение имеют реакции нуклеофильного замещения галогена в 1,3,5-триазинах. Реакционная способность хлорзамещенных 1,3,5-триазинов позволяет последовательно заменить атом хлора, при этом по мере замещения галогена нуклеофилами замещение проходит во все более жестких условиях [3].

За последнее десятилетие на основе 1,3,5-триазина были получены производные с доказанной антимикробной активностью, которые могут быть впоследствии рассмотрены в качестве субстанций для создания новых эффективных препаратов [4-11].

Патель и др. [12] синтезировали производные 1,3,5-триазина и исследовали их противомикробную и противогрибковую активность. Целевые соединения были получены из цианурилхлорида (2,4,6-трихлор-1,3,5-триазин) и разных нуклеофилов (рисунок 1, схема а). В ходе реакции нуклеофилы избирательно вытесняли атомы галогена при определенных значениях температуры. Исследования противомикробной активности in vitro показали, что структуры, которые имели в свое строении электроноакцепторные заместители в 3 положении арильного заместителя, проявляли выраженную противомикробную активность против 6 видов бактерий (*S. aureus*, *Bacillus cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi* и *S.flexneria*).

Сингх и др.[13] описали реакцию 4,6-замещенного фенил-6Н-1,3-тиазина-2-амина с хлорзамещенным 1,3,5-триазином (рисунок 1 схема б), в результате которой были получены соединения, исследованные на предмет антибактериальной активности на штаммах *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli* и *S. aureus*.

Патель и др. [14] сообщили о синтезе соединений, полученных в результате взаимодействия тиазолидин-4-она и 2,4,6-трихлор-1,3,5-триазина с использованием реакции Suzuki (рисунок 1, схема в). Продукты реакции исследовали *in vitro* в отношении *M. tuberculosis H37Rv*. Скрининг показал, что все синтезированные соединения проявляли умеренную антитуберкулезную активность.

Десаи и др.[15] синтезировали 4-(4-(арил)амино)-6-(пиперидин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-иламино)-N-(пиримидин-2-ил) бензолсульфонамиды в три стадии. Последовательность реакций, используемая для получения целевых соединений показана на рисунке 2, схеме 1. На первой стадии нуклеофильного замещения цианурилхлорида 4-амино-N-(пиримидин-2-ил) бензолсульфонамид в ацетоне при температуре 0-5 ºС в присутствии 4 % NaOH получали 4-(4,6-дихлор-1,3,5-триазин-2-иламино)-N-(пиримидин-2ил)бензолсульфонамид. Затем его подвергали реакции с пиперидином при комнатной температуре с получением 4-(4-хлор-6-(пиперидин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-иламино)-N-(пиримидин-2-ил)-бензолсульфонамида. Наконец, конечные соединения получали дальнейшей обработкой реакционной массы различными ароматическими аминами в 1,4-диоксане при температуре кипения с обратным холодильником. Также авторы опубликовали данные, что полученные производные в ходе исследования *in vitro* показали выраженную активность против *P. aeruginosa*.

Бхат и др. [16] получили новые производные 1,3,5-триазина-4-аминохинолина, синтез которых осуществлялся в 4 стадии. Первоначально синтез 7-хлор-4-гидразинилхинолина был получен реакцией 4,7-дихлорхинолина с гидразин гидратом в присутствии этанола. Вторая стадия соответствует синтезу дизамещенных 1,3,5-триазинов путем нуклеофильного замещения атома хлора 2,4,6-трихлор-1,3,5-триазина различными алифатическими (диэтиламин, диметиламин) и ароматическими (п-нитроанилин, п-фторанилин) аминами в присутствии $NaHCO_3$. Далее атом галогена замещали роданидом калия в присутствии олова как катализатора. Конечные соединения получали взаимодействием 7-хлор-4-гидразинилхинолина с тризамещенным 1,3,5-триазином в присутствии ацетона, как показано на рисунке 2, схеме 2. Продукты реакции проверили на антибактериальную и противогрибковую активность *in vitro* против *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *E. coli* и *P. aeruginosa*, а также *C. albicans*, *A. niger* и *A. fumigatus* с использованием цефиксима и флуконазола в качестве препаратов сравнения. Эти соединения проявляли слабую или умеренную ингибирующую активность в отношении тестируемого микроорганизма.

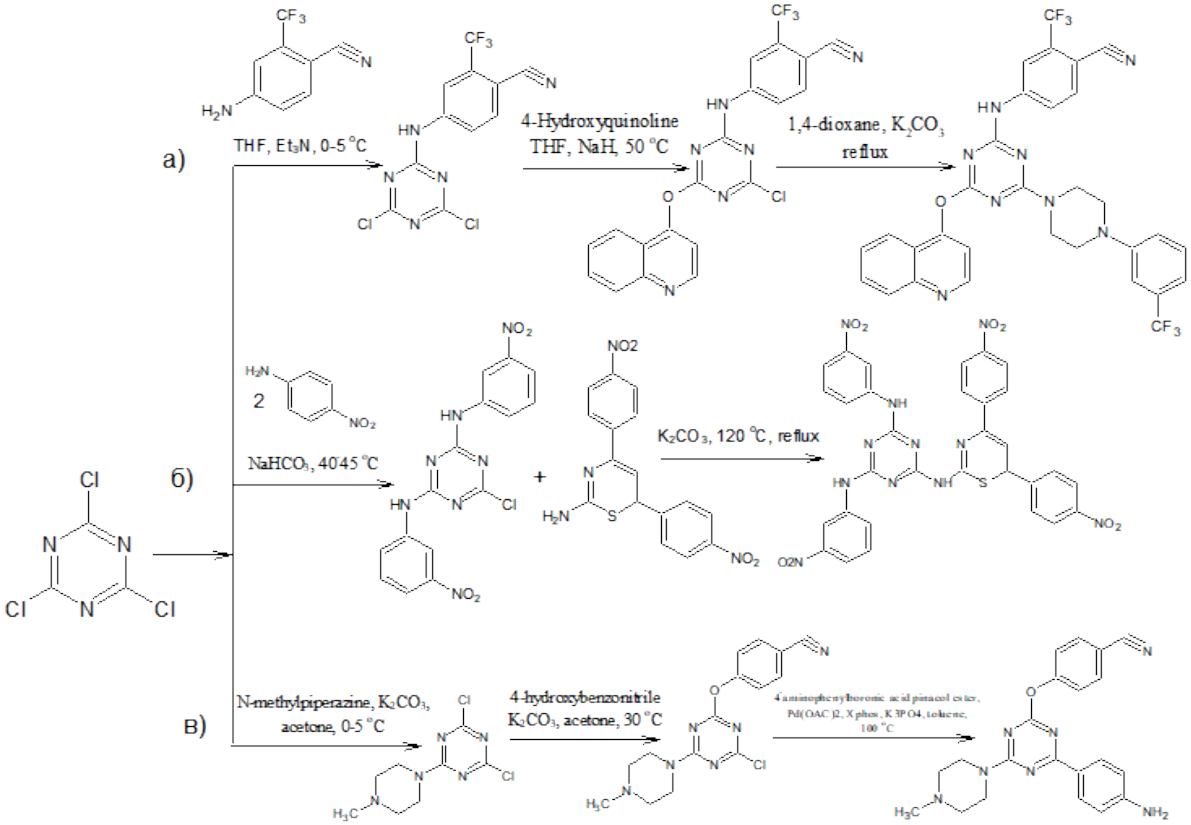


Рисунок 1. Схемы синтеза новых производных 1,3,5-триазина

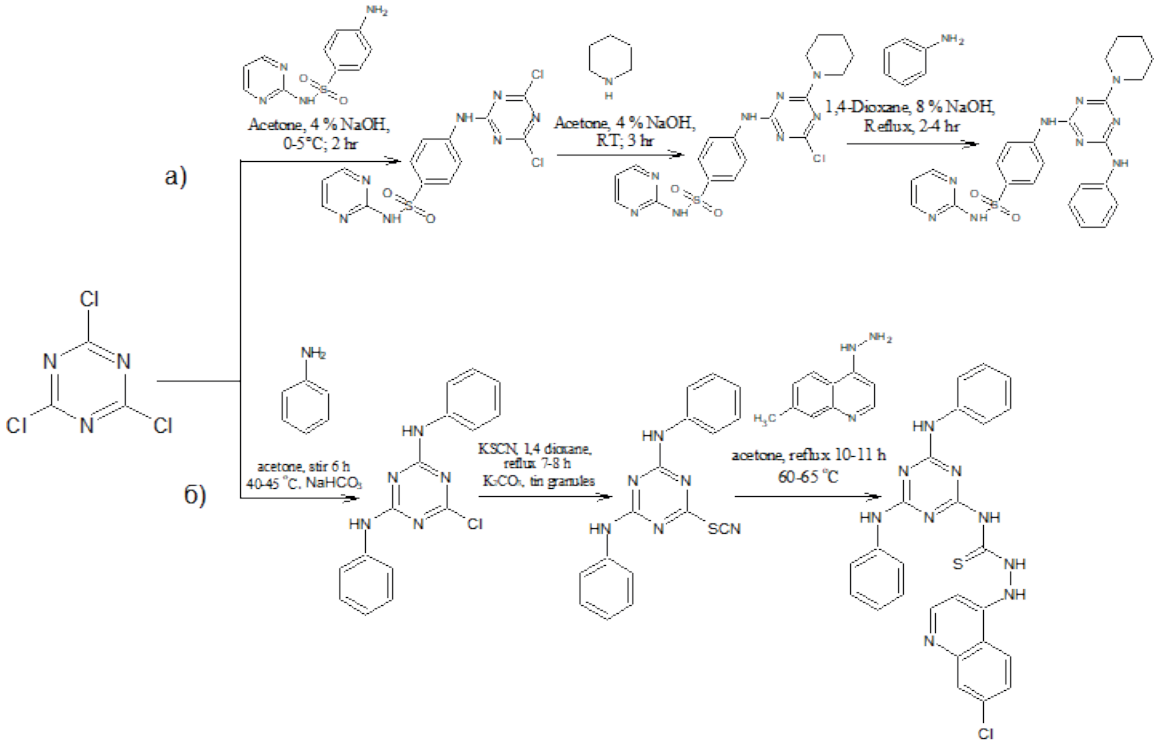


Рисунок 2. Схемы синтеза новых производных 1,3,5-триазина

Колесник Д.А., Куваева Е.В. и др. в 2022 году предложили новый способ синтеза несимметрично замещенного производного 1,3,5-триазина, для которого была доказана умеренная антистафилококковая активность [17]. Синтез целевого соединения проводили реакцией 2,5-замещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с S-метилизотиомочевины гемисульфатом в присутствии эквимолярного количества метилата натрия в среде кипящего метанола в течение 4 ч с последующей отгонкой растворителя и обработкой твердого остатка 15% раствором гидрокарбоната натрия (рис. 3).

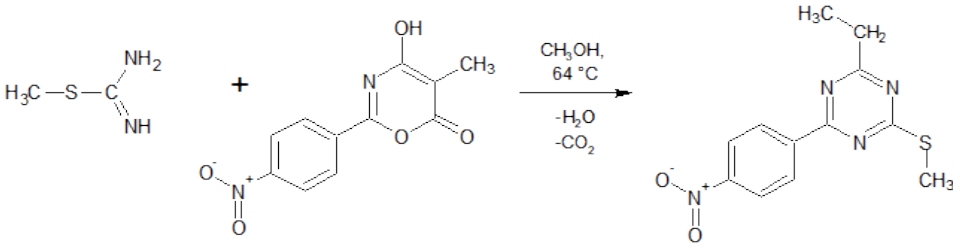


Рисунок 3. Синтез 2-(метилтио)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазина

Заключение

На основании рассмотренных методов синтеза противомикробных препаратов, в основе которых лежит 1,3,5-триазиновый цикл, можно сделать вывод, что в большинстве способов получения в качестве исходного реагента используется 2,4,6-трихлор-1,3,5-триазин. Наименее изучены реакции рециклизации, как способ получения производных 1,3,5-триазина.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.00.00 Химия

31.21.27 Гетероциклические соединения

ЛИТЕРАТУРА

1. Synthesis, characterization and pharmacological activities of 2-[4-cyano-(3-trifluoromethyl)phenyl amino)]-4-(4-quinoline/coumarin-4-yloxy)-6-(fluoropiperazinyl)-s-triazines / R.V. Patel [et al.] // Journal of Fluorine Chemistry. 2011. Vol 132. P. 617-627.

2. Shah D.R., Modh R.P., Chikhalia K.H. Privileged s-triazines: structure and pharmacological applications // Future Med. Chem. 2014. Vol 6. N 4. P. 463-477. DOI: 10.4155/fmc.13.212

3. Photochemical Reaction of Halo-1,3,5-triazines: Photo-triazinylation / H. Yamada [et al.] // Bulletin of the Chemical Society of Japan. 1974. Vol 47. N 1. P. 238-239. DOI: 10.1246/bcsj.47.238

4. Design, synthesis, antimicrobial activity and anti-HIV activity evaluation of novel hybrid quinazoline–triazine derivatives / R.P. Modh [et al.] // Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2014. Vol 29. N 1. P. 100-108. DOI: 10.3109/14756366.2012.755622

5. Development of 4-aminoquinoline-1,3,5-triazine conjugates as potent antibacterial agent through facile synthetic route / H.R. Bhat [et al.] // Medicinal Chemistry Research. 2013. Vol 22. N 10. P. 5056 – 5065. DOI: 10.1007/s00044-013-0521-8

6. Synthesis, characterization and antimalarial activity of hybrid 4-aminoquinoline-1,3,5-triazine derivatives / U.P. Singh [et al.] // Arabian Journal of Chemistry. 2016. Vol 9. N 10. P. 625-631. DOI: 10.1016/j.arabjc.2011.07.001

7. Synthesis and biological evaluation of novel s-triazine based aryl/heteroaryl entities: Design, rationale and comparative study / N.S. Mewada [et al.] // J. Assoc. Arab Univ. Basic Appl. Sci. 2016. Vol 20. P. 8-18. DOI: 10.1016/j.jaubas.2014.08.003

8. Design. Facile Synthesis, and Antibacterial Activity of Hybrid 1,3,4-thiadiazole-1,3,5-triazine Derivatives Tethered via -S-Bridge: Antibacterial Activity of 1,3,5-triazines / V. Dubey [et al.] // Chem. Biol. Drug Des. 2012. Vol 80. N 4. P. 598-604. DOI: 10.1111/j.1747-0285.2012.01433.x

9. Structure-guided discovery of 1,3,5-triazine-pyrazole conjugates as antibacterial and antibiofilm agent against pathogens causing human diseases with favorable metabolic fate / B. Singh [et al.]// Bioorg. Med. Chem. Lett. 2014. Vol 24. N 15. P. 3321-3325. DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.05.103

10. Hybrid 4-Aminoquinoline-1,3,5-triazine Derivatives: Design, Synthesis, Characterization, and Antibacterial Evaluation / P. Pathak [et al.] // J. Heterocycl. Chem. 2015. Vol 52. N 4. P. 1108. DOI:10.1002/jhet.2210

11. Structure-activity relationships (SAR) of triazine derivatives: Promising antimicrobial agents / H. Liu [et al.] // Eur. J. Med. Chem. 2020. Vol 185. P. 111804. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111804

12. Synthesis of potential antimicrobial/antitubercular s-triazine scaffolds endowed with quinoline and quinazoline heterocycles / R.V. Patel [et al.] // Eur. J. Med. Chem. 2011. Vol 46. P. 4354.

13. Design, synthesis, antibacterial activity, and molecular docking studies of novel hybrid 1,3-thiazine-1,3,5-triazine derivatives as potential bacterial translation inhibitor / U.P. Singh [et al.] // Chem. Biol. Drug Des. 2012. Vol 80. N 4. P. 572-583. DOI: 10.1111/j.1747-0285.2012.01430.x

14. Patel A.B., Chikhalia K.H., Kumari P. Facile synthesis of benzonitrile/nicotinonitrile based s-triazines as new potential antimycobacterial agents // Eur. J. Med. Chem. 2014. Vol 79. P. 57-65. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.03.085

15. Desai N.C., Makwana A.H., Senta R.D. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some novel 4-(4-(arylamino)-6-(piperidin-1-yl)-1,3,5-triazine-2-ylamino)-N-(pyrimidin-2-yl)benzenesulfonamides // J. Saudi Chem. Soc. 2016. Vol 20. N 6. P. 686-694. DOI: 10.1016/j.jscs.2015.01.004

16. Design, synthesis, anticancer, antibacterial, and antifungal evaluation of 4-aminoquinoline-1,3,5-triazine derivatives / H. Bhat [et al.] // J. Heterocyclic Chem. 2019. Vol 57. N 1. P. 390-399. DOI: 10.1002/jhet.3791

17. Способ получения 2-(метилтио)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазина: патент 2765005 C1 Российская Федерация, C07D 251/22 (2006.01) N 2020139481. Раявл. 30.11.2020. Опубл. 24.01.2022. Бюл. N 3.

SUMMARY

GENERAL APPROACHES TO THE SYNTHESIS OF 1,3,5-TRIAZINE SYSTEMS

Levshukova P.O., post-graduate student of 1 year of study, **Kolesnik D.A.**
Supervisors: **Kuvaeva E.V.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor;
Yakovlev I.P., Doctor of Chemical Sciences, Head of the Department of Organic Chemistry
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: levshukova.polina@pharminnotech.com

The aim of the work is to review the literature data on approaches to the synthesis of new 1,3,5-triazine compounds that have antimicrobial activity. Internet resources (Google Scholar, PubMed, SciFinder) and library databases were used as sources of information (e-Library, Scopus, Web of Science). Based on the considered methods of synthesis of antimicrobials, which are based on the 1,3,5-triazine cycle, it can be concluded that in most methods of preparation, 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine is used as the initial reagent. The least studied reactions of recycling, as a method of obtaining derivatives of 1,3,5-triazine.

Keywords: *1,3,5-triazine, antimicrobial activity, nitrogen-containing components, cyanurchloride, nucleophilic substitution, recycling.*

REFERENCES

1. Synthesis, characterization and pharmacological activities of 2-[4-cyano-(3-trifluoromethyl)phenyl amino)]-4-(4-quinoline/coumarin-4-yloxy)-6-(fluoropiperazinyl)-s-triazines / R.V. Patel [et al.] // Journal of Fluorine Chemistry. 2011. Vol 132. P. 617-627.

2. Shah D.R., Modh R.P., Chikhalia K.H. Privileged s-triazines: structure and pharmacological applications // Future Med. Chem. 2014. Vol 6. N 4. P. 463-477. DOI: 10.4155/fmc.13.212

3. Photochemical Reaction of Halo-1,3,5-triazines: Photo-triazinylation / H. Yamada [et al.] // Bulletin of the Chemical Society of Japan. 1974. Vol 47. N 1. P. 238-239. DOI: 10.1246/bcsj.47.238

4. Design, synthesis, antimicrobial activity and anti-HIV activity evaluation of novel hybrid quinazoline–triazine derivatives / R.P. Modh [et al.] // Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2014. Vol 29. N 1. P. 100-108. DOI: 10.3109/14756366.2012.755622

5. Development of 4-aminoquinoline-1,3,5-triazine conjugates as potent antibacterial agent through facile synthetic route / H.R. Bhat [et al.] // Medicinal Chemistry Research. 2013. Vol 22. N 10. P. 5056 – 5065. DOI: 10.1007/s00044-013-0521-8

6. Synthesis, characterization and antimalarial activity of hybrid 4-aminoquinoline-1,3,5-triazine derivatives / U.P. Singh [et al.] // Arabian Journal of Chemistry. 2016. Vol 9. N 10. P. 625-631. DOI: 10.1016/j.arabjc.2011.07.001

7. Synthesis and biological evaluation of novel s-triazine based aryl/heteroaryl entities: Design, rationale and comparative study / N.S. Mewada [et al.] // J. Assoc. Arab Univ. Basic Appl. Sci. 2016. Vol 20. P. 8-18. DOI: 10.1016/j.jaubas.2014.08.003

8. Design. Facile Synthesis, and Antibacterial Activity of Hybrid 1,3,4-thiadiazole-1,3,5-triazine Derivatives Tethered via -S-Bridge: Antibacterial Activity of 1,3,5-triazines / V. Dubey [et al.] // Chem. Biol. Drug Des. 2012. Vol 80. N 4. P. 598-604. DOI: 10.1111/j.1747-0285.2012.01433.x

9. Structure-guided discovery of 1,3,5-triazine-pyrazole conjugates as antibacterial and antibiofilm agent against pathogens causing human diseases with favorable metabolic fate / B. Singh [et al.]// Bioorg. Med. Chem. Lett. 2014. Vol 24. N 15. P. 3321-3325. DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.05.103

10. Hybrid 4-Aminoquinoline-1,3,5-triazine Derivatives: Design, Synthesis, Characterization, and Antibacterial Evaluation / P. Pathak [et al.] // J. Heterocycl. Chem. 2015. Vol 52. N 4. P. 1108. DOI:10.1002/jhet.2210

11. Structure-activity relationships (SAR) of triazine derivatives: Promising antimicrobial agents / H. Liu [et al.] // Eur. J. Med. Chem. 2020. Vol 185. P. 111804. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111804

12. Synthesis of potential antimicrobial/antitubercular s-triazine scaffolds endowed with quinoline and quinazoline heterocycles / R.V. Patel [et al.] // Eur. J. Med. Chem. 2011. Vol 46. P. 4354.

13. Design, synthesis, antibacterial activity, and molecular docking studies of novel hybrid 1,3-thiazine-1,3,5-triazine derivatives as potential bacterial translation inhibitor / U.P. Singh [et al.] // Chem. Biol. Drug Des. 2012. Vol 80. N 4. P. 572-583. DOI: 10.1111/j.1747-0285.2012.01430.x

14. Patel A.B., Chikhalia K.H., Kumari P. Facile synthesis of benzonitrile/nicotinonitrile based s-triazines as new potential antimycobacterial agents // Eur. J. Med. Chem. 2014. Vol 79. P. 57-65. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.03.085

15. Desai N.C., Makwana A.H., Senta R.D. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some novel 4-(4-(arylamino)-6-(piperidin-1-yl)-1,3,5-triazine-2-ylamino)-N-(pyrimidin-2-yl)benzenesulfonamides // J. Saudi Chem. Soc. 2016. Vol 20. N 6. P. 686-694. DOI: 10.1016/j.jscs.2015.01.004

16. Design, synthesis, anticancer, antibacterial, and antifungal evaluation of 4-aminoquinoline-1,3,5-triazine derivatives / H. Bhat [et al.] // J. Heterocyclic Chem. 2019. Vol 57. N 1. P. 390-399. DOI: 10.1002/jhet.3791

17. Sposob polucheniya 2-(metiltio)-4-(4-nitrofenil)-6-etil-1,3,5-triazina: patent 2765005 S1 Rossijskaya Federaciya, C07D 251/22 (2006.01) N 2020139481. Zayavl. 30.11.2020. Opubl. 24.01.2022. Byul. N 3 (in Russian).

УДК 61:546.05

СИНТЕЗ И ПРОГНОЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АМИНОАЦИЛОКСИГЕРМАТРАНОВ

Лёзов Д.В., асп. 3 курса обучения
Руководитель: **Кочина Т.А.**, докт. хим. наук, проф.
Институт химии силикатов им. И.В. Гребенщикова РАН, Санкт-Петербург,
199034, Санкт-Петербург, наб. Адм. Макарова, д. 2, Российская Федерация
E-mail: lyo-denis@yandex.ru

Нами было изучено взаимодействие глицината, β-аланината и L-валината германия с гидроксиалкиламинами (бис(2-гидроксиэтил)-амино-трис(гидроксиметил)метаном, *N,N,N',N'*-тетракис(2-гидроксиэтил)этилендиамином (THEED)) в водной среде при нагревании (80 °C) при молярном соотношении 1:1. В результате был получен новый ранее не изученный ряд аминоацилоксигерматранов. Состав и структуру определяли элементным анализом, ЯМР (^{13}C, ^{1}H) и ИК-спектроскопией. Структура синтезированных соединений в данный момент исследуется методом рентгеноструктурного анализа. Биологическая активность была предсказана с помощью программы Pass.

Ключевые слова: *аминоацилоксигерматраны, биологическая активность, GeO_2, гидроксиалканоламины, водная среда, гиперваленное состояние, трансаннулярная связь.*

Германийсодержащие соединения находят широкое применение в различных областях науки и техники, например как полупроводники, катализаторы при получении полиэфиров и полиолефинов, для изготовления оптических волокон для средств телекоммуникации, линз и стекол для ИК-спектроскопии. В последнее время соединения германия из-за своей фармакологической активности нашли применение и в медицине. Среди биологических свойств соединений германия можно отметить способность обеспечивать перенос кислорода в тканях организма, повышать его иммунный статус, проявлять противоопухолевую активность [1]. Также большой интерес направлен в область специфических координаций германия с атомом азота – внутрикомплексные трициклические германиевые эфиры гидроксиалкиламинов [2]. Как показали исследования, такие соединения обладают специфической биологической активностью (противоопухолевая, антиоксидантная, адаптогенная, противогипоксическая, нейротропная, актопротекторное действие). Направленность и сила такой специфической биологической активности зависит от заместителя при атоме германия и длине донорно-акцепторной связи Ge-N. Запатентованы аддукты герматранов, в том числе 1-герматранола, с соединениями, содержащими карбоксильную группу, проявляющие высокую физиологическую активность. Данные соединения испытывали на биологическую активность к вирусам гриппа А и В, референс-штамм, рекомендованный экспертами ВОЗ для производства диагностических и вакцинных препаратов – А/Новая Каледония/20/99 (H1N1), чувствительный к ремантадину и арбидолу и показали хорошую противовирусную активность [3].

На сегодняшний день синтезированы и хорошо изучены, только внутрикомплексные трициклические германиевые эфиры гидроксиалкиламинов с карбоновыми кислотами. В связи с этим, цель настоящей работы заключалась в получении ранее неизученных аминоацилоксигермантранов, путем взаимодействия глицината, β-аланината и L-валината германия с гидроксиалкиламинами (бис(2-гидроксиэтил)-амино-трис(гидроксиметил)метаном, *N,N,N',N'*-тетракис(2-гидроксиэтил)этилендиамином (THEED)).

Материалы и методы

ИК-спектры регистрировали на ФСМ 2202 (ООО «Инфраспек») с использованием прессованных гранул KBr. Элементный анализ был получен на элементном анализаторе Euro EA3028-NT для одновременного определения C, H и N. ЯМР-спектры соединений регистрировали в D_2O на спектрометре Bruker Avance III [400,13 (^{1}H), 100,613 МГц (^{13}C)].

Результаты и обсуждение

В результате синтеза были получены новые ранее не изученные аминоацилоксигерматраны, строение и состав которых изучен методами ЯМР-спектроскопии на ядрах ^{13}C, ^{1}H, ИК-спектроскопии и элементным анализом. Ниже представлена схема синтеза соответствующих аминоацилоксигерматранов.

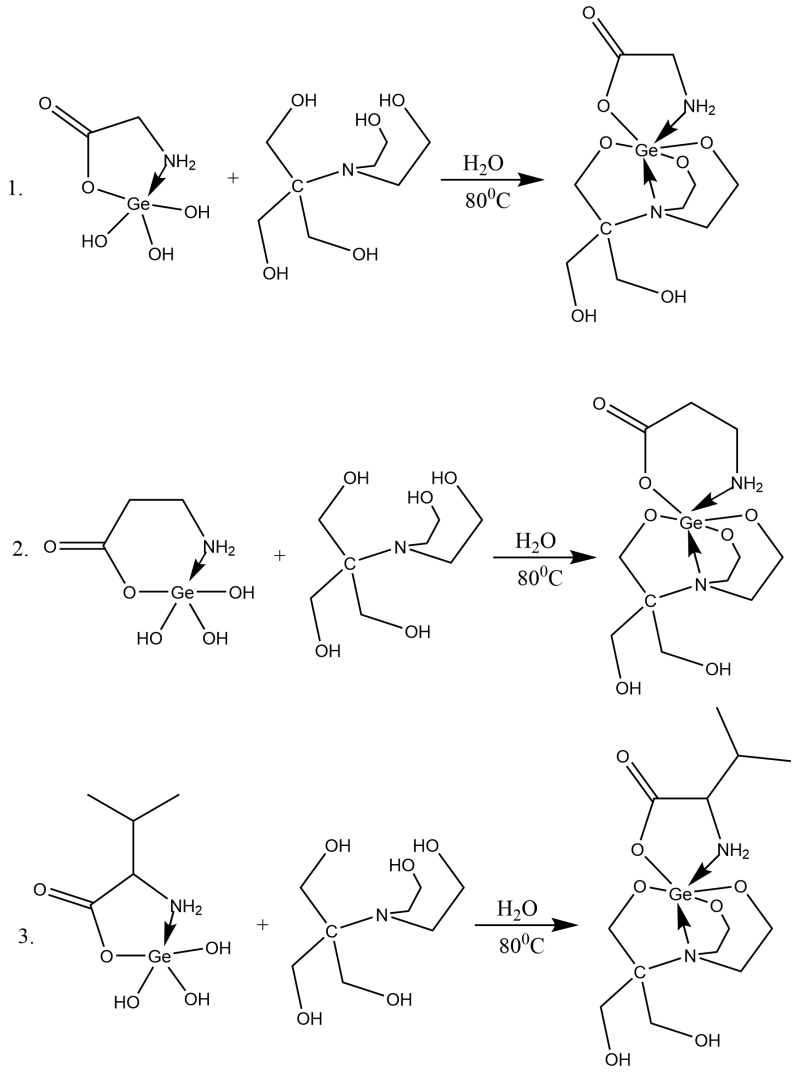


Рисунок 1. Взаимодействие глицината, β-аланината и L-валината германия с бис(2-гидроксиэтил)-амино-трис(гидроксиметил)метаном

Полученные аминоацилокисгерматраны, полностью охарактеризованы с помощью современных физико-химических методов анализа (таблица 1). Из таблицы 1 видно, что линии атранового остова расположены от 3.91 до 3.69 м.д. (от слабого к сильному полю соответственно). Такое расположение линий в спектре ЯМР и их характерная мультиплетность, полностью свидетельствует об образовании гипервалентного соединения.

Таблица 1 – Спектры ЯМР синтезированных соединений

№	δ_H, м.д. (J, Гц)	δ_C, м.д.
1	2.9 м. (2H, $-CH_2$), 3.45 м. (4H, $-NCH_2$); 3.69 м. (8H, $-OCH_2$)	41.37 ($-CH_2$), 48.29 ($-NCH_2$), 57.88 ($-OCH_2$), 59.00 ($-CH_2-CH_2$), 66.24 (-CN-), 172.34 (-C=O)
2	2.44 т. (2H, $-CH_2$, $^3J_{H-H}$ 6.7), 2.90 м. (2H, $-CH_2$), 3.06 т. (2H, $-CH_2$, $^3J_{H-H}$ 6,7), 3.42 м. (2H, $-CH_2$), 3.68 м. (10H, $-OCH_2$,$-NCH_2$)	33.48 ($-CH_2$), 36.48 ($-CH_2$), 48.28 ($-NCH_2$), 57.88 ($-OCH_2$), 58.96 ($-CH_2-CH_2$), 66.26 (-CN-), 178.31 (-C=O)
3	0.94 к. (6H, $-CH_3$, $^4J_{H-H}$ 20,8), 2.17 м. (1H, -CH), 2.91 м. (2H, $-NCH_2$), 3.43 м. (2H, $-CH_2$); 3.50 м. (1H, -CH); 3.68 м. (10H, $-OCH_2$)	16.57-17.89 ($-CH_3$), 29.02 (-CH), 48.27 ($-NCH_2$), 57.89 ($-OCH_2$), 58.93 ($-CH_2$), 60.31 (-CH), 66.27 (-CN-), 174.20 (-C=O)
1’	3.10 м. (12H, $-NCH_2$), 3.44 s. (2H, $-CH_2$), 3.86 м. (8H, $-OCH_2$)	41.38 ($-CH_2$), 52.00 ($-NCH_2$), 56.92 ($-OCH_2$), 60.59 (-C-C-), 172.40 (-C=O)
2’	2.41 т. (2H, $-CH_2$, $^3J_{H-H}$ 6.7), 3.03 м. (12H, $-OCH_2$), 3.84 м. (7H, $-NCH_2$)	33.48 ($-CH_2$), 36.45 ($-CH_2$), 51.97 ($-CH_2-CH_2-$), 60.57 (-C-C-), 178.28 (-C=O)
3’	0.92 к. (2H, $-CH_3$, $^4J_{H-H}$ 20.5), 2.16 м. (1H, -CH); 2.86 м. (1H, -CH), 3.07 м. (10H, $-NCH_2$), 3.67 м. (8H, $-OCH_2$)	16.57-17.91 ($-CH_3$), 29.05 (-CH), 52.00 ($-CH_2-CH_2-$), 60.58 (-C-C-), 174.29 (-C=O)

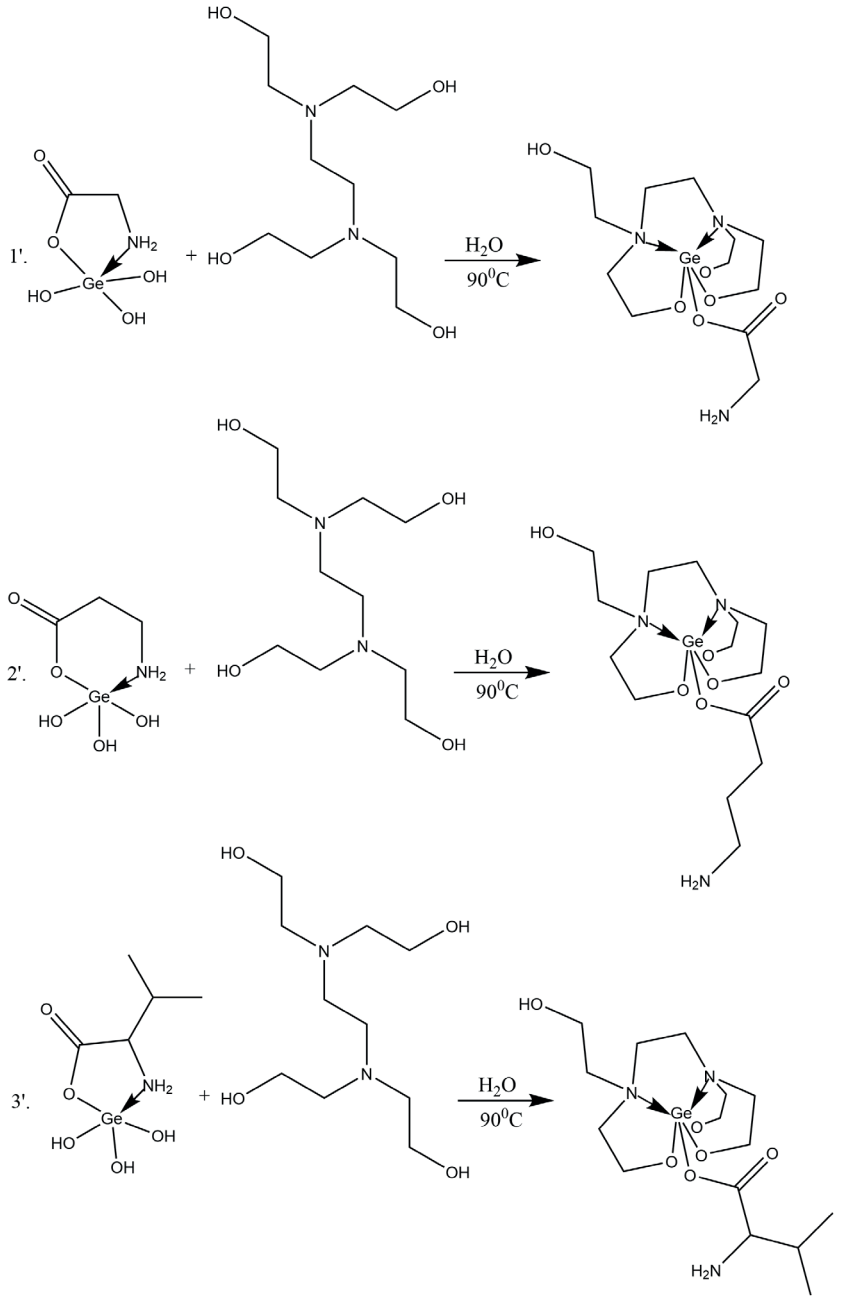


Рисунок 2. Взаимодействие глицината, β-аланината и L-валината германия с *N,N,N',N'*-тетракис(2-гидроксиэтил)этилендиамином (THEED)

Таблица 2 – Результаты прогноза биологической активности, рассчитанное с помощью программы «Pass»

№	Прогноз биологического действия
1	агонист апоптоза (0,943), антигипоксическое действие (0,822) ингибитор экзорибонуклеазы II (0,839)
2	ингибитор экзорибонуклеазы II (0,869), ингибитор фосфатидилглицерофосфатазы (0,667), ингибитор ацетилорнитиндеацетилазы (0,589)
3	антигипоксическое действие (0,746), ингибитор протеиназы вируса иммунодефицита обезьян (0,606), противовирусный (пикорнавирус) (0,533)
1’	лечение фобических расстройств (0,889), ингибитор глициндегидрогеназы (декарбоксилирующий) (0,740), ингибитор глиоксилатредуктазы (0,556)
2’	антигипоксическое действие (0,872), антинаупатическое действие (0,538), спазмолитическое, мочегонное действие (0,557)
3’	антагонист рецепторов анафилатоксина (0,732), ингибитор лактазы (0,524), противоопухолевое действие (неходжкинская лимфома) (0,401)

Заключение

Данные по прогнозу биологической активности, представленные в таблице 2, являются показательным примером их особой потенциально необходимой для медицины биологической активностью. Дальнейшее изучение полученных

структур с помощью рентгеноструктурного анализа (РСА), даст более детальное представление о природе донорно-акцепторной связи между Ge-N и как следствие специфической биологической активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пат. 2476436 Рос. Федерация №2012102525/04. Комплексные соединения германия с аминокислотами и карбоновыми кислотами / А.Д. Исаев [и др.]. Заявл. 25.01.12. Опубл. 27.02.13. Бюл. N 6. 29 с.

2. 1-герматранол-гидрат – активатор триптофанил-тРНК-синтетазы / В.П. Барышок [и др.] // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8 N. 1. С. 153–158.

3. Пат. 2104032 Рос. Федерация №2006146303/04. Соли 1-гидроксигерматрана с окси-, кето- и дикарбоновыми кислотами / А.Д. Исаев, С.А. Башкирова. Заявл. 26.12.06. Опубл. 20.09.08. Бюл. N 26. 12 с.

Работа выполнена с использованием оборудования ресурсных центров Санкт-Петербургского государственного университета «Методы анализа состава вещества» и Санкт-Петербургского технологического института (технического университета)

SUMMARY

SYNTHESIS AND PREDICTION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF AMINOACYLOXYGERMATRANES

Lezov D.V., Ph.D. 3 courses
Head: **Kochina T.A.**, Dr. chem. sciences, prof.
Institute of Chemistry of Silicates. I.V. Grebenshchikov RAS, St. Petersburg,
199034, St. Petersburg, emb. Adm. Makarova, 2, Russian Federation
E-mail: lyo-denis@yandex.ru

We studied the interaction of germanium glycinate, β-alaninate and L-valinate with hydroxyalkylamines (bis(2-hydroxyethyl)-amino-tris(hydroxymethyl)methane, *N,N,N',N'*-tetrakis(2-hydroxyethyl)ethylenediamine (THEED)) in an aqueous medium when heated (80°C) at a molar ratio of 1:1. As a result, a new, previously unstudied series of aminoacyloxygermatranes was obtained. The composition and structure were determined by elemental analysis, NMR (^{13}C, ^{1}H), and IR spectroscopy. The structure of the synthesized compounds is currently being studied by X-ray diffraction analysis. Biological activity was predicted using the Pass program.

Keywords: *aminoacyloxygermatranes, biological activity, GeO_2, hydroxyalkanolamines, aqueous medium, hypervalent state, transannular bond.*

REFERENCES

1. Pat. 2476436 Ros. Federation No. 2012102525/04. Complex compounds of germanium with amino acids and carboxylic acids / A.D. Isaev [et al.]. Dec. 01/25/12. Publ. 27.02.13. Bull. N 6. 29 p. (in Russian)

2. 1-germatranol-hydrate-activator of tryptophanyl-tRNA-synthetase / V.P. Baryshok [et al.] // Izvestiya vuzov. Applied Chemistry and Biotechnology. 2018. Vol. 8, N 1. P 153-158. (in Russian)

3. Pat. 2104032 Ros. Federation No. 2006146303/04. Salts of 1-hydroxygermatran with hydroxy-, keto- and dicarboxylic acids / A.D. Isaev, S.A. Bashkirova. Dec. 12/26/06. Publ. 09/20/08. Bull. No. 26. 12 P (in Russian)

The work was performed using the equipment of the resource centers of the St. Petersburg State University "Methods of analysis of the composition of matter" and the St. Petersburg Technological Institute (Technical University)

УДК 546.05

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРИКОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ N,N,N',N'-ТЕТРАКИС(2-ГИДРОКСИЭТИЛ)ЭТИЛЕНДИАМИНА – ПУТЬ К ПОЛУЧЕНИЮ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Маковская О.Н.[1,2], маг. 1 года обучения
Научный руководитель: **Кондратенко Ю.А.**[2], к.х.н., ст. научный сотрудник
[1]Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),
190013, Санкт-Петербург, Московский пр., д. 26, Российская Федерация
[2]Институт химии силикатов им. И.В. Гребенщикова РАН,
199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 2, Российская Федерация
E-mail: makovskai_olya@mail.ru

В ходе работы впервые был синтезирован ряд *N,N,N´,N´*-тетракис(2-гидроксиэтил)этилендиаммониевых солей биологически активных карбоновых кислот (бензойная, коричная, салициловая, о-фталевая, 2-метилфеноксиуксус-

ная, 4-хлор-2-метилфеноксиуксусная, терефталевая, пиромеллитовая, 2-гидрокси-1-нафтойная, янтарная, щавелевая, яблочная), получены комплексы *N,N,N',N'*-тетракис(2-гидроксиэтил)этилендиамина с солями меди (II), никеля (II), кобальта (II), цинка (II), марганца(II) и серебра(I), исследована структура полученных веществ методами ЯМР (^{1}H), ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, термического и элементного анализа. Кристаллическая структура оксалата и 2-гидрокси-1-нафтоата *N,N,N',N'*-тетракис(2-гидроксиэтил)этилендиаммония была установлена методом рентгеноструктурного анализа.

Ключевые слова: *N,N,N',N'-тетракис(2-гидроксиэтил)этилендиамин, протатраны, гидрометаллатраны, биологически активные карбоновые кислоты, соли биоактивных карбоновых кислот.*

В современном мире разработка эффективных лекарственных препаратов широкого спектра действия представляет большой научный и практический интерес. Однако в то же время эти соединения должны быть экологически безопасными в применении. К таким веществам можно отнести атраны – органические и элементоорганические производные триэтаноламина $N(CH_2CH_2OH)_3$ (TEA), исследования которых показывают, что они являются иммуномодуляторами, адаптогенами, а также оказывают ростостимулирующее действие [1]. Их специфическая биологическая активность связана с их уникальным трициклическим строением. В связи с этим синтез и изучение этих синтетических физиологически активных малотоксичных соединений является перспективным направлением современной науки.

Целью данного исследования является поиск соединений, обладающих ярко выраженной противомикробной активностью в ряду внутрикомплексных соединений на основе малоизученного гидроксиалкиламина – *N,N,N´,N´*-тетракис(2-гидроксиэтил)этилендиамина (THEED). Благодаря содержанию двух аминогрупп, каждая из которых связана с двумя гидроксиэтильными группами, следует ожидать, что внутрикомплексные соединения THEED будут характеризоваться атрановой структурой. В литературе практически отсутствует информация о получении и строении THEED солей. Известно лишь о взаимодействии THEED с солями некоторых металлов с образованием комплексов, обладающих ярко выраженной противомикробной активностью [2].

В связи с этим, на первом этапе работы взаимодействием THEED с биологически активными карбоновыми кислотами были получены и выделены карбоксилаты тетракис(2-гидроксиэтил)этилендиаммония в виде порошков или вязких маслянистых жидкостей. Для получения целевых соединений были выбраны следующие карбоновые кислоты: бензойная (Benz), коричная (Cin), салициловая (Sal), о-фталевая (Pht), 2-метилфеноксиуксусная (Crez), 4-хлор-2-метилфеноксиуксусная (Cl-Crez), терефталевая (TPht), пиромеллитовая (Prm), 2-гидрокси-1-нафтойная (OH-Nph), янтарная (Suc), щавелевая (Oxal), яблочная (Mlt). Взаимодействие THEED с карбоновыми кислотами было исследовано в среде метанола при соотношении реагентов 1:2 (для одноосновных кислот), 1:1 (для двухосновных). Только в случае соли пиромеллитовой кислоты молярное соотношение THEED к кислоте составило 2:1, что связано с четырехосновностью данной кислоты. Схема реакции представлена на рисунке 1.

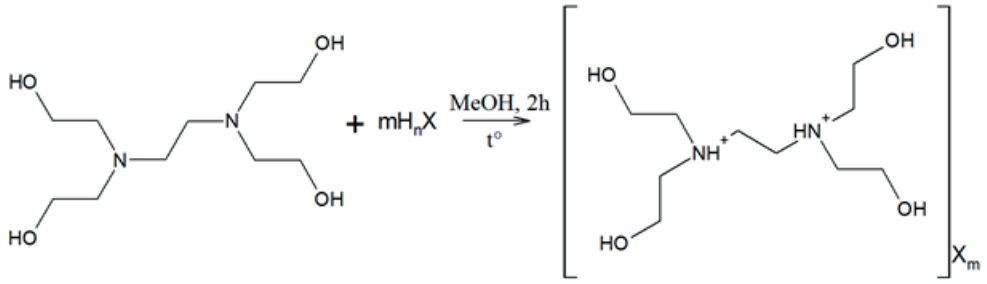


Рисунок 1. Схема синтеза THEED солей карбоновых кислот (m=1, 2, n=1, 2, 4)

Состав и строение полученных солей THEED были доказаны методами ИК спектроскопии, ЯМР (^{1}H) спектроскопии, термического и элементного анализа.

Спектры ЯМР ^{1}H характеризуются наличием двух мультиплетов в области 2.57-3.29 м.д. и 3.81-7.04 м.д., относящиеся к сигналам протонов NCH_2 и OCH_2 групп THEED катиона, соответственно. Сигналы протонов CH_3 групп катионов проявляются в спектрах THEED солей 2-метилфеноксиацетата и 4-хлор-2-метилфеноксиацетата в области 2.08-2.25 м.д. В ЯМР ^{1}H спектрах солей, содержащих бензольное кольцо, мультиплеты в области 6.65-8.73 м.д. относятся к сигналам протонов ароматического кольца анионов.

ИК-спектры THEED солей характеризуются наличием широких интенсивных полос с максимумами в области 3340-3026 см$^{-1}$, относящихся к колебаниям OH-групп катионов. Полосы при значениях волнового числа в интервале 3025-2898 см$^{-1}$относятся к валентным колебаниям CH, CH_3, CH_2 и $C_{Ar}H$ групп катионов и анионов. Валентные колебания карбоксилатных групп (COO) проявляются в виде двух полос в области 1608-1545 см$^{-1}$ ν_{as} (COO^-) и 1400-1331 см$^{-1}$ ν_s (COO^-). Валентные колебания ароматического кольца (Ar) анионов, содержащих бензольное кольцо, проявляются при значениях волнового числа в области 1635-1404 см$^{-1}$.

Методом рентгеноструктурного анализа удалось установить кристаллическую структуру $[THEEDH_2](C_{10}H_6(OH)CO_2)$ и $[THEEDH_2]((CO_2)_2)$. Элементарные ячейки 2-гидрокси1-нафтоата и оксалата THEED содержат одну катион-анионную пару (рис. 2-3).

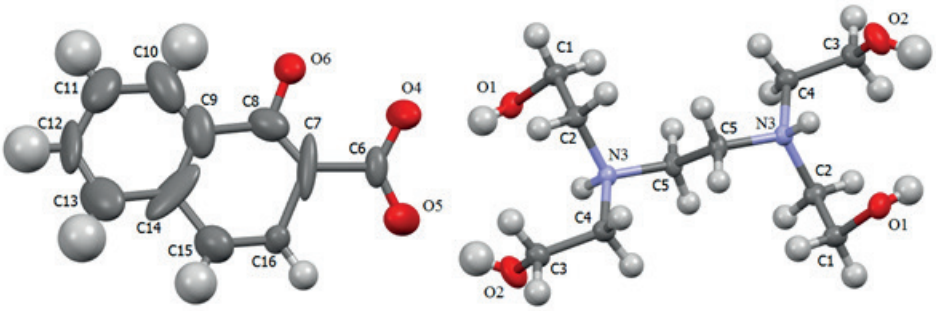


Рисунок 2. Структура 2-гидрокси-1-нафтоата THEED по данным монокристального рентгеноструктурного эксперимента

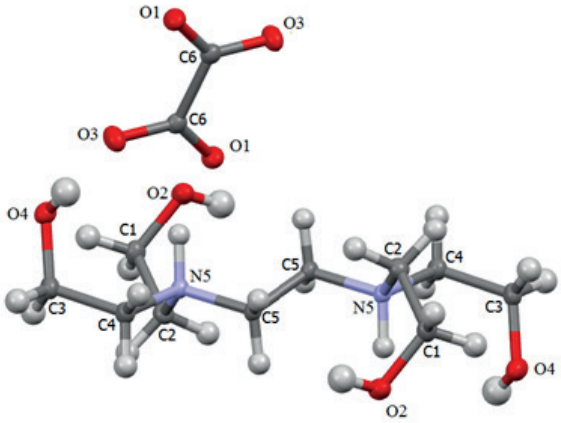


Рисунок 3. Структура оксалата THEED по данным монокристального рентгеноструктурного эксперимента

Как исследовало ожидать, в катионах THEED две гидроксиэтильные группы каждого фрагмента $\{CH_2N^+H(CH_2CH_2OH)_2\}_2$ направлены к аммонийному атому водорода с образованием двух внутримолекулярных водородных связей, т.е. для THEED катионов характерна квазипротатрановая структура. В межмолекулярном водородном связывании участвуют гидроксильные и аммонийные группы THEED катионов и карбоксилатные группы анионов. Основным отличием в водородном связывании между структурами является формирование катионных цепочек за счет бифуркированных водородных связей N3-H⋯O1 между аммонийной группой одного катиона и гидроксильной группой соседнего. В случае оксалата THEED катионы образуют водородные связи только с оксалат анионом.

Данные выходов реакций, температур плавления и элементного анализа для THEED солей выделенных в твердом виде, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Данные элементного анализа, выходов реакций и температур плавления солей, выделенных в твердом виде*

Анион	Формула	Выход, %	$T_{пл.}$ °C	Рассчитано, %			Найдено, %		
				C	H	N	C	H	N
Prm	$C_{20}H_{28}N_2O_{12}$	68	197	48,9	5,7	5,7	48,5	6,1	5,5
OH-Nph	$C_{32}H_{38}N_2O_{10}$	93	76	62,7	6,2	4,5	62,0	6,3	4,5
Oxal	$C_{12}H_{26}N_2O_8$	100	98	44,2	7,4	8,5	43,4	7,5	8,2

* – вещества, выделенные в виде вязких маслянистых жидкостей с выходами более 70 %.

На данный момент на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии ПСПбГМУ исследуется противомикробная активность некоторых синтезированных солей. В РНЦРХТ им. академика А.М. Гранова изучается буферная активность THEED солей в реакциях радиомечения биомолекул изотопом ^{68}Ga. А также, методом комплексного термического анализа исследуется термическая устойчивость солей THEED в интервале температур 40-600 °C.

Используя программу SwissADME (http://www.swissadme.ch/) были оценены физико-химические свойства, фармакокинетика, биодоступность, и другие параметры полученных THEED солей с целью определить соответствие критериям правила Липинского. Правило Липински – эмпирическое правило, которое позволяет определить является ли синтезированное соединение перорально активным лекарственным средством. Согласно данному правилу перорально активный препарат может нарушать не более одного из следующих условий: 1) общее количество донорных водородных связей –не более 5 ; 2) общее количество акцепторных водородных связей – не более 10; 3) молекулярная масса соединения – менее 500 а.е.м.; 5) Коэффициент распределения октанол-вода (log P), не должен превышать 5. Данные о соответствии критериям правила Липинского полученных THEED солей представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Некоторые параметры THEED солей, определенные с помощью программы SwissADME*

THEED соль	MB	ABC	ДВС	Log P	Log S_1	Log S_2	Log S_3	БД	СД	Лек. сродство
Benz	480.55	8	6	-2.64	0.36	1.13	-0.31	0.55	2.76	Да
Cin	532.63	8	6	-2.64	0.36	1.13	-0.31	0.55	2.76	Да
Sal	512.55	10	8	-3.00	0.63	1.03	-0.31	0.17	2.99	Нет
Pht	402.44	8	6	-4.09	2.31	3.38	-0.31	0.55	2.53	Да
Crez	568.66	10	6	-2.41	-0.47	-0.23	-0.31	0.17	3.85	Нет
Cl-Crez	637.55	10	6	-1.54	-2.08	-2.19	-0.31	0.17	3.99	Нет
TPht	402.44	8	6	-3.69	1.51	2.07	-0.31	0.55	2.39	Да
Prm	490.46	12	8	-4.67	2.37	2.54	-0.31	0.11	3.07	Нет
OH-Nph	612.67	10	8	-1.56	-2.35	-2.72	-0.31	0.17	3.51	Нет
Suc	354.40	8	6	-4.88	3.78	4.94	-0.31	0.55	2.67	Да
Oxal	326.34	8	6	-5.04	3.50	4.40	-0.31	0.55	2.41	Да
Mlt	370.40	9	7	-5.37	3.99	5.02	-0.31	0.17	3.44	Нет

*MB – молекулярный вес, а.е.м.; ABC – Акцептор водородной связи; ДВС – Донор водородной связи; Log P – коэффициент распределения октанол-вода; Log S1 – растворимость в воде (топологический метод из Delaney JS. 2004 J. Chem. Inf. Model.); Log S2 – растворимость в воде (топологический метод из Ali J. et al. 2012 J. Chem. Inf. Model.); Log S3 – растворимость в воде (фрагментарный метод, рассчитанный в программе FILTER-IT, версия 1.0.2); БД – Биодоступность; СД – Синтетическая доступность.

Исходя из приведенных данных, можно предположить, что THEED Benz, Cin, Pht, TPht, Suc и Oxal полностью соответствуют критериям правила Липински и потенциально обладают фармакологической и биологической активностью. Таким образом, полученные THEED соли являются перспективными для дальнейшего изучения и применения в области медицины и биохимии.

На второй стадии работы взаимодействием THEED с солями металлов были получены гидрометаллатраны общей формулы $[M(THEED)(X)_m]_n$(M = Cu(II), Ni(II), Zn(II), Co(II), Mn(II), Ag(I) X = Benz, Cin, Sal, SO_4, NO_3, Cl n,m = 1,2). Взаимодействие THEED с солями биогенных металлов было исследовано в полярной среде (H_2O, CH_3OH, C_2H_5OH). Состав и строение продуктов реакции были охарактеризованы с помощью методов ИК спектроскопии, масс-спектрометрии и элементного анализа.

В ИК спектрах полученных комплексов THEED наблюдаются полосы валентных колебаний гидроксильных групп THEED с максимумами в области 3370-3028 $см^{-1}$. Область 2988-2896 $см^{-1}$ соответствует валентным колебаниям ν(CH), ν(CH_2) и ν(CH_3) групп THEED и анионов карбоновых кислот. Антисимметричные и симметричные валентные колебания карбоксилат-анионов проявляются в области 1632-1548 и 1393-1305 $см^{-1}$ соответственно. Валентные колебания ароматического кольца анионов гидрометаллатранов проявляются при значениях волнового числа в области 1640-1442 $см^{-1}$.

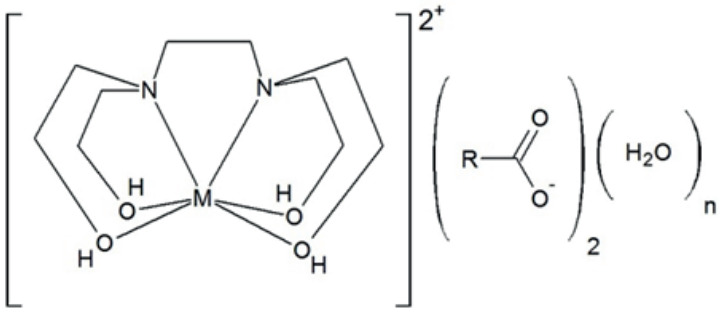
В масс-спектрах гидрометаллатранов обнаружены пики, соответствующие фрагментам следующих ионов: $[THEED+H]^+$, $[M(THEED^-)]^+$, $[M(THEED)(X)]^+$, $[M(THEED)_2(X)+H]^+$, $[M(THEED^-)_2(X)_2+Na]^+$, $[M(THEED)(THEED^-)(X)(H_2O)+Na]^+$, где X – анион карбоновой кислоты.

Данные выходов реакций, температур плавления и элементного анализа для некоторых синтезированных гидрометаллатранов представлены в таблице 3. Все исследуемые комплексы THEED показали хорошую сходимость C, H, N элементного анализа для предложенных формул.

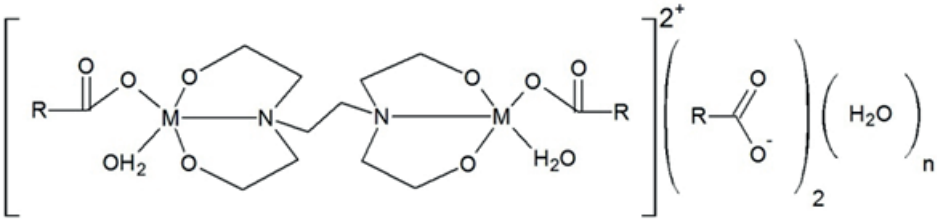
Таблица 3 – Данные элементного анализа, выходов реакций и температур плавления некоторых синтезированных комплексов THEED

Комплекс THEED с	Формула	Выход, %	Тпл. °C	Рассчитано, %			Найдено, %		
				C	H	N	C	H	N
$Cu(Benz)_2$ **(1)**	$[Cu(THEED)](C_7H_5O_2)_2(H_2O)$	39	128	53.8	6.8	5.0	53.5	6.7	5.0
$Cu(Cin)_2$**(2)**	$[Cu(THEED)](C_9H_7O_2)_2(H_2O)_3$	46	67	50.5	6.9	4.2	50.5	6.9	5.0
$Cu(Sal)_2$**(3)**	$[Cu(THEED)](C_7H_5O_3)_2$	57	124	50.2	5.9	4.9	50.1	5.9	4.9
$Ni(Benz)_2$**(4)**	$[Ni_2(THEED)(C_7H_5O_2)_2](C_7H_5O_2)_2(H_2O)_2$	50	150	52.2	5.5	3.2	52.3	5.4	3.2
$Ni(Cin)_2$**(5)**	$[Ni(THEED)](C_9H_7O_2)_2(H_2O)$	41	105	55.4	6.6	4.6	55.4	6.8	4.1
$Zn(Benz)_2$**(6)**	$[Zn_2(THEED)(C_7H_5O_2)_2](C_7H_5O_2)_2(H_2O)_2$	39	107	51.4	5.4	3.2	51.7	5.6	3.2
$CoCl_2$**(7)**	$[Co_2(THEED)(Cl_2)](Cl_2)(H_2O)$	52	190	22.6	5.3	5.3	22.7	5.1	5.2

На основании полученных данных можно предположить, что в случае соединений **1-3, 5** взаимодействие THEED с солями металлов приводит к образованию катионных моноядерных комплексов, состоящих из катионов $[M(THEED)]^{2+}$ и анионов карбоновых кислот (рис. 4а). Следует ожидать, что в случае соединений **4, 6, 7** образуются биядерные смешанно-лигандные комплексы (рис. 4б). Структура **7** аналогична строению комплексов **4** и **6**, за исключением координации с атомами Cl вместо карбоксилатных групп. Предполагаемое строение некоторых синтезированных комплексов THEED представлено на рисунке 4.



а) где M=Cu, Ni;
R=C_6H_5-, C_6H_5-CH=CH-, C_6H_4(OH)-



б) где M=Ni, Zn, Co;
R= C_6H_5-.

Рисунок 4. Предполагаемое строение комплексов THEED

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронков М.Г., Барышок В.П. Атраны – новое поколение биологически-активных веществ// Вестник Российской академии наук. 2010. Т. 80. N 11. С. 985-992.

2. Synthesis, crystal structure investigation, DFT analyses and antimicrobial studies of silver(I) complexes with N,N,N',N"-tetrakis(2-hydroxyethyl/propyl)ethylenediamine and tris(2-hydroxyethyl)amine / R. Kumar [et al.] // New Journal of Chemistry. 2014 V. 38. P. 1186-1198.

SUMMARY

SYNTHESIS AND STUDY OF INTRA-COMPLEX COMPOUNDS OF N,N,N',N'-TETRAKIS(2-HYDROXYETHYL)ETHYLENEDIAMINE – THE WAY TO OBTAIN NEW BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Makovskaya O.N.[1,2], 1th year master student
Academic advise: **Kondratenko Y.A.**[2], Candidate of chemical sciences, Senior Scientific Researcher
[1]St. Petersburg State Technological Institute (Technical University),
190013, St. Petersburg, Moskovsky pr., 26, Russian Federation
[2]I.V.Grebenshchikov Institute for Silicate Chemistry of Russian Academy of Sciences,
199034, St. Petersburg, наб. Makarov emb., 2, Russian Federation
E-mail: makovskai_olya@mail.ru

During the work, a number of *N,N,N',N'*-tetrakis(2-hydroxyethyl)ethylenediammonium salts of biologically active carboxylic acids (benzoic, cinnamic, salicylic, o-phthalic, 2-methylphenoxyacetic, 4-chloro-2-methylphenoxyacetic, terephthalic, pyromellitic, 2-hydroxy-1-naphthoic, succinic, oxalic, and malic) were synthesized for the first time. Complexes of *N,N,N',N'*-tetrakis(2-hydroxyethyl)ethylenediamine with copper (II), nickel (II), cobalt (II), zinc (II), manganese (II) and silver (I) salts were obtained. The structure of the obtained substances was studied by NMR (^{1}H), IR spectroscopy, mass spectrometry, thermal analysis and elemental analysis. Crystal structure of *N,N,N',N'*-tetrakis(2-hydroxyethyl)ethylenediammonium oxalate and 2-hydroxy-1-naphthoate was determined by X-ray diffraction.

Keywords: *N,N,N',N'-tetrakis(2-hydroxyethyl)ethylenediamine, protatranes, hydrometallatranes, biologically active carboxylic acids, salts of bioactive carboxylic acids.*

REFERENCES

1. Voronkov M.G., Baryshok V.P. Atrans – a new generation of biologically active substances // Bulletin of the Russian Academy of Sciences. 2010. V. 80. N 11. P 985-992.[In Russian]

2. Synthesis, crystal structure investigation, DFT analyses and antimicrobial studies of silver(I) complexes with N,N,N',N"-tetrakis(2-hydroxyethyl/propyl)ethylenediamine and tris(2-hydroxyethyl)amine / R. Kumar [et al.] // New Journal of Chemistry. 2014 V. 38. P. 1186-1198.

УДК 547.458

СИНТЕЗ ГИДРАЗИДОВ ПЕКТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Мяндина Т.А., магистрант 1 года обучения, **Подивилова Е.А.**, студ. 4 года обучения
Научный руководитель: **Тарадейко Т.И.**, канд. фарм. наук, старший преподаватель
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: myandina.tatyana@pharminnotech.com

При поведении реакции натриевой соли пектиновой кислоты с гидразин-гидратом получены производные пектината натрия, содержащие гидразидные группы, определено количество введенных в полисахарид гидразидных групп, исследовано влияние времени и температуры реакции превращения сложноэфирных групп в гидразидные.

Ключевые слова: *физиологически активные полимеры, пектин, натриевая соль пектиновой кислоты, гидразиды пектиновой кислоты, ацилирование, полимераналогичная реакция.*

С каждым годом все большее число полисахаридов используется в синтезе нового поколения лекарственных средств – физиологически активных полимеров (ФАП) «прививочного» типа. Это специально сконструированные полимеры, состоящие из полимера-носителя, биологически активного вещества, «вставки», связывающей БАВ с полимером-носителем, и групп, определяющих растворимость и направленный транспорт ФАП. Включение БАВ в полимерную систему позволяет конструировать лекарственные вещества с заданным видом активности, с регулируемой фармакокинетикой (длительностью действия, распределением в организме, направленным транспортом в орган-мишень), определенным уровнем концентрации БАВ, метаболизмом и рядом других свойств.

Среди используемых в медицинской практике синтетических и био-полимеров едва ли не самыми ценными носителями являются полисахариды, многие из которых повышают устойчивость макроорганизмов к бактериальным и вирусным инфекциям, возникновению опухолей, действию рентгеновских лучей, проявляя защитную роль в организме [1]. Особое внимание привлекают функции полисахаридов и углеводсодержащих биополимеров, связанные с их специфичностью. Известно, что структура антигенов, вызывающих возникновение иммунитета, носит полисахаридный характер. Способность полисахаридов повышать неспецифическую резистентность макроорганизма имеет большое значение в условиях широкого использования антибиотиков, химических препаратов и других лечебных средств, которые в известной степени снижают естественные защитные силы. Повышение неспецифической резистентности приводит к улучшению терапевтического воздействия некоторых лекарственных препаратов при совместном введении с полисахаридами.

Среди таких полисахаридов наиболее популярны декстран и альгиновая кислота [2,3], которые не токсичны, не вызывают аллергических реакций, не взаимодействуют с кровью, не накапливаются в организме. Они и некоторые их производные способны к биодеструкции, хотя модификация может её затруднить [4]. Кроме того, эти полисахариды и их производные нередко проявляют собственную биологическую активность и используются как самостоятельные лекарственные вещества. Они проявляют противораковое, противовирусное, иммунорегулирующее, противовоспалительное и другие действия и используется для профилактики и лечения инфекционных заболеваний.

В этой связи большой интерес представляет пектин – природный полисахарид, молекула которого построена в основном из остатков α-1,4-связанных *D*-галактуроновых кислот. Химическое строение, физико-химические свойства, собственная биологическая активность [5] и практически полная безвредность по отношению к живым организмам делают пектин привлекательным полимерным материалом, который можно использовать в фармацевтической промышленности для конструирования физиологически активных полимеров, синтез которых позволяет повысить активность модифицированной производных и/или изменить схему их доставки к биомишени.

Фармацевтические субстанции нередко представляют собой гидразиды карбоновых кислот и гидразоны карбонильных соединений и применяются для лечения различных заболеваний, например, широко известные изониазид, фтивазид, салюзид, метазид, производные нитрофурана и некоторые другие. Собственной активностью могут обладать и гидразиды полисахаридкарбоновых кислот, однако, не менее важным является их значение при конструировании физиологически активных полимеров. Они используются в синтезе полимерных гидразонов, оказывающих противомикробную активность, и в синтезе азидов, активных ацилирующих агентов в реакциях с *N*-нуклеофилами, особенно, таких малоустойчивых, как антибиотики, ферменты и другие белки [2]. В этой связи, большой интерес представляют гидразиды пектиновой кислоты (ГПК), так как химическая модификация пектинов дает возможность синтезировать новые и

совершенствовать уже известные лекарственные средства. К сожалению, химические свойства пектина практически не изучены, что препятствует широкому применению его в синтезе физиологически активных полимеров. В связи с этим большой научный и практический интерес представляют гидразиды пектиновой кислоты, однако сведения об их синтезе в литературе отсутствуют. Поэтому нашей задачей является исследование реакции пектиновой кислоты с гидразином.

Материалы и методы

В работе использовали натриевую соль пектиновой кислоты (CAS № 9000-69-5). Молекулярная масса до 200000 Да. Содержание карбоксильных групп после переосаждения – 95%, степень этерификации $C_{эт}$ = 0,23 моль/моль-звено полисахарида.

ИК спектры регистрировали в таблетках с KBr с помощью ИК Фурье-спектрометра ФСМ-1201. Оптическую плотность образцов определяли на фотоколориметре КФК-2. Для кондуктометрического титрования использовали лабораторный кондуктометр АНИОН-4120.

Ацилирование гидразин-гидрата:

0,5 г натриевой соли пектиновой кислоты растворяли в 5 мл гидразин-гидрата в плоскодонной конической колбе на магнитной мешалке. Реакционную массу выдерживали при температурах 20, 40, 60, 80, 100 и 110° С от 6 часов и до 15 суток. Далее её разбавляли этанолом, выпавший в осадок продукт растворяли в водной щелочи и снова осаждали этанолом для удаления ионно-связанного гидразина и сушили в вакууме (20-25 мм. рт. ст.) при 61° С в течение 2 ч. Выход составил 45-50 % от теоретического.

Определение гидразидных групп методом йодометрического титрования:

Точную навеску вещества (≈ 20 мг) растворяли в 30 – 50 мл воды, добавляли 200 мг соды и 5 мл 0,1 М иода. Смесь ставили в темное место на 30 мин при температуре 40°С. Затем колбу помещали в баню со льдом на 10 минут, после чего добавляли 2 мл раствора HCl, состоящего из 1V HCl и 2V H_2O. В качестве индикатора использовали раствор крахмала. Титровали 0,1 М раствором $Na_2S_2O_3$, фиксируя точку эквивалентности по обесцвечиванию раствора.

Раствор сравнения содержал те же компоненты, но без полисахарида.

Количество гидразидных групп в моносахаридном фрагменте определяли по формуле:

$$\nu_{\text{гидр.групп}} = \left(V_{\text{контроль}} - V_{\text{проба}}\right) * 0{,}025, \text{где}$$

$V_{контроль}$ – объём $Na_2S_2O_3$, пошедший на титрование раствора сравнения, мл;
$V_{проба}$ – объём $Na_2S_2O_3$, пошедший на титрование раствора содержащий образец, мл;
0,025 – коэффициент, определенный по калибровочному графику.

Результаты и обсуждение

Ранее было показано [6], что полисахариды реагируют с гидразин-гидратом и образуют соответствующие гидразиды, которые являются ценными полупродуктами в синтезе полимерных гидразонов и азидов. Так, Ансон и соавт. [7] получали гидразиды альгиновой кислоты по трем методикам, предложенным ранее для синтеза гидразидов карбоксиалкилполисахаридов. По первой методике [7, 8, 9] альгиновую кислоту нагревали в среде гидразингидрата при 100°С 2-14 ч, затем добавляли раствор щелочи и полисахарид осаждали спиртом. Для очистки продукта от ионно-связанного гидразина его осаждали из водных растворов кислотой, а затем из щелочного раствора спиртом. Полученный осадок промывали спиртом и сушили в вакууме. По второй методике альгиновую кислоту обрабатывали при 70-75°С 12 ч в присутствии кислого окси да алюминия смесью гидразингидрат-бутанол-толуол, из которой отгоняли воду в виде азеотропа. После окончания выдержки из реакционной смеси сначала удаляли катализатор, затем отделяли водный слой и продукт выделяли, как описано выше. Кроме того, гидразид получали из лактона альгиновой кислоты, который смешивали с гидразингидратом и выдерживали при комнатной температуре 24 ч.

Оказалось, что наиболее удобным методом синтеза гидразида альгиновой кислоты является нагревание полисахарида в гидразин-гидрате [7]. Поэтому химическую модификацию пектина проводили по следующей схеме (рис. 1):

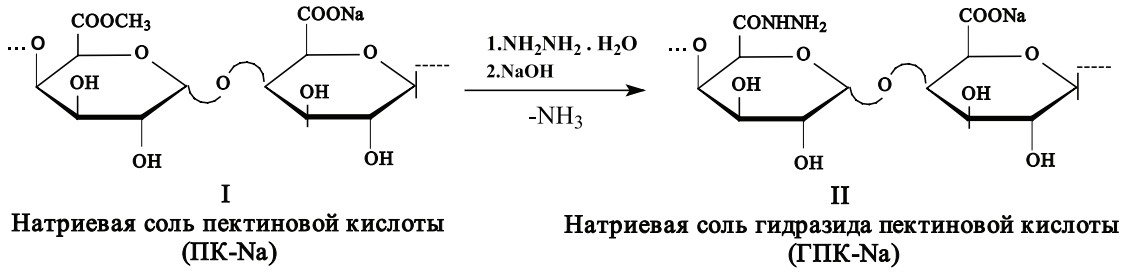


Рисунок 1. Схема синтеза гидразида пектиновой кислоты

Полученные гидразиды представляют собой кремовые аморфные порошки, растворимые в воде, нерастворимые в этиловом спирте, эфире и других полярных и неполярных органических растворителях.

В ИК спектрах образцов гидразида, имеются полосы поглощения, характерные для валентных колебаний карбоксильной группы (1772-1778 $см^{-1}$) для валентных колебаний «амид I» и «амид III» гидразида (1680-1690 $см^{-1}$ и 1330-1335 $см^{-1}$

соответственно), деформационных колебаний «амид II» гидразида (1530-1537 $см^{-1}$), а также полосы поглощения карбоксилат – ионов уроновых кислот (1620–1622 $см^{-1}$). После обработки образцов кислотой обнаружены полосы поглощения при 1735-1745 $см^{-1}$, соответствующие ν (C=O) карбоксильных групп, и полоса поглощения при 1680-1690 $см^{-1}$, характерные для ν (C=O) гидразида.

Количество гидразидных групп в синтезированных образцах определяли иодометрическим титрованием [10].

Полученные образцы характеризовали степенью замещения *Сгг* (число гидразидных групп, приходящихся на мономерное звено полисахарида), а реакцию – по степени гидразидирования *Сг* (процент превращения сложноэфирных групп пектиновой кислоты в гидразидные). Относительная погрешность определения введенных групп разными методами не превышает 5%.

Известно, что степень превращения уроновых кислот альгиновой кислоты в гидразидные зависит от времени и температуры реакции ацилирования, а также от метода получения гидразидов [7].

Уже первые опыты показали, что натриевая соль пектиновой кислоты реагирует с гидразин-гидратом даже при комнатной температуре, и за 15 суток до 96% сложноэфирных групп полисахарида превращается в гидразидные (таблица 1), при этом выход целевого продукта резко уменьшается. Вероятно, это связано, с ростом липофильности полимера с повышением числа гидразидных групп и увеличением его растворимости в спирте. В связи с этим затрудняется использование этой методики для синтеза гидразидов пектиновой кислоты.

Таблица 1 – Влияние времени реакции на ацилирование гидразин гидрата натриевой солью пектиновой кислоты (17 – 20°С)

Время, сутки	*Сгг*, моль/моль звено	Сг, %	Выход продукта, %
1	0,05	21,7	72
3	0,15	65,2	68
4	0,17	73,9	64
6	0,20	87,0	42
15	0,22	95,7	40

Для определения условий реакции натриевой соли пектиновой кислоты с гидразин гидратом, позволяющих получать высокий выход целевого продукта, было исследовано влияние температуры реакции на степень замещения полисахарида (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние температуры реакции на ацилирование гидразин гидрата натриевой солью пектиновой кислоты (6 часов)

Температура, °С	*Сгг*, моль/моль звено	*Сг*, %	Выход продукта, %
20	0,02	8,7	63
40	0,05	21,7	52
60	0,16	69,6	42
80	0,19	82,6	44
100	0,19	87,0	32
110	0,11	47,8	6

Как и ожидалось, с увеличением температуры реакции количество гидразидных групп в полисахариде увеличивается, и за 6 часов при 100°С степень превращения сложноэфирных групп достигает 87%. Дальнейшее увеличение температуры до 110°С приводит к значительному падению степени гидразиирования и выходу целевого продукта. Вероятно, это связано, во-первых, с увеличением растворимости высокозамещенных гидразидов в спирте, во-вторых, с деструкцией пектиновой кислоты и переходом её гидразидированных низкомолекулярных фракции в спиртовую фазу.

Таким образом,

- натриевая соль пектиновой кислоты образует гидразиды уже при комнатной температуре за время выдержки от 1 до 15 суток, при этом степень замещения достигает 96%;
- при нагревании натриевых солей пектиновой кислоты в среде гидразин гидрата при температурах до 100°С в течение 6 часов приводит к превращению примерно 87 % эфирных групп в гидразидные, при этом степень гидразидирования я выход целевого продукта зависит от температуры выдержки.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.36 Лекарственные средства из природного сырья

61.59.37 Химическая модификация высокомолекулярных соединений

ЛИТЕРАТУРА

1. Елинов Н.П. Химия микробных полисахаридов. М.: Высш. шк. 1984. С. 244

2. Изучение антимикробной активности некоторых производных альгиновой кислоты/ Е.С. Серебренникова [и др.] // Проблемы медицинской микологии. 2013. Т.15. N 4. С. 60-62.

3. Косарева Д.Н. Ананьева Е.П., Иозеп А.А. Антимикробная активность N-арилиден(алкилиден)гидразидов карбоксиэтилальгиновой кислоты // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2019. N 8 (3). С. 30-34. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2019-8-3-30-34

4. Платэ Н.А., Васильев А.Е. Физиологически активные полимеры. М.: Химия. 1986. С. 294.

5. Исследование антибактериальной активности пектиновых растворов по отношению к клиническим штаммам микроорганизмов/ З.Н. Хатко [и др.] // ТППП АПК. 2017. N 1 (15). С. 105-109

6. Иозеп А.А., Бессонова Н.К., Пассет Б.В. Синтез гидразидов, азидов и замещенных амидов карбоксиэтилполисахаридов // Ж. прикл. хим. 1992. Т62. N 8. С. 1869-1877.

7. Ансон С.И., Новикова Е.В., Иозеп А.А. О гидразиде альгиновой кислоты и исследование его реакции с ароматическими альдегидами // ЖПХ. 2008. Т.81. N 4. С. 611-614

8. Серебренникова Е.С., Щенникова О.Б., Иозеп А.А. Гидразиды и бензилиденгидразиды сульфатированной альгиновой кислоты // Химическая промышленность. 2012. Т.89. N 2. С.80-85

9. Синтез гидразидов карбоксиэтилальгиновой кислоты/ Т.И. Тарадейко [и др.] //Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. N 3 (20). С. 110-114.

10. Сиггиа С., Ханна Г.Дж. Количественный органический анализ по функциональным группам. М.: Химия, 1983. С. 672.

SUMMARY

SYNTHESIS OF HIDRAZIDE OF PECTIN ACID

Myandina T.A., 1st year graduate student, **Podivilova E.A**, 4th year student
Academic advise: **Taradeyko T.I.**, candidate of pharmacology sciences, senior lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: myandina.tatyana@pharminnotech.com

Sodium pectinate derivatives containing hydrazide groups were obtained by the behavior of the reaction of the sodium salt of pectic acid with hydrazine hydrate, the amount of hydrazide groups introduced into the polysaccharide was determined, and the effect of time and temperature of the reaction of the transformation of ester groups into hydrazide groups was studied.

Keywords: *physiologically active polymers, pectin, pectic acid sodium salt, hydrazides of pectic acid, acylation, polymer analogous reaction.*

REFERENCES

1. Elinov N.P. Chemistry of microbial polysaccharides. Moscow: Vysshaya Shkola. 1984. P. 244 (In Russian)

2. Study of the antimicrobial activity of some alginic acid derivatives/ E.S. Serebrennikova [et al.] // Problemy meditsinskoy mikologii. 2013. Vol. 15. N 4. P 60-62. (In Russian.)

3. Kosareva D.N., Ananieva E.P., Iozep A.A. Antimicrobial Activity of N-ariliden(alkylidene)hydrazides of Carboxymethylalginic Acid. Drug development & registration. 2019 N 8(3) P 30-34. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2019-8-3-30-34

4. Plate N.A., Vasil'ev A.E. Physiologically active polymers. Moscow: Khimiya. 1986. P. 294 (In Russian.)

5. Study of antibacterial activity of pectin solutions against clinical strains of microorganisms. / Z.N. Khatko [et al.] // TPPP APK. 2017. N 1 (15). P 105-109 (In Russian.)

6. Iozep A.A., Bessonova N.K., Passet B.V. Synthesis of hydrazides, azides, and substituted amides of carboxyethyl polysaccharides // Prikladnaya Khimiya 1992. T 62. N 8. P 1869-1877 (In Russian)

7. Anson S.I., Novikova E.V., Iozep A.A. On alginic acid hydrazide and study of its reaction with aromatic aldehydes // ZhPKh. 2008. N 81(4) P 611-614 (In Russian)

8. Serebrennikova E.S., Shchennikova O.B., Iozep A.A. Hydrazides and benzylidene hydrazides of sulfated alginic acid // Khimicheskaya promyshlennost'. 2012. Vol. 89. N 2. P 80-85 (In Russian)

9. Synthesis of hydrazide of carboxyethylalginic ACID / T.I. Taradeyko // Drug development & registration. 2017. N 3 (20). P. 110-114. (In Russian)

10. Siggia S., Khanna G.J. Quantitative organic analysis by functional groups. Moscow: Khimiya, 1983. P 672. (In Russian)

УДК 547.792.5

ПОИСК НОВЫХ АНТИАГРЕГАНТОВ СРЕДИ ТИЕТАНСОДЕРЖАЩИХ 2-[5-БРОМ-2,4,-ДИГИДРО-3-ОКСО-1,2,4-ТРИАЗОЛИЛ-4]УКСУСНЫХ КИСЛОТ

Розит Г.А., асп. 2 года обучения, **Назаргулов А.С.**, студ. 5 курса
Руководитель: **Клен Е.Э.** д-р фарм. наук, доцент
ФГБОУ ВО «Башкирский Государственный Медицинский Университет» Минздрава России,
кафедра фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии
45008, Уфа, ул. Ленина, 3, Российская Федерация
E-mail: rozit1993@mail.ru

Реакциями 2-[5-бром-2,4-дигидро-3-оксо-2-(тиетанил-3)-1,2,4-триазолил-4]- и 2-[5-бром-2,4-дигидро-3-оксо-2-(1,1-диоксотиетанил-3)-1,2,4-триазолил-4]уксусных кислот с гидроксидом натрия получены соли 2-[5-бром-2,4-дигидро-3-оксо-1,2,4-триазолил-4]уксусных кислот. Структура синтезированных соединений подтверждена данными ИК и ЯМР-спектроскопии. Согласно результатам прогноза биологической активности, токсических рисков и физико-химических свойств установлено, что синтезированные соединения **IIIa, IVa** являются перспективными для создания на их основе новых антиагрегантов.

Ключевые слова: *1,2,4-триазол-3-он, тиетан, антиагрегантная активность, антикоагулянтная активность, «правило пяти» Липинского.*

Тромбоз является наиболее распространенной патологией человека, занимая первое место среди показателей инвалидности и смертности. Большинство стран мира столкнулись с последствиями пандемии из-за высоких показателей заболеваемости и смертности от новой коронавирусной инфекции. Одним из наиболее серьезных осложнений COVID-19, является нарушение системы гемостаза [1]. Несмотря на широкий выбор препаратов, большинство из них обладают нежелательными побочными эффектами. Это ограничивает их применение в качестве селективных агентов для коррекции системы гемостаза [2]. Результаты предыдущих исследований показывают потенциальную биологическую активность новых производных 1,2,4-триазол-3-она, среди которых найдены соединения, проявляющие антиагрегантную и антикоагулянтную активность [3].

Синтез 2-[5-бром-2,4-дигидро-3-оксо-2-(тиетанил-3)-1,2,4-триазолил-4]- (**III**) и 2-[5-бром-2,4-дигидро-3-оксо-2-(1,1-диоксотиетанил-3)-1,2,4-триазолил-4]уксусных кислот (**IV**) осуществлен гидролизом исходных этиловых эфиров **I** и **II** [4]. Установлено, что эфир **I** под действием гидроксида натрия в водной среде при комнатной температуре гидролизуется до соответствующей кислоты **III**. Гидролиз эфира **II** в аналогичных условиях приводит к образованию кислоты **IV** с выходом 30,6%, а проведение реакции при кипячении с раствором хлористоводородной кислоты приводит к увеличению выхода кислоты **IV** до 72,1% (Схема 1). Нами исследованы реакции тиетансодержащих 2-[5-бром-2,4-дигидро-3-оксо-1,2,4-триазолил-4]уксусных кислот с гидроксидом натрия. Установлено, что натриевые соли **IIIa**, **IVa** образуются при взаимодействии кислот **III, IV** с 1,1-кратным мольным избытком натрия гидроксида в изопропаноле.

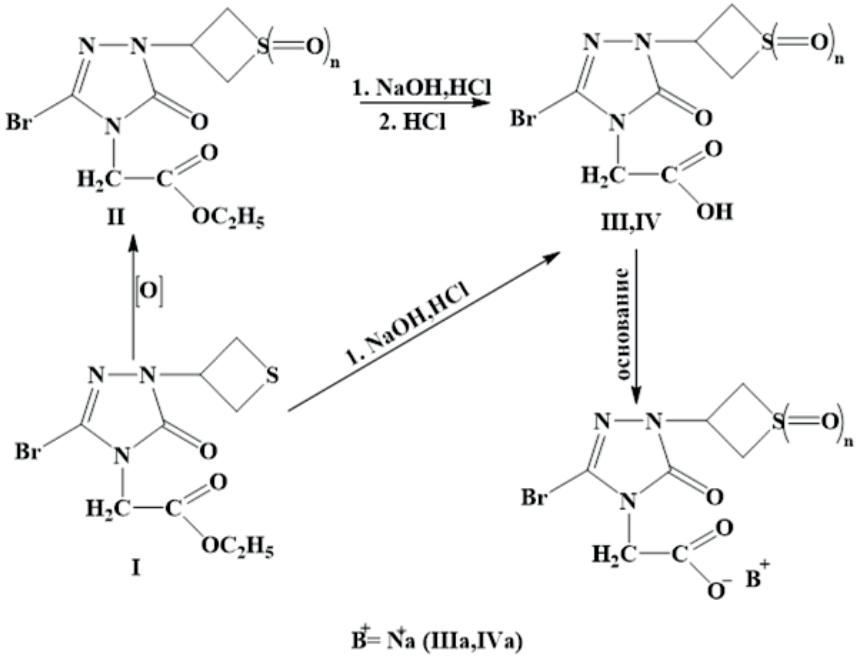


Рисунок 1. Схема синтеза натриевых солей тиетансодержащих 2-[5-бром-2,4-дигидро-3-оксо-1,2,4-триазолил-4]уксусных кислот

Инфракрасные (ИК) спектры сняты на спектрометре Инфралюм ФТ-02 в таблетках с бромидом калия. Температура плавления измерена на приборе SMP 30. Спектры ЯМР ^{1}H сняты на приборе Bruker AM-500 с рабочей частотой по протонам 500,13 МГц. В качестве внутреннего стандарта использованы сигналы растворителей. Индивидуальность полученных соединений подтверждена методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Sorbfil» ПТСХ-П-А-УФ в системе хлороформ:этанол (объемное соотношение 9:1), гексан:этанол (5:5), пятна проявляли парами йода во влажной камере. Характеристики синтезированных соединений и данные спектров приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристики и данные спектров натриевых солей тиетансодержащих 2-[5-бром-2,4-дигидро-3-оксо-1,2,4-триазолил-4]уксусных кислот

Соединение	$T_{пл}$, °C	Rf	Выход, %	Данные спектров
III	228-230	0**	77	ИК-спектр, ν_{max}, см$^{-1}$: 994, 1220 (C-N); 1136 и 1320 (SO_2); 1527 (C=N); 1396 и 1608 (COO^-); 1697(C=O). Спектр ЯМР ^{1}H (ДМСО-d_6), δ, м.д. (J, Гц): 3,75 (2H, с, CH_2CO), 4,47-4,53 (2H, м, $S(CH_2)$), 4,64-4,72 (2H, м, $S(CH_2)$), 5,02-5,08 (1H, м, NCH).
IV	205-207	0**	58	ИК-спектр, ν_{max}, см$^{-1}$: 1106 и 1223 (C-N); 1139 и 1320 (SO_2); 1541 (C=N); 1424, 1627 (COO^-); 1722 (C=O). Спектр ЯМР ^{1}H (ДМСО-d_6), δ, м.д. (J, Гц): 3,84 (2H, с, CH_2CO), 4,47-4,53 (2H, м, $S(CH_2)$), 4,65-4,75 (2H, м, $S(CH_2)$), 5,00-5,10 (1H, м, NCH).

ЯМР ^{1}H – спектры солей **IIIa, IVa** содержат сигналы протонов тиетанового цикла в характерных областях: 3.2-3.3 м.д., 3.7-3.8 м.д.; тиетандиоксидного цикла в 4.4-4.5 м.д., 4.6-4.7 м.д. Синглетные протоны группы CH_2CO остатка уксусной кислоты находятся около 3.8-3.9 м.д. В ИК-спектрах натриевых солей **IIIa, IVa** зарегистрированы полосы поглощения валентных колебаний связи C=O-группы триазольного цикла в интервале 1697-1722 см$^{-1}$. Валентные колебания связей карбоксилат-иона зарегистрированы в интервале 1396-1627 см$^{-1}$.

Прогнозирование биологической активности проводили в компьютерной системе PASS Online [5]. Результаты прогноза (рис. 2) показали, что натриевые соли **IIIa, IVa** с вероятностью от 0,2 до 0,4 могут ингибировать гематопоэз и фермент веномбин АВ и действовать как антагонисты рецепторов фибриногена.

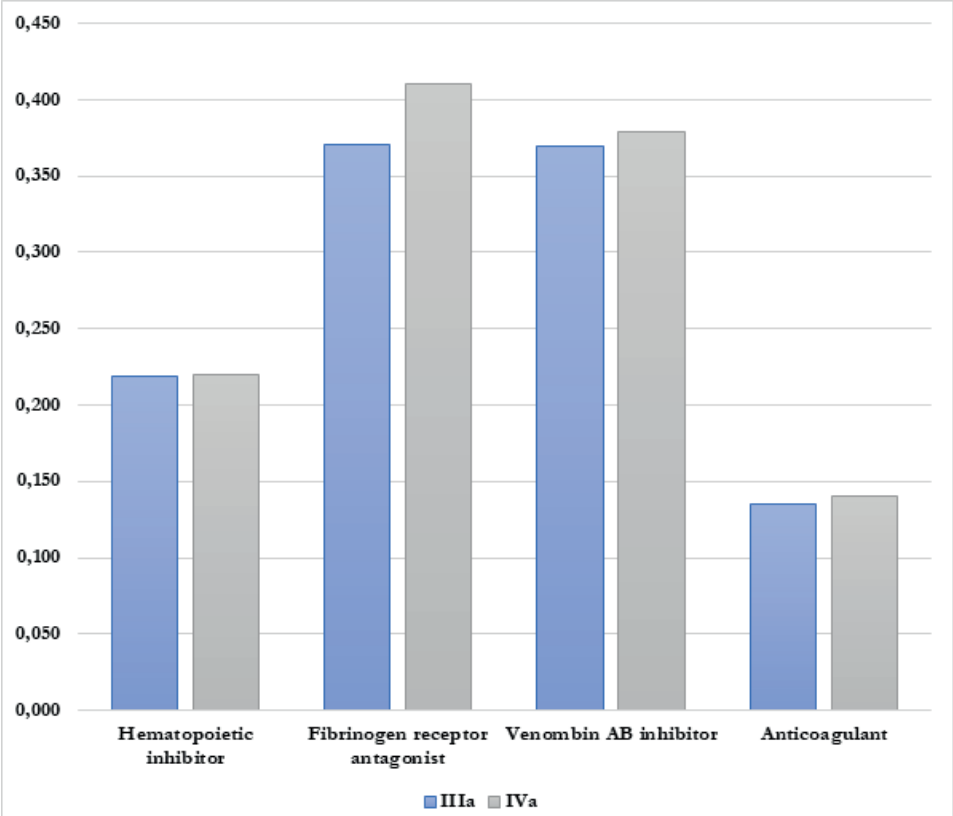


Рисунок 2. Результаты прогноза биологической активности синтезированных натриевых солей тиетансодержащих 2-[5-бром-2,4-дигидро-3-оксо-1,2,4-триазолил-4]уксусных кислот в компьютерной программе PASS Online

Соединения **IIIa**, **IVa** были проанализированы на соответствие «правилу пяти» Липинского, на наличие токсических рисков и индекса «drug-likeness» в программе Osiris Data Warrior [6] с целью выявления соединений, способных дать «лекарственный кандидат» после испытаний *in vivo*. Установлено, что синтезированные соли **IIIa**, **IVa** являются потенциально нетоксичными веществами, т.е. не должны обладать мутагенным, онкогенным, местнораздражающим действием и характеризоваться репродуктивной токсичностью. Показатель «Drug-likeness» синтезированных соединений имеет отрицательные значения, что свидетельствует об отсутствии лекарственных средств схожей структуры (табл. 2).

Таким образом, на основе реакций тиетансодержащих 2-[5-бром-2,4-дигидро-3-оксо-1,2,4-триазолил-4]уксусных кислот с гидроксидом натрия, разработаны методы синтеза соответствующих солей. На основании результатов биологического прогноза в программе PASS, токсических рисков и физико-химических свойств установлено, что синтезированные соединения **IIIa, IVa** являются перспективными для создания на их основе новых антиагрегантов.

Таблица 2 – Прогноз токсичности, «drug-likeness», и соответствие «правилу пяти» Липинского синтезированных соединений в программе «Osiris DataWarrior»

Соединение	Токсические риски*	logP	Drug-likeness**	Mol weight	TPSA	nOH (число акцепторов водорода)	nOHNH (число доноров водорода)
IIIa	-	-2,26	-7,21	316,1	101,34	6	0
IVa	-	-4,05	-5,54	376,1	135,6	9	0

ЛИТЕРАТУРА

1. Erlikh A.D. Anticoagulants and antiaggregants in the COVID-19 era // Aterotromboz = Atherothrombosis. 2021. N 1. P 58-66. (In Russian)

2. Попова Л.В., Бокарев И.Н. Применение антиагрегантов в клинической практике// Практическая медицина. 2014. N 6. С. 22-28.

3. Гуревич Г., Ураков А.Л., Розит Г.А., Клен Е.Э., Самородов А.В., Халиуллин Ф.А. Синтез, антиагрегантная и антикоагулянтная активность солей тиетансодержащих 2-[5-бром-2,4-дигидро-3-оксо-1,2,4-триазолил-4]уксусных кислот. Хим.-фарм. журн. 2021. N 55 (5). С. 3-8.

4. Гильманова А.Г., Клен Е.Э., Халиуллин Ф.А., Синтез и прогноз биологической активности производных 2-[5-бром-3-оксо-2-(тиетанил-3)-1,2,4-триазолил-4]уксусной кислоты // Башкирский химический журнал. 2012. Т. 19 N 1. С. 53-56.

5. Filimonov D.A., Lagunin A.A., Gloriozova T.A., Rudik A.V., Druzhilovskii D.S., Pogodin P.V., Poroikov V.V. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2014. Vol. 50 (3). P. 444-457.

6. Lipinsky C.A. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 2000. Vol.44. P. 235-249.

SUMMARY

THE SEARCH OF NEW ANTIAGGREGANTS AMONG THIETANE-CONTAINING 2-[5-BROMO-2,4,-DIHYDRO-3-OXO-1,2,4-TRIAZOLYL-4]ACETIC ACIDS

Rosit G.A., second-year graduate student, **Nazargulov A.S.**, 5th year student
Supervisor: **Klen E.E.**, PhD, associated professor
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education
«Bashkir State Medical University» Ministry of Health of Russia,
Department of Pharmaceutical Chemistry with courses of analytical and toxicological chemistry
3 Lenina str., Ufa, 45008, Russian Federation
E-mail: rozit1993@mail.ru

Thietane containing salts of 2-[5-bromo-2,4-dihydro-3-oxo-1,2,4-triazolyl-4]acetic acids were obtained by the reaction of 2-[5-bromo-2,4-dihydro-3-oxo-2-(thietanyl-3)-1,2,4-triazolyl-4]- and 2-[5-bromo-2,4-dihydro-3-oxo-2-(1,1-dioxothietanyl-3)-1,2,4-triazolyl-4]acetic acids with sodium hydroxide. The structure of the synthesized compounds was confirmed by IR and NMR spectroscopy. The synthesized compounds IIIa, IVa are promising for development new antiaggregants according to the results of biological prediction in the PASS program, toxic risks and physicochemical properties.

REFERENCES

1. Erlikh A.D. Anticoagulants and antiaggregants in the COVID-19 era // Aterotromboz = Atherothrombosis. 2021. N 1. P 58-66. (In Russian)

2. Popova L.V., Bokarev I.N. Application of antiaggregants in clinical practice // Practical Medicine. 2014. N 6. C. 22-28.

3. Gurevich G., Urakov A.L., Rozit G.A., Klen E.E., Samorodov A.V., Haliullin F.A. Sintez, antiagregantnaya i antikoagulyantnaya aktivnost' solej tietansoderzhashchih 2-[5-brom-2,4-digidro-3-okso-1,2,4-triazolil-4]uksusnyh kislot. Him.-farm. zhurn. 2021. N 55 (5). P. 3-8. (in Russian)

4. Gilmanova A.G., Klen E.E., Khaliullin F.A., Synthesis and prediction of biological activity of 2-[5-bromo-3-oxo-2-(tietanyl-3)-1,2,4-triazolyl-4]acetic acid derivatives // Bash.chem. 2012. T. 19, N 1. C. 53-56.

5. Filimonov D.A., Lagunin A.A., Gloriozova T.A., Rudik A.V., Druzhilovskii D.S., Pogodin P.V., Poroikov V.V. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2014. Vol. 50 (3). P. 444-457.

6. Lipinsky C.A. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 2000. Vol.44. P. 235-249.

УДК 54:547.8

СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 4,4а И 3,4-ДИГИДРОКСАНТЕН-2-ИЛКАРБОНИТРИЛОВ

Пыпа Ю.В., студ. 4 курса, **Лукьяненко В.И.**, асп. 3 года обучения
Руководитель: **Чернов Н.М.**, канд. хим. наук, ст. науч. сотр.
«Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: yuliya.pypa@spcpu.ru

Опираясь на [4+2]-циклоприсоединение как на уже известный и удобный способ получения дигидроксантонов, был изучен синтез их новых 4,4а- и 3,4-производных, содержащих нитрильную группу. Было показано, что образование в ходе реакции 4,4а- либо 3,4-производного можно контролировать, подавляя изомеризацию добавлением уксусной кислоты. В результате, соответствующие 4,4а- и 3,4-дигидроксантоны были выделены с выходами 57-73% и 63-78%.

Ключевые слова: *[4+2]-циклоприсоединение, реакция Дильса-Альдера, дигидроксантон, енамин, [1,5]-сигматропный сдвиг, винилхромон.*

Ксантон представляет собой трициклическую кислородсодержащую гетероциклическую систему. Из всех возможных изомеров именно 4,4а-дигидроксантоны (рисунок 1) вызывают наибольший интерес, поскольку многие представители данной группы соединений обладают биологической активностью, в частности, иммуносупрессорной, цитотоксической и прочими [1,2].

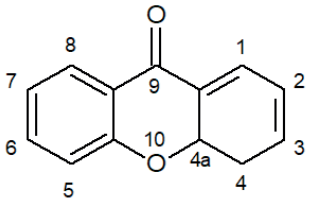


Рисунок 1. 4,4а-Дигидроксантон

Подход к синтезу дигидроксантонов был предложен Bodwell [3], проводившим исследования в области циклоприсоединения. Однако несмотря на то, что были подобраны условия для получения 3,4-дигидроксантонов, проблемой стало получение именно 4,4а-производных, поскольку они обладали склонностью к [1,5]-сигматропному сдвигу и изомеризовались в 3,4-дигидропроизводные. Благодаря дальнейшим исследованиям на кафедре органической химии СПХФУ данный метод был модифицирован [1,2], и стало возможным получение 4,4а-дигидроксантонов с карбоксильной группой **3** с хорошими выходами, при это не было отмечено склонности к изомеризации (рисунок 2). Проанализировав полученные данные, был сделан вывод, что именно вторичный амин, выделяющийся в реакции, способствует [1,5]-сдвигу, и только в случае карбоксильных производных данный амин переходил в форму соли и уже не способствовал изомеризации.

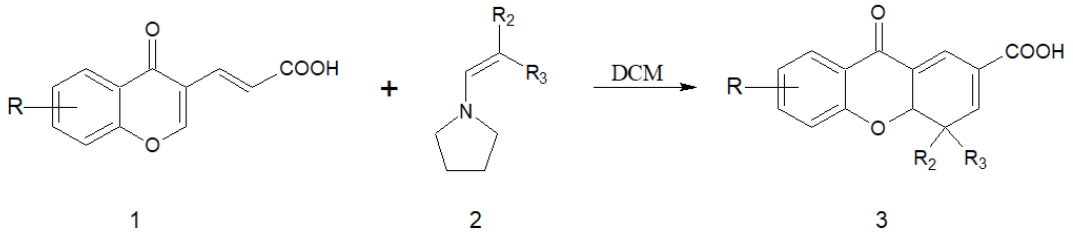


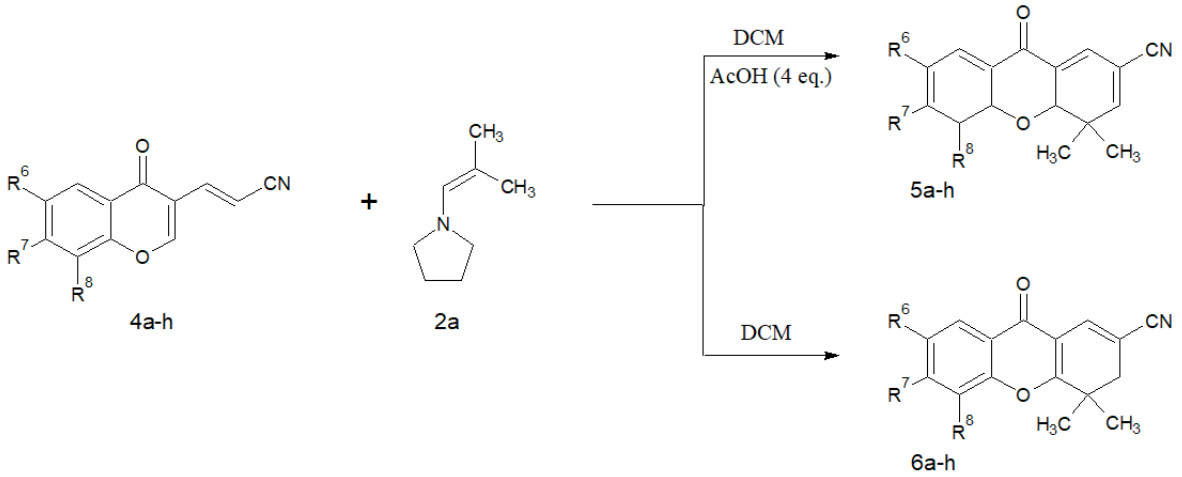
Рисунок 2. Синтез дигидроксантонов на основе хромонакриловых кислот

Исходя из этого, ранее удалось решить проблему с получением 4,4а-дигидроксантонов с эфирной группой путем добавления в реакционную массу ледяной уксусной кислоты (4 экв.), которая связывала выделяющийся амин в соль. Таким образом, целью дальнейших исследований стало получение производных с нитрильной группой. Поскольку данная группа имеет явно более сильное акцепторное влияние (почти в два раза больше, чем эфирная и карбоксильная группа по константам Гаммета), требуется проверка границ применимости ранее разработанной методики для производных хромонилакрилонитрилов.

Обсуждение результатов

Объектами исследования стали хромонилакрилонитрилы **4a-h,** отличающиеся заместителями в положениях R^6, R^7 и R^8 ароматического ядра. Данные соединения вводили в реакцию с енамином **2a** в среде ДХМ при температуре 20 С°. При этом в первом ряде опытов в реакционную массу добавлялась ледяная уксусная кислота (4 экв.) для подавления изомеризации. Конец реакции контролировали по ТСХ (этилацетат/гексан=1/1) на пластинах Silufol-UV-254, детектирование в

УФ-свете. Конечные продукты выделяли закислением реакционной массы с последующей кристаллизацией из этанола. Строение полученных соединений доказано с помощью спектроскопии ЯМР на ядрах ^{1}H и ^{13}C, анализ проводился на спектрометре Bruker AM-400.



R^6, R^7, R^8=Cl, H, H (**a**); Br, H, H (**b**); F, H, H(**c**); Me ,H, H(**d**); H, H, H(**e**); Me, Me, H(**f**); MeO, H, H(**g**); H, Bn(**h**)

Рисунок 3. Схема получения 3,4 и 4,4a-дигидроксантонов 3a-h и 4a-h

В результате в ходе первого ряда опытов удалось с выходами 57-73% выделить соответствующие 4,4a-дигидроксантоны **5a-h**, в то время как основными продуктами второго ряда экспериментов являлись производные 3,4-дигидроксантона **6a-h** (выход 63-78%). В обоих случаях реакция протекала в течение 7-20 часов, при чем электроноакцепторные заместители ускоряли протекание реакции, а электронодонорные, напротив, замедляли его.

Заключение

Таким образом, был получен ряд новых производных 4,4a- и 3,4-дигидроксантонов, содержащих нитрильную группу. Было показано, что подавление изомеризации с помощью уксусной кислоты, продемонстрированное ранее для сложных эфиров, с тем же успехом может быть применено и для нитрилов хромонилакриловых кислот.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.00.00 Химия
31.21.27 Гетероциклические соединения

ЛИТЕРАТУРА

1. Synthetic Route to 4,4a- and 3,4-Dihydroxanthones through [4+2] Cycloaddition and Base-Assisted Sigmatropic Rearrangemen / N.M. Chernov [et al.] // European Journal of Organic Chemistry [Internet]. 2017. N 19. P. 2836–41. Available from: http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.201700310

2. Synthesis of Chromone-Containing Allylmorpholines through a Morita-Baylis-Hillman-Type Reaction / N.M. Chernov [et al.] // European Journal of Organic Chemistry [Internet]. 2018 N 45. P. 6304–13. Available from: http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.201801159

3. Bodwell G.J., Hawco K.M., da Silva R.P. Electron Deficient Dienes 3:Rapid Access to 2-Hydroxybenzophenones via Inverse Electron Demand Diels-Alder-Driven Domino Reactions of a Chromone-Fused Electron Deficient Diene with Enamines // Synlett [Internet]. 2003. N 2. P.0179–0182. Available from: http://dx.doi.org/10.1055/s-2003-36800

SUMMARY

SYNTHESIS OF 4,4a AND 3,4-DIHYDROXANTHENE-2-YLCARBONITRILLE DERIVATIVES

Pypa Y.V., 4th year student, **Lukyanenko V.I.**, 3rd year PhD student
Academic advise: **Chernov N.M.,** Candidate of chemical sciences, Senior Scientific Researcher
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: yuliya.pypa@spcpu.ru

Based on [4+2]-cycloaddition as an already known and convenient method of preparation of dihydroxanthones, the synthesis of their new 4,4a- and 3,4-derivatives containing a nitrile group was studied. It was found that the formation of 4,4a- or 3,4-derivative during the reaction can be controlled by suppressing the isomerization by adding acetic acid. As a result, 4,4a- and 3,4-dihydroxanthones were isolated in 57-73% and 63-78% yields.

Keywords: *[4+2]-cycloaddition, Diels-Alder reaction, dihydroxanthone, enamine, [1,5]-sigmatropic shift, vinylchromone.*

REFERENCES

1. Synthetic Route to 4,4a- and 3,4-Dihydroxanthones through [4+2] Cycloaddition and Base-Assisted Sigmatropic Rearrangemen / N.M. Chernov [et al.] // European Journal of Organic Chemistry [Internet]. 2017. N 19. P. 2836–41. Available from: http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.201700310

2. Synthesis of Chromone-Containing Allylmorpholines through a Morita-Baylis-Hillman-Type Reaction / N.M. Chernov [et al.] // European Journal of Organic Chemistry [Internet]. 2018 N 45. P. 6304–13. Available from: http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.201801159

3. Bodwell G.J., Hawco K.M., da Silva R.P. Electron Deficient Dienes 3:Rapid Access to 2-Hydroxybenzophenones via Inverse Electron Demand Diels-Alder-Driven Domino Reactions of a Chromone-Fused Electron Deficient Diene with Enamines // Synlett [Internet]. 2003. N 2. P.0179–0182. Available from: http://dx.doi.org/10.1055/s-2003-36800

УДК 54:547.8

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 3-ФОРМИЛХРОМОНА С ЭТИЛ-1Н-ТЕТРАЗОЛ-5-ИЛАЦЕТАТА

Сельцова Е.М., студ. 4 курса
Руководитель: **Чернов Н.М.**, канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: Elizaveta.Selcova@spcpu.ru

Рассмотрены особенности реакции Кнёвенагеля производных 3-формилхромонов с этил-1Н-тетразол-5-илацетатом при разных условия её проведения. При этом не удалось получить ожидаемый 3-винилхромон, который далее подвергался рециклизации с образованием производных тетразоло[1,5-*a*]пиридина и хромено[2,3-*b*]пиридина.

Ключевые слова: *реакция Кнёвенагеля, рециклизация, тетразол, 3-формилхромон.*

Производные 3-винилхромонов в последние годы зарекомендовали себя как удобные и многоцелевые структурные блоки, которые используют для построения различных гетероциклических систем [1]. При этом получение самих 3-винилхромонов наиболее удобно проводить, используя конденсацию Кнёвенагеля с производными 3-формилхромонов. Таким образом, с целью расширения ряда целевых соединений и их дальнейшего использования, была исследована реакция замещенных 3-формилхромонов **1** с этиловым эфиром тетразол-5-уксусной кислоты **2** (рис. 1).

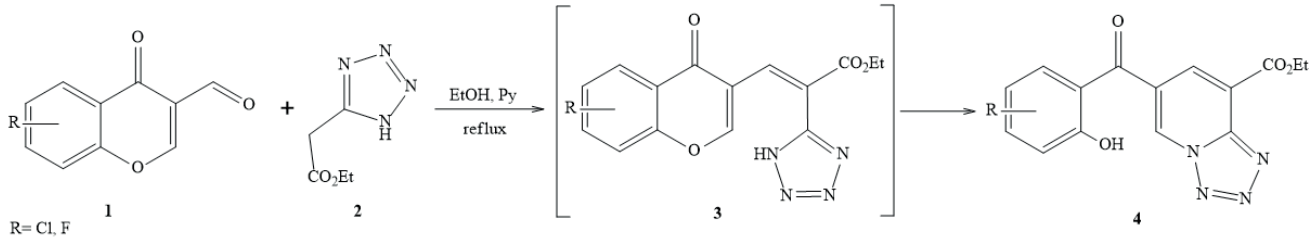


Рисунок 1. Ожидаемый и выделенный продукт реакции Кнёвенагеля

Реакцию вели в этаноле при катализе пиридином. Контроль хода реакции осуществлялся методом ТСХ на пластинах Silufol-UV-254, детектирование в УФ-свете. Вопреки ожиданиям, выделить 3-винилхромон **3** не удалось. Вместо этого в качестве основного продукта было получено соединение **4**, которое с помощью спектроскопии ЯМР ^{1}H и ^{13}C было охарактеризовано как производное тетразоло[1,5-*a*]пиридина **4**. Выход его составил 41-45%.

Проведение той же реакции в менее нуклеофильных условиях, а именно в уксусной кислоте с ацетатом натрия, привело к получению производных хромено[2,3-*b*]пиридинов **5** (рисунок 2) с выходом 40-42%. Наиболее вероятно, что данные соединения представляют собой продукт термической перегруппировки тетразолопиридинов **4**.

Интересно, что структура хромено[2,3-b]пиридина лежит в основе ряда противовоспалительных средств, в частности амлексанокса [2]. Таким образом, найденный метод конструирования данных структур может оказаться более выгодным, чем известные схемы синтеза. Так, синтез амлексатокса выполняется из замещенного 3-формилхромона в 3-5 стадий [2]. Разработанный же нами метод предполагает построение хромено[2,3-b]пиридиновой системы из 3-формилхромонов **1** путем каскадного одностадийного синтеза.

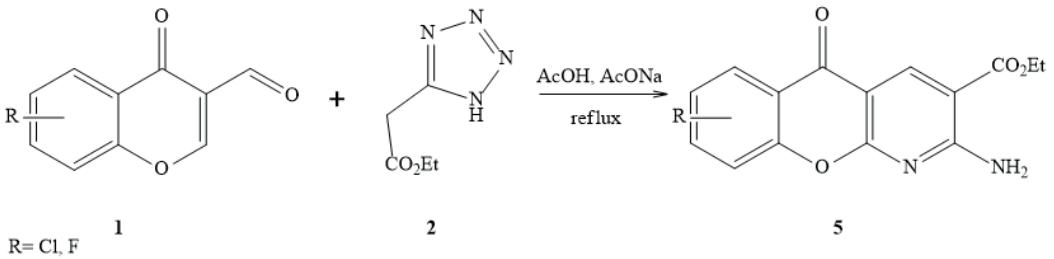


Рисунок 2. Результаты проведения реакции Кнёвенагеля в среде уксусной кислоты

Таким образом, исследование реакция Кнёвенагеля между замещенными 3-формилхромонов и этилтетразол-5-илацетатом позволила обнаружить новые методы построения таких гетероциклических систем, как тетразоло[1,5-*a*]пиридин и хромено[2,3-*b*]пиридин.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.00.00 Химия
31.21.27 Гетероциклические соединения

ЛИТЕРАТУРА

1. Plaskon A.S., Grygorenko O.O., Ryabukhin S.V. Recyclizations of 3-formylchromones with binucleophiles // Tetrahedron. 2012. N 68. P. 2743 – 2757. DOI: 10.1016/j.tet.2012.01.077
2. Studies on Antianaphylactic Agents. Synthesis of antiallergic 5-oxo-5H-[1]benzopyrano[2,3-b]pyridines/ A. Nohara [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. 1985. Vol. 28(5) P. 559-568. DOI: 10.1021/jm50001a005

SUMMARY

FEATURES OF THE INTERACTION OF 3-FORMYLCHROMONE DERIVATIVES WITH ETHYL-1H-TETRAZOL-5-YLACETATE

Seltsova E.M., 4th year student
Academic advise: **Chernov N.M.**, Candidate of chemical sciences, Senior Scientific Researcher
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: Elizaveta.Selcova@spcpu.ru

The features of the Knoevenagel reaction of 3-formylchromone derivatives with ethyl 1H-tetrazol-5-ylacetate under different conditions are considered. At the same time, it was not possible to obtain the expected 3-vinylchromone, which was further subjected to recyclization with the formation of tetrazolo[1,5-a]pyridine and chromeno[2,3-b]pyridine derivatives.
Keywords: *Knoevenagel reaction, recyclization, tetrazole, 3-formylchromone.*

REFERENCES

1. Plaskon A.S., Grygorenko O.O., Ryabukhin S.V. Recyclizations of 3-formylchromones with binucleophiles // Tetrahedron. 2012. N 68. P. 2743 – 2757. DOI: 10.1016/j.tet.2012.01.077
2. Studies on Antianaphylactic Agents. Synthesis of antiallergic 5-oxo-5H-[1]benzopyrano[2,3-b]pyridines/ A. Nohara [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. 1985. Vol. 28(5) P. 559-568. DOI: 10.1021/jm50001a005

УДК 547.745

СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРРОЛИДИН-2,5-ДИОНА, ОБЛАДАЮЩИХ АНАЛЬГЕЗИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ

Труханова Ю.А., студ. 2 курса магистратуры (ORCID: 0000-0002-4335-4488)
Руководители: **Яковлев И.П.,** доктор хим. наук, профессор
Лалаев Б.Ю., кандидат хим. наук
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.14, лит А, Российская Федерация
E-mail: truhanova.yuliya@pharminnotech.com

Описан химический синтез 1-фенил(арилимино)метил)пирролидин-2,5-дионов. Методами ЯМР ^{1}H, ^{13}C и рентгеноструктурного анализа (РСА) доказано их строение. С применением компьютерной программы Pass-online получен про-

гноз спектра биологической активности синтезированных соединений. Для 1-фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-диона подтверждена анальгезирующая активность методом *in vivo* на лабораторных мышах.

Ключевые слова: *N-арилбензамидины, янтарный ангидрид, анальгезирующая активность.*

Производные пирролидин-2,5-диона имеют широкий спектр биологической активности [1] и являются важными соединениями в медицинской химии [2,3,4,5,6] так как легко проникают через биологические мембраны [7]. В связи с этим получение новых производных данного класса является актуальным. Из литературы известно несколько способов синтеза *N*-замещенных пирролидин-2,5-дионов [8,9]. На наш взгляд, технически более простой метод синтеза заключается во взаимодействии ангидридов соответствующих дикарбоновых кислот с первичными аминами [10].

Целью работы стала разработка эффективного метода получения новых *N*-замещенных производных пирролидин-2,5-диона на основе реакции ангидрида янтарной кислоты с *N*-арилбензамидинами, изучение их строения и биологической активности.

Материалы и методы

Синтез целевых продуктов осуществлен в лабораторных условиях на товарном сырье квалификации «х.ч.». *N*-арилбензамидины синтезированы на кафедре органической химии нашего университета (СПХФУ) [11].

Тонкослойную хроматографию для доказательства индивидуальности соединения и полноты прохождения реакции выполняли на пластинах Silicagel 60 F254 (Merck), элюент – этилацетат-гексан (2:1), проявление в УФ свете. Температуру плавления определяли капиллярным методом и не корректировали.

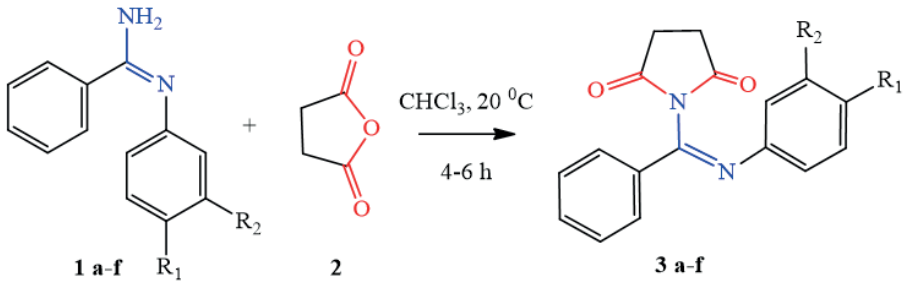
Спектры ЯМР ^{1}H и ^{13}C растворов соединений в ДМСО-d6 регистрировали на спектрометре Bruker Avance III (400,13 МГц для ^{1}H и 100,62 МГц для ^{13}C) относительно ТМС (^{1}H, ^{13}C) в качестве внутреннего стандарта.

Рентгеноструктурное исследование проводилось с использованием оборудования ресурсного центра рентгеноструктурных методов исследования Санкт-Петербургского государственного университета.

Результаты и их обсуждение

Разработана методика синтеза 1-фенил(арилимино)метил)пирролидин-2,5-дионов **3 a-f**. Было установлено, что оптимальным условием образования *N*-замещенных производных пирролидин-2,5-диона из *N*-арилбензамидинов и ангидрида янтарной кислоты является применение неполярных растворителей, таких как дихлорметан, хлороформ. Использование полярных протонных растворителей не приводит к образованию желаемого продукта.

Синтез 1-фенил(арилимино)метил)пирролидин-2,5-дионов **3 a-f** осуществляли при температуре окружающей среды в среде дихлорметана или хлороформа (схема 1).



R_1: H (a), Me (b),OMe (c), Br (d), NO_2 (e)
R_2: H (a-e), Cl (f)

Схема 1. Получение 1-фенил(арилимино)метил)пирролидин-2,5-дионов 3 a-f

Ход реакции контролировали методом ТСХ. Выход целевых продуктов составлял от 56 до 89 % в пересчете на *N*-арилбензамидин. Строение всех полученных соединений было доказано методами спектроскопии ЯМР ^{1}H и ^{13}C.

*Характеристика и спектральные данные соединений **3 a-f.***

1-(фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-дион **3a** $C_{17}H_{14}N_2O_2$; Порошок бежевого цвета; Выход 83 %; т. пл. 172-174 °C. NMR^{1}H δ, ppm: 2.48 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 2.88 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 6.77 (d, 2H, J=7.0 Hz), 7.16 (t, 1H, J=7.4 Hz), 7.36 (t, 2H, J=7.8 Hz), 7.54 (t, 2H, J=7.4 Hz), 7.64 (t, 1H, J=7.4 Hz), 7.98 (d, 2H, J=7.0 Hz); NMR^{13}Cδ, ppm: 29.13, 119.27, 125.45, 128.62, 128.68, 129.45, 132.97, 133.13, 147.70, 147.81, 176.29.

1-(фенил(п-толилимино)метил)пирролидин-2,5-дион **3b** $C_{18}H_{16}N_2O_2$; Порошок бежевого цвета; Выход 89 %; т. пл. 110-112°C. NMR ^{1}H δ, ppm: 2.29 (s, 3H), 2.54 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 2.90 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 6.70 (d, 2H, J=8.0 Hz), 7.17 (d, 2H, J=8.0 Hz), 7.53 (t, 2H, J=7.6 Hz), 7.62 (t, 1H, J=7.4 Hz), 7.97 (d, 2H, J=8.0 Hz); NMR ^{13}C δ, ppm: 20.97, 21.02, 29.16, 119.35, 119.41, 128.53, 128.58, 129.39, 129.95, 132.79, 133.33, 134.59, 145.25, 147.18, 176.32.

1-(((4-метоксифенил)имино)(фенил)метил)пирролидин-2,5-дион **3c** $C_{18}H_{16}N_2O_3$; Порошок светло коричневого цвета; Выход 77 %; т. пл. 111-113 °C. NMR^{1}H δ, ppm: 2.58 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 2.91 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 3.75 (s, 3H), 6.78 (d, 2H, J=8.8 Hz), 6.94 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.52 (t, 2H, J=7.5 Hz), 7.61 (t, 1H, J=7.3 Hz), 7.95 (d, 2H, J=7.2 Hz); NMR^{13}Cδ, ppm: 29.21, 55.60, 55.69, 114.77, 121.09, 128.44, 129.35, 132.64, 133.51, 140.71, 146.68, 157.30, 176.39.

1-(((4-бромфенил)имино)(фенил)метил)пирролидин-2,5-дион **3d** $C_{17}H_{13}BrN_2O_2$; Порошок бежевого цвета; Выход 63 %; т. пл. 118-120 °С. NMR ^{1}H δ, ppm: 2.53 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 2.91 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 6.75 (d, 2H, J=7.0 Hz), 7.55(m, 4H), 7.64 (t, 1H, J=7.4 Hz), 7.98 (d, 2H, J=7.4 Hz); NMR ^{13}C δ, ppm: 29.21, 117.89, 121.65, 128.78, 129.46, 132.44, 132.94, 133.17, 146.97, 148.25, 176.27.

1-(((4-нитрофенил)имино)(фенил)метил)пирролидин-2,5-дион **3e** $C_{17}H_{13}N_3O_4$ Порошок темно коричневого цвета; Выход 56 %; т. пл. 170-172 °С. NMR^{1}H δ, ppm:2.58 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 2.88 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 6.98 (d, 2H, J=18.0 Hz), 7.57 (t, 2H, J=7.7 Hz),), 7.68 (t, 1H, J=7.4 Hz), 8.02 (d, 2H, J=7.8 Hz),8.26 (d, 2H, J=7.3 Hz); NMR^{13}C δ, ppm: 29.22, 120.41, 125.51, 129.12, 129.56, 132.42, 133.69, 144.82, 149.35, 149.35,153.66, 176.19.

1-(((3-хлорфенил)имино)(фенил)метил)пирролидин-2,5-дион **3f** $C_{17}H_{13}ClN_2O_2$; Порошок серого цвета; Выход 66 %; т. пл. 88-90 °С. NMR^{1}H δ, ppm: 2.54 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 2.93 (dd, 2H, J=4.6, 18.0 Hz), 6.71 (d, 1H, J=18.0 Hz), 6.84 (s, 1H),7.24 (d, 1H, J=7.9 Hz), 7.40 (t, 1H, J=7.8 Hz), 7.55 (t, 2H, J=7.6 Hz), 7.66 (t, 1H, J=7.3 Hz), 7.99 (d, 2H, J=7.8 Hz); NMR^{13}C δ, ppm: 29.20, 117.63, 119.55, 119.61, 125.30, 128.84, 128.89, 129.49, 131.27, 132.74, 133.33, 133.78, 148.86, 176.25.

Для 1-фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-диона **3a** был проведен рентгеноструктурный анализ (рис. 1).

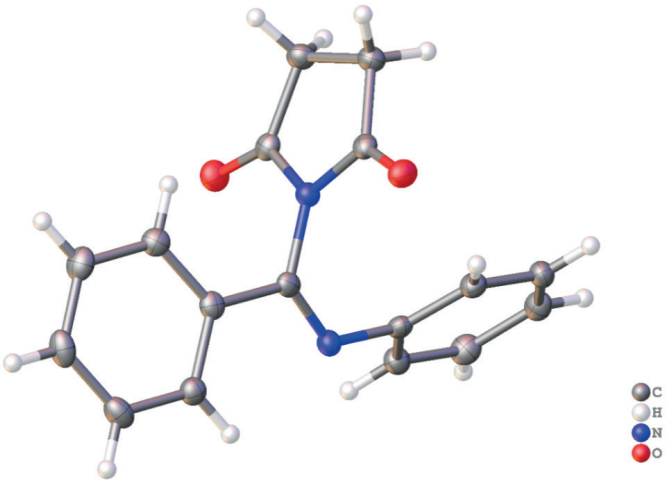


Рисунок 1. Структура соединения 3a по данным рентгеновской дифракции

Согласно скринингу биологической активности, основанному на программном обеспечении Pass-online, рассматриваемые соединения, а именно 1-фенил(арилимино) метил)пирролидин-2,5-дионы **3 a-f**, могут обладать анальгезирующей активностью. Для 1-фенил(фениламино)метил)пирролидин-2,5-диона **3a** анальгезирующая активность была изучена *in vivo* на лабораторных мышах. Исследование показало, что **3a** обладает выраженной анальгезирующей активностью, действуя при болях, вызванных химическими раздражителями-альгогенами (модель перитовисцеральной боли) и превосходит референтный препарат (метамизол натрия) в 1,6 раза.

Заключение

1. Разработаны методики получения новых *N*-замещенных производных пирролидин-2,5-диона **3 a-f** на основе реакции *N*-арилбензамидинов и ангидрида янтарной кислоты.

2. С использованием спектроскопии ЯМР ^{1}H,^{13}C и рентгеноструктурного анализа доказано строение полученных соединений.

3. Для соединения **3a** изучена анальгезирующая активность на лабораторных мышах. Показано, что она превосходит референтный препарат (метамизол натрия) в 1,6 раза.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.21.00 Органическая химия

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Enantioselective Synthesis of Succinimides by Michael Addition of 1,3-Dicarbonyl Compounds to Maleimides Catalyzed by a Chiral Bis(2-aminobenzimidazole) / E. Gómez-Torres [et al.] // Organocatalyst European J. Org. Chem. 2013. Vol. 8. P. 1434-1440. DOI: 10.1002/ejoc.201201046

2. Nefzi A., Ostresh J.M., Houghten R.A., The Current Status of Heterocyclic Combinatorial Libraries // Chem Rev. 1997. Vol. 97(2). P. 449-472. DOI: 10.1021/cr960010b

3. Synthesis and central nervous system depressant activity of some bicyclic amides / P. Aeberli // Journal of Medicinal Chemistry. 1976. Vol. 19(3). P. 436–438. DOI:10.1021/jm00225a023

4. Hall I.H., Wong O.T., Scovill J.P. The cytotoxicity of N-pyridinyl and N-quinolinyl substituted derivatives of phthalimide and succinimide // Biomed &Pharmacother. 1995. Vol. 49(5). P. 0–258. DOI:10.1016/0753-3322(96)82631-x

5. Bile acid amides derived from chiral amino alcohols: novel antimicrobials and antifungals / G. Hazra Braja [et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2004. Vol. 14(3). P. 773–777. DOI:10.1016/j.bmcl.2003.11.018

6. Coram W.M., Brezenoff H.E.The antihypertensive effect of a selective central muscarinic cholinergic antagonist: N-(4-diethylamino-2-butynyl)-succinimide// Drug Development Research. 1983. Vol. 3(6). P. 503–516. DOI:10.1002/ddr.430030603

7. Indanylidenes. Design and Synthesis of 2-(4,6-Difluoro-1-indanylidene)acetamide, a Potent, Centrally Acting Muscle Relaxant with Antiinflammatory and Analgesic Activity / Musso David L. [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. Vol. 46(3). P. 399–408. DOI:10.1021/jm020067s

8. Synthesis, in silico docking experiments of new 2-pyrrolidinone derivatives and study of their anti-inflammatory activity / Panagiota Moutevelis-Minakakis [et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2011. Vol. 19(9). P. 2888–2902. DOI:10.1016/j.bmc.2011.03.044

9. Synthesis and biological properties of new N-Mannich bases derived from 3-methyl-3-phenyl- and 3,3-dimethyl-succinimides. Part V. / Kamiński Krzysztof [et al.] // European Journal of Medicinal Chemistry. 2013. Vol. 66. P. 12–21. DOI:10.1016/j.ejmech.2013.05.011

10. New phthalimide derivatives with potent analgesic activity: II. / Roberto Antunes [et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 1998. Vol. 8(21). P. 3071–3076. DOI:10.1016/s0960-894x(98)00558-7

11. Synthesis and Structure of Aroylamidinesand N-Arylbenzamidines Hydrochlorides / E.V. Kuvaeva // J. Org. Chem. 2011. Vol. 48(2). P. 209-213, DOI: 10.1134/S1070428012020091

SUMMARY

SYNTHESIS OF NEW PYRROLIDINE-2,5-DIONE DERIVATIVES WITH ANALGESIC ACTIVITY

Trukhanova Yu.A., 2nd year master student
ORCID: 0000-0002-4335-4488
Supervisors: **Yakovlev I.P.,** Doctor of Chemical Sciences, Professor; **Lalaev B.Yu.,** Candidate of Chemical Sciences
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: truhanova.yuliya@pharminnotech.com

The chemical synthesis of 1-phenyl(arylimino)methyl)pyrrolidine-2,5-diones is described. Their structure was revealed by ^{1}H and ^{13}C NMR and X-ray diffraction analysis (XRD). With the biological application of the Pass-online computer program, the viral activity of the synthesized infections was obtained. For 1-phenyl(phenylimino)methyl)pyrrolidine-2,5-dione, the analgesic activity of the method in vivo on laboratory mice was confirmed.

Keywords: *N-arylbenzamidines, succinic anhydride, analgesic activity.*

REFERENCES

1. Enantioselective Synthesis of Succinimides by Michael Addition of 1,3-Dicarbonyl Compounds to Maleimides Catalyzed by a Chiral Bis(2-aminobenzimidazole) / E. Gómez-Torres [et al.] // Organocatalyst European J. Org. Chem. 2013. Vol. 8. P. 1434-1440. DOI: 10.1002/ejoc.201201046

2. Nefzi A., Ostresh J.M., Houghten R.A., The Current Status of Heterocyclic Combinatorial Libraries // Chem Rev. 1997. Vol. 97(2). P. 449-472. DOI: 10.1021/cr960010b

3. Synthesis and central nervous system depressant activity of some bicyclic amides / P. Aeberli // Journal of Medicinal Chemistry. 1976. Vol. 19(3). P. 436–438. DOI:10.1021/jm00225a023

4. Hall I.H., Wong O.T., Scovill J.P. The cytotoxicity of N-pyridinyl and N-quinolinyl substituted derivatives of phthalimide and succinimide // Biomed &Pharmacother. 1995. Vol. 49(5). P. 0–258. DOI:10.1016/0753-3322(96)82631-x

5. Bile acid amides derived from chiral amino alcohols: novel antimicrobials and antifungals / G. Hazra Braja [et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2004. Vol. 14(3). P. 773–777. DOI:10.1016/j.bmcl.2003.11.018

6. Coram W.M., Brezenoff H.E.The antihypertensive effect of a selective central muscarinic cholinergic antagonist: N-(4-diethylamino-2-butynyl)-succinimide// Drug Development Research. 1983. Vol. 3(6). P. 503–516. DOI:10.1002/ddr.430030603

7. Indanylidenes. Design and Synthesis of 2-(4,6-Difluoro-1-indanylidene)acetamide, a Potent, Centrally Acting Muscle Relaxant with Antiinflammatory and Analgesic Activity / Musso David L. [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. Vol. 46(3). P. 399–408. DOI:10.1021/jm020067s

8. Synthesis, in silico docking experiments of new 2-pyrrolidinone derivatives and study of their anti-inflammatory activity / Panagiota Moutevelis-Minakakis [et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2011. Vol. 19(9). P. 2888–2902. DOI:10.1016/j.bmc.2011.03.044

9. Synthesis and biological properties of new N-Mannich bases derived from 3-methyl-3-phenyl- and 3,3-dimethyl-succinimides. Part V. / Kamiński Krzysztof [et al.] // European Journal of Medicinal Chemistry. 2013. Vol. 66. P. 12–21. DOI:10.1016/j.ejmech.2013.05.011

10. New phthalimide derivatives with potent analgesic activity: II. / Roberto Antunes [et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 1998. Vol. 8(21). P. 3071–3076. DOI:10.1016/s0960-894x(98)00558-7

11. Synthesis and Structure of Aroylamidinesand N-Arylbenzamidines Hydrochlorides / E.V. Kuvaeva // J. Org. Chem. 2011. Vol. 48(2). P. 209-213, DOI: 10.1134/S1070428012020091

Секция 2. Современные подходы к контролю качества лекарственных средств, РЛС и биологически активных добавок

Контроль качества, эффективности и безопасности лекарственных средств является одной из стратегических целей в сфере здравоохранения. Это связано в первую очередь с тем, что от качества фармпрепаратов напрямую зависят результаты лечения и здоровья населения России. Проверка качества и разработка новых эффективных лекарственных средств невозможны без соответствующей лабораторной базы и владения современными методами контроля. Существенную роль играют научные исследования, посвященные изучению перспективных биологически активных субстанций природного происхождения, установлению их строения с использованием современных физико-химических методов, оценке фармакологической активности in vivo и in silico, разработке и валидации аналитических методик контроля качества, установлению критериев стандартизации.

11 апреля 2022 года в рамках XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» состоялось заседание секции «Современные подходы к контролю качества лекарственных средств, лекарственного растительного сырья и биологически активных добавок». На заседании были представлены лучшие доклады по результатам 1 этапа конференции, проходившем в подразделениях СПХФУ – кафедре аналитической химии, кафедре фармацевтической химии и кафедре фармакогнозии с привлечением внешних участников из Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербургского государственного лесотехнического университета, Российского Университета Дружбы народов (РУДН), Кемеровского государственного медицинского университета, Пермской государственной фармацевтической академии, Сибирского государственного медицинского университета, Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета. На 1 этапе был представлен 41 доклад, из которых на заседание объединенной секции были отобраны 14.

Открыл заседание секции эксперт, представитель работодателя Чуднов Анатолий Андреевич – ведущий инженер-химик 1-ой категории АО «Вертекс». Во вступительном слове была дана характеристика АО «Вертекс», как одному из системообразующих предприятий Санкт-Петербурга и России, отмечена важность в работе предприятия отдела Служба качества.

В рамках основной повестки заседания предполагалось заслушать 14 докладов, но в итоге было представлено 13 сообщений, так как один из докладчиков не смог присутствовать на заседании. Представленные на заседании результаты научных исследований были получены в ходе работы на кафедрах фармакогнозии, биохимии, аналитической химии, фармацевтической химии, технологии лекарственный форм СПХФУ, в лаборатории клеточных механизмов гемостаза крови ИЭФБ РАН (Санкт-Петербург), на кафедрах фармакогнозии и фармакологии Пермской государственной фармацевтической академии. Все доклады были подготовлены на высоком уровне, сопровождены наглядными и информативными презентациями, продемонстрировали глубокие знания и свободное владение материалом у докладчиков. Каждый доклад вызывал неподдельный интерес у слушателей, сопровождался вопросами, а в некоторых случаях и оживленной дискуссией.

Члены жюри секционного заседания отметили интересные и актуальные тематики представленных докладов, подчеркнули практическую значимость и научность обсуждаемых проблематик. Привлекли внимание доклады Пронина Н.А., Анисимова С.О., Викман П.С., Блиновой С.А., Поповой Е.А. В результате продолжительного обсуждения с учетом решающего голоса эксперта лучшей работой был признан доклад аспиранта 1 года обучения ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России Викман Полины Сергеевны на тему

Секция 2. Современные подходы к контролю качества лекарственных средств, РЛС и биологически активных добавок

«Проблема возникновения недостоверных результатов лабораторных исследований на психоактивные вещества, вызванная перекрестными реакциями с лекарственными препаратами мебеверина».

Мы благодарим всех докладчиков, которые принимали участие в заседании секции, научных руководителей, эксперта секции, преподавателей и поздравляем победителя! Желаем участникам конференции не останавливаться на достигнутом, быть настойчивыми в достижении своих целей и покорять новые вершины в учебе и науке!

Модератор секции
Жохова Елена Владимировна,
и. о. заведующего кафедрой фармакогнозии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,
кандидат фармацевтических наук, доцент

УДК 54:543.544-414.6

ПОЛУЧЕНИЕ СОРБЕНТОВ НА ОСНОВЕ СИЛИКАГЕЛЯ МЕТОДОМ СБОРКИ НА ПОВЕРХНОСТИ: ГАЛОГЕНИРОВАНИЕ СИЛИКАГЕЛЯ

Анисимов С.О., студ. 3 курса бакалавриата
Научный руководитель: **Никоноров В.В.**, к.х.н., доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: sergej.anisimov@spcpu.ru

В ходе проведенных исследований изучено влияние условий модификации сорбента на степень галогенирования силанольных групп поверхности силикагеля. Выявлено, что при оптимальных условиях синтеза количество введенных атомов галогена составляет порядка 0,8 ммоль/г.

Ключевые слова: *ионообменная хроматография, сорбент с привитыми группами, модификация силикагеля, катионообменник, колоночная хроматография, хроматографическое разделение.*

Актуальной задачей аналитической химии является разработка современных подходов к контролю качества лекарственных средств и биологически активных добавок, многие из которых содержат неорганические ионы или органические соединения с ионными группами. Одним из эффективных методов определения указанных соединений является метод ионообменной хроматографии, включенный в Государственную Фармакопею РФ XIV издания (ГФ РФ XIV издания ОФС.1.2.1.2.0008.18 Ионообменная хроматография) [1].

Сульфокатионообменники на основе силикагелей, применяемые в качестве неподвижной фазы для ионообменной хроматографии, имеют ряд преимуществ по сравнению с сорбентами на основе полимерных носителей: они имеют жесткий силикатный каркас, выдерживающий высокие давления, в них не происходит осмосоподбное поглощение элюента матрицей и, таким образом, не создается сопротивление потоку подвижной фазы и не ухудшаются массообменные процессы. [2]

В литературе имеются сведения об успешном применении силикагелей с привитыми сульфогруппами для разделения многокомпонентных смесей редкоземельных металлов [3], а также ряда противовоспалительных препаратов. Таким образом, данные сорбенты могут найти широкое применение в сорбционном концентрировании и хроматографическом разделении катионов металлов, витаминов, алкалоидов, антибиотиков и других соединений, содержащихся в лекарственных препаратах, биологически активных добавках и биологических объектах.

Цель данной работы – оптимизировать условия галогенирования силикагеля для получения сорбентов методом сборки на поверхности.

Для достижения указанной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Изучить источники литературы;
2. Получить химически модифицированный силикагель в различных условиях синтеза;
3. Провести количественный анализ полученных образцов сорбента;
4. По экспериментальным данным выбрать оптимальные условия синтеза.

В синтезе химически модифицированных кремнеземов можно выделить два основных подхода – метод иммобилизации и метод сборки на поверхности [4]. В первом случае модификация происходит в одну стадию, в ходе которой образуется связь между атомом кремния и якорной группой – группой, ответственной за фиксацию прививаемой молекулы на поверхности сорбента.

Данный подход неприменим к синтезу сульфокатионообменников на основе силикагелей, т.к. якорная и сульфогруппы химически взаимодействуют друг с другом, следовательно, невозможно получить модификатор, содержащий одновременно обе группы [3]. В связи с этим применяется многостадийный метод поверхностной сборки.

Сначала силикагель активируется галогенирующими агентами за счет создания реакционоспособной связи Si – X (X = Cl, Br). Затем на поверхности силикагеля с помощью соответствующих литий- или магнийорганических реагентов иммобилизируется соединение, содержащее якорь и фрагмент, не реагирующий с поверхностью кремнезёма. На третьей стадии этот фрагмент модифицируется путем сульфирования ароматического кольца или присоединением гидросульфит-иона по двойной связи, приводящим к образованию концевой сульфогруппы. Общая схема синтеза представлена на рисунке.

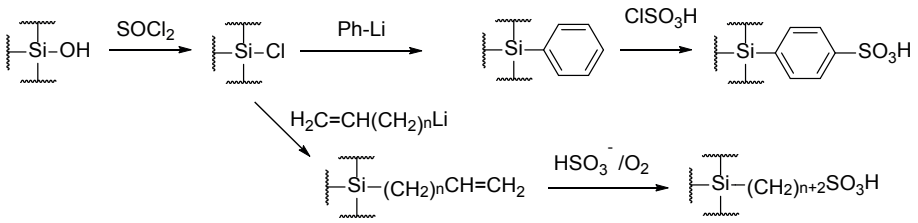


Рисунок. Схема получения модифицированных силикагелей методом сборки на поверхности

Поскольку степень галогенирования силанольных гидроксилов силикагеля в конечном итоге влияет на количество привитых ионообменных групп и сорбционные характеристики сорбента, в данной работе нами изучалось влияние условий синтеза: растворителя, температуры, времени выдержки и природы галогенирующего агента на количество введенных атомов галогенов.

Объектом исследования служил силикагель марки «Silasorb» (Чехия) с размером частиц 40-100 мкм. Все используемые растворители и реактивы имели квалификацию не ниже «ч.д.а.» и использовались без дальнейшей очистки.

Перед проведением синтеза точную навеску силикагеля массой 0,5-1,5 г помещали во взвешенную круглодонную колбу и нагревали под вакуумом водоструйного насоса для удаления сорбированной воды, затем снова взвешивали. Средняя потеря массы при высушивании образцов составила 10 масс. %

После удаления воды немедленно проводили хлорирование по следующей методике: в колбу с силикагелем добавляли 10-15 мл используемого растворителя, затем 1 мл тионилхлорида. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и реакционную смесь нагревали при кипении в течение минимум 1 часа. Образец №3 предварительно выдерживали в течение двух суток при комнатной температуре.

При проведении бромирования необходимый галогенирующий агент – тионилбромид – получали in situ, пропуская сухой бромоводород через реакционную смесь, содержащую силикагель, хлористый тионил и растворитель. За основу взята известная методика получения тионилбромида [5].

По окончании галогенирования органический слой сливали, остаточные реагент и растворитель удаляли при нагревании силикагеля под вакуумом.

Для анализа образцы обрабатывали дистиллированной водой, взвесь фильтровали на бумажном фильтре, силикагель на фильтре промывали. Полученный фильтрат количественно переносили в мерную колбу и доводили до метки дистиллированной водой.

Количественное определение галогенид-ионов проводили аргентометрическим титрованием по Мору, предварительно нейтрализуя аликвоты до pH 7-8 с помощью 4М раствора ацетата натрия (контроль по индикаторной бумаге). Количество остаточных сернистых соединений определяли обратным иодиметрическим титрованием в присутствии крахмала. Для каждого образца проводилось не менее трех параллельных измерений.

Результаты количественного анализа образцов силикагеля, модифицированного в различных условиях представлены в таблице.

Таблица – Результаты титриметрического анализа образцов галогенированного силикагеля

	Растворитель	Галогенирующий агент	Время хлорирования	Содержание галогенидов, ммоль/г	Присутствие сернистых соединений
1	н-гексан	тионилхлорид	1 час	1,90	+
2	н-гексан	тионилхлорид	1 час	0,792	-
3	н-гексан	тионилхлорид	2 суток при комнатной температуре +1 час при кипении	1,11*	+
				0,818	-
4	н-гексан	тионилхлорид	1 час 1 час (повторно)**	0,699 0,710	-
5	н-гексан	Смесь тионилхлорида и тионилбромида	1 час	0,630 ***	-
6	о-ксилол	тионилхлорид	1 час	0,682	-
7	н-декан	тионилхлорид	1 час	0,949	-
8	ДМФА	тионилхлорид	1 час	0,706	-

*До удаления сернистых соединений
** После хлорирования по стандартной методике образец был высушен, проанализирован и повторно хлорирован
*** Указанно суммарное содержание хлорид- и бромид-ионов

При подборе метода определения хлоридов было выяснено, что титрование по Фаянсу в присутствии флуоресцеина субъективно дает более четкий переход окраски в точке конца титрования, однако имеет ряд ограничений. В частности, на модельном стандартном растворе хлорида натрия установлено, что при наличии в анализируемой пробе менее 0,1 ммоль хлоридов, переход окраски индикатора виден заметно хуже, что приводит к перетитровке. Кроме того, по невыясненным причинам при анализе реального образца силикагеля точка конца титрования вовсе не обнаруживалась, несмотря на ожидаемое содержание хлоридов в аликвоте более 0,1 ммоль. При титровании по Мору в присутствии хромата калия не возникало указанных проблем.

Количественный анализ образцов 1 и 3 показал содержание хлоридов, превышающее ожидаемое, кроме того сходимость результатов титрования каждого образца отсутствовала. После слива растворителя и слабого нагревания под вакуумом в течение 10-15 минут в пробах сорбента присутствовал выраженный резкий запах. На основании изложенного сделано предположение о наличии в образцах остаточного хлористого тионила или иных сернистых соединений, завышающих содержание хлоридов. По результатам редокс-титрования содержание сернистых соединений составляло от 0,1 до 0,4 ммоль/г.

Силикагели, подвергнутые после синтеза длительному нагреванию (не менее получаса) при высокой температуре не содержали указанные примеси, имели более низкое содержание хлоридов, результаты параллельных измерений проб

были сходимыми. В связи с этим количественное определение галогенидов в образцах 2, 4-8 производилось только после длительного нагревания и проверки на наличие сернистых соединений.

Исходя из экспериментальных данных, наиболее подходящим растворителем для галогенирования силикагеля является н-гексан. Применение н-декана позволило несколько увеличить содержание хлоридов в образце, однако важно учитывать, что при использовании высококипящих растворителей возникают трудности с удалением их из образца, даже под вакуумом, а также в ходе синтеза происходит потемнение реакционной массы. о-ксилол и диметилформамид не имеют преимуществ перед н-гексаном в описанном синтезе.

Выяснено, что оптимальное время синтеза составляет один час. Предварительное выдерживание реакционной смеси, а также повторная обработка тионилхлоридом не приводят к увеличению количества галогенидов, привитых на поверхность силикагеля. В связи с этим можно предположить, что при однократной обработке в течение часа происходит исчерпывающее превращение свободных силанольных групп.

Применение тионилбромида как более активного галогенирующего агента не привело к увеличению концентрации галогенидов на поверхности сорбента.

В результате данного исследования были подобраны оптимальные условия галогенирования силикагеля, включающие обработку сорбента тионилхлоридом в гексане в течение одного часа, найдены подходяще методы количественного анализа образцов. Отработанная методика галогенирования сорбента в дальнейшем может быть использована для получения сульфокатионообменников на основе силикагелей.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.15.35 Поверхностные явления. Адсорбция. Хроматография. Ионный обмен

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. [Электронный ресурс] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14

2. The preparation, properties and some applications of bonded ion-exchange packings based on microparticulate silica gel for high-performance liquid chromatography / G.B. Cox [et al.] // Journal of Chromatography A. 1976. N 117(2). P. 269–278. http://dx.doi.org/10.1016/0021-9673(76)80003-9

3. Nikonorov VV, Kazakov VA, Evsyutina TV. Synthesis of silica-based sulfonic cation-exchangers by the reaction of the addition of hydrosulfite ions to immobilized alkenes and their use in chromatography // Journal of Analytical Chemistry. 2010. N 65(4). P.352–358. http://dx.doi.org/10.1134/s1061934810040039

4. Лисичкин Г.В. Модифицированнные кремнеземы в сорбции, катализе и хроматографии. М.: Химия, 1986. 246 с.

5. Booth H.S. Inorganic Syntheses. Vol.1. John Wiley & Sons, Inc. 1939. doi.org/10.1002/9780470132326

SUMMARY

SYNTHESIS OF SILICA-BASED SORBENTS BY THE SURFACE ASSEMBLING METHOD: HALOGENATION OF SILICA

Anisimov S.O. 3rd year bachelor student
Academic advise: **Nikonorov V.V.,** Candidate of chemical sciences, senior lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: sergej.anisimov@spcpu.ru

In the course of the conducted studies, the influence of sorbent modification conditions on the degree of halogenation of silanol groups of the silica surface was studied. It is revealed that under optimal synthesis conditions, the number of introduced halogen atoms is of the order of 0,8 mmol/g.

Keywords: *ion-exchange chromatography, sorbent with grafted groups, silica modification, cation-exchanger, column chromatography, chromatographic separation.*

REFERENCES

1. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV ed. Vol. 1. [Internet] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (in Russian).

2. The preparation, properties and some applications of bonded ion-exchange packings based on microparticulate silica gel for high-performance liquid chromatography / G.B. Cox [et al.] // Journal of Chromatography A. 1976. N 117(2). P. 269–278. http://dx.doi.org/10.1016/0021-9673(76)80003-9

3. Nikonorov VV, Kazakov VA, Evsyutina TV. Synthesis of silica-based sulfonic cation-exchangers by the reaction of the addition of hydrosulfite ions to immobilized alkenes and their use in chromatography // Journal of Analytical Chemistry. 2010. N 65(4). P.352–358. http://dx.doi.org/10.1134/s1061934810040039

4. Lisichkin G.V. Modified Silicas in Adsorption, Catalysis and Chromatography. M.: Chemistry, 1986. 246 p. (in Russian)

5. Booth H.S. Inorganic Syntheses. Vol.1. John Wiley & Sons, Inc. 1939. doi.org/10.1002/9780470132326

УДК 61.615.4

ОЦЕНКА КРИТИЧНОСТИ ВЫПОЛНЕНИЯ ТРЕБОВАНИЙ НОРМАТИВНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ КАК ЧАСТЬ РАЗРАБОТКИ ЧЕК-ЛИСТА ПРОЦЕДУРЫ АНАЛИЗА ПРОЕКТНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

Арончик Е.Д., магистрант 1-го года обучения
Научный руководитель: **Басевич А.В.**, канд. фарм. наук, доцент
Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: aronchik.ekaterina@pharminnotech.com

В качестве одного из этапов разработки чек-листа процедуры анализа проектной документации проведена оценка критичности выполнения требований нормативной документации: разработана шкала оценки, проанализированы требования Правил надлежащей производственной практики ЕАЭС, каждому требованию, выполнение или невыполнение которого возможно оценить в рамках процесса квалификации проекта, присвоен определенный уровень критичности.

Ключевые слова: *чек-лист, квалификация проекта, DQ, квалификация, проектная документация.*

На этапе квалификации проекта (Design Qualification, DQ) проводится оценка и подтверждение того, что предлагаемый проект соответствует требованиям нормативной документации, а проектируемые помещения, системы или оборудование пригодны для их предусмотренного использования. Однако в нормативных документах практически не приводится информация о том, какие именно элементы составляют процесс квалификации проекта, и на какие аспекты необходимо обратить внимание при его проведении. Поэтому разработка чек-листа данной процедуры является актуальным и перспективным направлением работы.

Целью данной работы является проведение оценки критичности выполнения требований Правил надлежащей практики (GMP) ЕАЭС в качестве одного из основных этапов разработки чек-листа процедуры анализа проектной документации на фармацевтическом предприятии.

Для реализации данной цели необходимо выполнить следующие задачи:

1) Разработать шкалу критичности выполнения требований нормативной документации;

2) Проанализировать требования, приведенные в Правилах надлежащей производственной практики ЕАЭС;

3) Оценить критичность выполнения тех требований Правил надлежащей производственной практики ЕАЭС, которые возможно проверить в ходе проведения квалификации проекта.

В качестве примера в данной работе рассматривается проведение оценки критичности выполнения требований GMP, касающихся контроля качества на фармацевтическом производстве.

Первым этапом была разработка системы оценок; в данной работе используется четырехуровневая система оценок, в которой каждый уровень обозначается буквой – A, B, C, D в зависимости от того, насколько велик риск для качества продукции при невыполнении данного требования. Расшифровываются обозначения следующим образом:

1. A – чрезвычайно высокий;
2. B – высокий;
3. C – средний;
4. D – низкий.

Каждому требованию GMP ЕАЭС в области контроля качества, оценка которого может осуществляться в процессе проведения квалификации проекта, присвоен определенный уровень критичности. Также для каждого требования приведены пояснения, в которых указано, как именно в проектной документации может быть отражено выполнение или невыполнение данного требования.

Результаты оценки для наглядности сведены в таблицу, состоящую из четырех частей: наименование пункта правил GMP ЕАЭС, его текст, оценка критичности в соответствии с системой оценок, а также пояснения.

Таблица – Оценка критичности выполнения требований GMP, касающихся контроля качества

Пункт	Текст пункта	Оценка критичности	Пояснения
Часть I. Основные требования			
Глава 1. Фармацевтическая система качества			
1.9.	… должны быть в наличии соответствующие помещения и оборудование, обученный персонал и утвержденные методики для отбора проб, контроля и испытаний исходных материалов, промежуточной, нерасфасованной и готовой продукции, а также (при необходимости) для мониторинга условий производственной среды…	A	В проектной документации должны быть приведены компоновочные решения для отдела контроля качества, на которых будут указаны помещения и их площади, также должна быть информация об оборудовании, которое предполагается использовать в процессе контроля продукции.

Пункт	Текст пункта	Оценка критичности	Пояснения
Глава 3. Помещения и оборудование			
3.5.	Зоны производства, хранения и контроля качества не должны использоваться как проходные для персонала, который в них не работает.	C	Планы административной, производственной и складской зон должны наглядно демонстрировать, что персонал может пройти в доступные ему зоны, минуя зоны, в которых не работает. Также должна быть предусмотрена пропускная система, при которой каждый сотрудник получает доступ только в определенные зоны (например, с помощью электронных пропусков).
3.17.	Контроль в процессе производства можно проводить в производственной зоне, если это не создает риска для технологического процесса.	D	На плане производственных помещений участка должно быть указано помещение/ помещения для производственного контроля, также в проектной документации должна быть приведена информация об оборудовании, инструментах и материалах, используемых при внутрипроизводственном контроле.
3.22.	Как правило, в складских зонах должна быть отдельная зона для отбора проб исходного сырья.	C	В части проектной документации, касающейся складских зон, должна иметься информация о зоне отбора проб сырья и материалов (местонахождение, класс чистоты, наличие материальных и персональных шлюзов, оборудование для отбора проб).
3.26.	Лаборатории контроля качества должны быть отделены от производственных зон.	B	Компоновочные решения производственной части и отдела контроля качества должны наглядно демонстрировать, что лаборатории отделены от производства (к примеру, лаборатории располагаются в административной части здания производства или же в отдельном здании).
3.27.	Контрольные лаборатории должны быть спроектированы таким образом, чтобы соответствовать требованиям к проводимым в них работам. Во избежание перепутывания и перекрестной контаминации они должны иметь достаточную площадь. Необходимо выделить соответствующие и подходящие площади для хранения образцов и записей.	B	В части проектной документации, касающейся контроля качества, должна содержаться информация о помещениях лабораторий и их площадях (это должно быть указано в компоновочном решении отдела контроля качества).
3.28.	Для чувствительных приборов, нуждающихся в защите от вибрации, электромагнитных полей, влажности воздуха и т.д., могут быть предусмотрены отдельные комнаты.	D	Если чувствительные приборы планируется использовать, на планах лабораторных зон должны быть указаны соответствующие помещения для их хранения.
Глава 6. Контроль качества			
6.1.	У каждого производителя должно быть подразделение контроля качества, независимое от других подразделений и отделов.	A	В организационной структуре предприятия должно быть указано подразделение контроля качества, и должно быть показано, что оно независимо от других подразделений и отделов и подчиняется только генеральному директору.
6.5.	Для предотвращения возможности случайной перекрестной контаминации лабораторное оборудование не должно перемещаться между зонами с высокой степенью риска на рутинной основе. В частности, микробиологическая лаборатория должна быть организована таким образом, чтобы свести к минимуму риск перекрестного загрязнения.	C	Соответствующая информация должна быть представлена на плане микробиологической лаборатории.
Часть II. Основные требования к активным фармацевтическим субстанциям, используемым в качестве исходных материалов			
Глава 2. Управление качеством			
2.13.	Необходимо иметь независимый от производственного отдела отдел (отделы) качества, который выполняет функции обеспечения качества и контроля качества. Это могут быть либо отдельные службы обеспечения качества и контроля качества, либо одно лицо или группа лиц в зависимости от размеров и структуры организации.	A	В проектной документации должна иметься информация об отделе качества в том объеме, какой предполагается в зависимости от размеров и структуры организации (обычно данная информация присутствует в части, посвященной организационной структуре предприятия).

Пункт	Текст пункта	Оценка критичности	Пояснения
Глава 4. Здания и помещения			
4.14.	Следует определить конкретные зоны или другие системы контроля для следующих операций: 1) приемка, идентификация, отбор проб и карантин поступающих материалов до выдачи разрешения на использование или до отклонения;	B	На плане складских зон должны быть указаны зоны приемки, идентификации поступающих материалов, а также зона отбора проб и зона карантина.
4.14.	Следует определить конкретные зоны или другие системы контроля для следующих операций: 2) хранение промежуточной продукции и АФС в карантине до выдачи разрешения на выпуск или до отклонения;	B	На плане складских зон должны быть указаны зоны хранения промежуточной продукции и АФС в карантине.
4.14.	Следует определить конкретные зоны или другие системы контроля для следующих операций: 3) отбор проб промежуточной продукции и АФС;	B	На плане складских зон должна быть указана зона отбора проб, ее класс чистоты, наличие материальных и персональных шлюзов, а также зона карантина.
4.14.	Следует определить конкретные зоны или другие системы контроля для следующих операций: 4) хранение отклоненных материалов до избавления от них (например, возврат, повторная обработка или уничтожение);	B	На плане складских зон должна быть указана зона для хранения отклоненных материалов, отделенная от остальной части складской зоны.
4.14.	Следует определить конкретные зоны или другие системы контроля для следующих операций: 5) хранение материалов, которые разрешены к использованию;	B	На плане складских зон должна быть указана зона для хранения разрешенных к использованию материалов.
4.14.	Следует определить конкретные зоны или другие системы контроля для следующих операций: 6) технологические операции;	B	На плане производственной части должны быть указаны зоны/помещения, в которых будет проводится контроль.
4.14.	Следует определить конкретные зоны или другие системы контроля для следующих операций: 7) операции по упаковке и маркировке;	C	На плане производственной части должны быть указаны зоны/помещения, в которых будет проводится контроль операций по упаковке и маркировке.
4.14.	Следует определить конкретные зоны или другие системы контроля для следующих операций: 8) проведение лабораторных анализов.	B	На плане отдела контроля качества должны быть показаны лабораторные зоны, имеющие достаточное количество помещений с достаточной площадью для проведения лабораторных анализов.
4.15.	Следует предусмотреть наличие необходимых помещений для подготовки персонала (мытье рук и др.) и туалетных комнат в достаточном количестве и поддерживать в них чистоту. Умывальники и туалетные комнаты должны быть отделены от производственных зон, но легкодоступны. Следует обеспечить наличие помещений для переодевания и при необходимости для принятия душа.	C	На плане отдела контроля качества должны быть показаны помещения для подготовки персонала и туалетные комнаты, отделенные от зон, где проводится непосредственно контроль продукции и материалов.
4.16.	Лабораторные зоны (работы) следует отделять от производственных зон. Некоторые лабораторные зоны, в частности, зоны, используемые для контроля в процессе производства, можно размещать в производственных зонах при условии, что операции технологического процесса не оказывают неблагоприятного влияния на точность лабораторных измерений, а лабораторные работы не оказывают неблагоприятного воздействия на технологический процесс, промежуточную продукцию или АФС.	D	Компоновочные решения производственной части и отдела контроля качества должны наглядно демонстрировать, что лаборатории отделены от производства (к примеру, лаборатории располагаются в административной части здания производства или же в отдельном здании).
Глава 7. Работа с материалами			
7.34.	Отбор проб необходимо проводить в определенных местах и в соответствии с инструкциями, предназначенными для предотвращения контаминации отобранной пробы и других материалов.	B	На плане производственной части должны быть указаны зоны отбора проб (их местоположение, класс чистоты, наличие материальных и персональных шлюзов, если необходимо).
Глава 19. АФС, предназначенные для клинических исследований (испытаний)			
19.21.	Необходимо организовать независимый от производства отдел (отделы) качества для одобрения или отклонения каждой серии АФС, предназначенной для клинических исследований.	C	Если предприятие/организация занимаются производством АФС, предназначенных для клинических испытаний, в проектной документации должна иметься информация об отделе качества для одобрения или отклонения каждой серии АФС (к примеру, наличие этого отдела должно быть указано в организационной структуре предприятия).

При анализе Правил надлежащей производственной практики ЕАЭС выявлено пятнадцать пунктов, касающихся контроля качества продукции, выполнение или невыполнение которых можно оценить на стадии квалификации проекта. Большая часть требований, приведенных в данных пунктах, имеет средний или высокий уровень критичности; чрезвычайно высокий уровень критичности присвоен пунктам 1.9, 6.1. Части I и пункту 2.13 Части II, в которых прописано, что на предприятии должно быть подразделение контроля качества, независимое от других подразделений.

Таким образом, в ходе данной работы разработана шкала оценки критичности выполнения требований нормативной документации, проанализированы Правила надлежащей производственной практики ЕАЭС и выявлены те пункты Правил, рассмотрение которых возможно на этапе квалификации проекта, каждому из этих пунктов присвоен определенный уровень критичности. Полученные результаты в дальнейшем станут основой для создания чек-листа процедуры квалификации проекта.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

81.81.00 Контроль и управление качеством

ЛИТЕРАТУРА

1. Pharmaceutical Engineering Guide for New and Renovated Facilities. Vol. 5. Commissioning and Qualification. Second Edition. 2019.

2. Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 № 916 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики».

3. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 77 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза».

SUMMARY

ASSESSMENT OF THE CRITICALITY OF IMPLEMENTING THE REQUIREMENTS OF REGULATORY DOCUMENTATION AS A PART OF THE DEVELOPMENT OF A CHECKLIST OF THE PROCEDURE FOR ANALYZING PROJECT DOCUMENTATION IN A PHARMACEUTICAL PRODUCTION

Aronchik E.D., 1st year master student

Academic advise: Basevich A.V., Candidate of Pharmaceutical Sciences, senior lecturer

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation

E-mail: aronchik.ekaterina@pharminnotech.com

As one of the stages in the development of a checklist for the analysis of project documentation, an assessment was made of the criticality of meeting the requirements of regulatory documentation: an assessment scale was developed, the requirements of the Rules of Good Manufacturing Practice of the EAEU were analyzed, each requirement, the fulfillment or non-fulfillment of which can be assessed as part of the project qualification process, was assigned a certain criticality level.

Keywords: *checklist, design qualification, DQ, qualification, project documentation.*

REFERENCES

1. Pharmaceutical Engineering Guide for New and Renovated Facilities. Vol. 5. Commissioning and Qualification. Second Edition. 2019.

2. Order of the Ministry of Industry and Trade of Russia of June 14, 2013 N 916 «On Approval of the Rules of Good Manufacturing Practice». (in Russian)

3. Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission of November 3, 2016 N 77 «On Approval of the Rules of Good Manufacturing Practice of the Eurasian Economic Union». (in Russian)

УДК 61:615.076

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОРОШКИ ОБЫКНОВЕННОЙ ЛИСТЬЕВ *(RUBUS CHAMAEMORUS L.)*

Аюгова А.С., студ. 5 курса

Руководитель: **Дудецкая Н.А.,** канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозии, ORCID: 0000-0002-2304-3236

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация.

E-mail: ayugova.anna@pharminnotech.com

В народной медицине используются различные растения, которые оказываются эффективным средством лечения ряда заболеваний, однако официально не являются источником лекарственного растительного сырья. Одним из таких растений является морошка обыкновенная. В связи с этим, целью настоящей работы стало проведение фармакогности-

ческого анализа листьев морошки обыкновенной для последующего их изучения как лекарственного растительного сырья. Приводится характеристика макро- и микроскопических признаков сырья. Было исследовано наличие и содержание некоторых БАВ. Количественное содержание аскорбиновой кислоты в исследуемом сырье составило 0,024±0,002%, дубильных веществ – 18,53±0,23 %, флавоноидов – 3,46±0,09 %.

Ключевые слова. *Rubus chamaemorus, морошка обыкновенная, фармакогностический анализ, анатомия листа, спектрофотометрия, флавоноиды.*

Заболевания мочеполовой системы в связи с высокой распространенностью представляют собой довольно серьезную проблему здравоохранения. Всего за 2020 год было зарегистрировано 5268 тыс. заболеваний мочеполовой системы у пациентов с диагнозом, установленным впервые в жизни. В общей структуре заболеваемости населения в 2020 году болезни мочеполовой системы заняли 4-ое место, а заболеваемость составила 36,0 случаев на 1000 человек [1].

Основным возбудителем урогенитальных инфекционных патологий является *Esherichia coli*, которую выявляют у 75% пациентов [2]. В последние годы наблюдается рост числа бактериальных штаммов, устойчивых к антибиотикам [3], что создает дополнительные трудности в лечении заболеваний. Вследствие этого поиск новых средств, обладающих антимикробной активностью, является актуальной задачей фармации.

Большой интерес представляет поиск растительного сырья с необходимыми свойствами. Таковым сырьем являются морошки обыкновенной листья. Морошка обыкновенная *(Rubus chamaemorus L.)* относится к семейству Розоцветные *(Rosaceae)* и представляет собой многолетнее травянистое невысокое двудомное растение с длинным корневищем [4]. Растение встречается по всей территории России от Карелии до берегов Тихого океана [5]. В народной медицине все части растения используются для лечения мочекаменной болезни, подагры, респираторных заболеваний, а также при гиповитаминозах. Настои и отвары из листьев применяются как мочегонное, вяжущее и противовоспалительное средство [6]. Однако до сих пор официально морошка не является источником лекарственного растительного сырья.

Листья морошки обыкновенной содержат различные группы полифенольных соединений, в числе которых флавоноиды (агликоны – кверцетин, кемпферол и мирицетин, гликозиды – рутин, кверцетин-3-О-глюкуронид, кверцетин-3-О-глюкозид), гидролизуемые танины (филлантузин G, ламбертианин С, пединкулагин, касуаринин, сангуиин Н-6) и фенолкарбоновые кислоты (эллаговая кислота, галловая кислота, *п*-кумаровая кислота, кофейная кислота, феруловая кислота, изоферуловая кислота) [7-9]. Именно данные группы соединений обуславливают фармакологическую активность листьев морошки. Большинство флавоноидов обладает умеренным диуретическим эффектом, в механизме которого основная роль принадлежит расширяющему действию на сосуды почек. Эллаготаннины, также содержащиеся в листьях морошки, оказывают антимикробное действие, в том числе и в отношении основного патогена мочеполовых инфекций – *Esherichia coli* [10, 11].

Немаловажным моментом является и широкое распространение данного вида сырья на территории России [12], что обеспечивает достаточную для заготовок возобновляемую сырьевую базу.

В связи с этим изучение данного сырья, его стандартизация, определение требований к подлинности, качеству и безопасности являются актуальной задачей. Цель работы – проведение фармакогностического анализа листьев морошки обыкновенной, выращенных на территории питомника лекарственных растений СПХФУ, установление макро- и микроскопических признаков сырья и разработка методики количественного определения основной группы биологически активных веществ для стандартизации листьев морошки обыкновенной.

Объектами исследования служили образцы дикорастущего сырья морошки обыкновенной (*Rubus chamaemorus* L.), заготовленные в естественных местах произрастания на территории питомника лекарственных растений Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета (Ленинградская область, Всеволожский район, Приозерское шоссе, 38 км) в течение вегетационного периода в августе 2019 г. Образцы сырья были высушены воздушно-теневым способом.

Внешний вид листьев изучали невооруженным глазом и с помощью бинокулярной лупы. Макроскопический анализ сырья проводили в соответствии с требованиями ОФС. 1.5.1.0003.15 «Листья» ГФ XIV РФ.

Микроскопический анализ сырья проводили в соответствии с ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» ГФ XIV РФ. Анализировали не менее десяти препаратов, предварительно просветленных в 5% растворе щелочи. Препараты исследовали с поверхности с помощью светового микроскопа Axio Lab.A1 (Zeiss), оснащенного цифровой видеокамерой AxioCam MRc5 с программным обеспечением Zen 2011. Снимки, представленные на рисунках, обрабатывали на компьютере в программе Adobe Photoshop CS5.

Фитохимический анализ методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) проводился с целью идентификации флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в сырье. Для анализа получали извлечение по следующей методике. Около 0,5 г (точная навеска) предварительно обесхлорофилленного сырья экстрагировали 25 мл спирта этилового 40%, 20% и воды. Извлечения фильтровали в колбу. Полученный раствор подвергали хроматографическому исследованию. На ВЭТСХ пластину, на линию старта, находящуюся на расстоянии 0,8 см от нижнего края пластины, поочередно, с помощью полуавтоматического аппликатора LINOMAT 5 наносились по 10 мкл водно-спиртовых вытяжек на пластину №1 и пластину №2 (треки 1, 2 и 1, 2, 3 соответственно), после чего в таком же порядке наносили по 5 мкл растворов стандартных образцов (треки 3, 4, 5, 6, 7 и 4, 5, 6, 8, 9 соответственно). Одинаковая процедура нанесения образцов проводилась для двух ВЭТСХ пластин №1 и №2. Условия хроматографирования для пластин №1 и №2 приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Условия хроматографирования методом ВЭТСХ

№ п/п	Параметры	Значение параметра
1	Время насыщения камеры	20 мин
2	Предварительное кондиционирование пластины	10 мин
3	Позиция фронта растворителя	85 мм
4	Время сушки пластины	10 мин

Элюирование пластины №1 и пластины №2 проводилось в системе БУВ (4:1:2). После элюирования и высушивания, получали цифровые изображения пластин с помощью TLC VISUALIZER 2 при дневном свете, при 254 нм и при 366 нм.

Определение содержания экстрактивных веществ проводили в соответствии с методом 1 ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ XIV РФ.

Количественное определение аскорбиновой кислоты проводили методом капиллярного электрофореза по следующей методике. К навеске измельченного сырья массой 0,5 г (точная навеска) прибавляли 7,5 мл воды очищенной и настаивали в течение 10 мин при периодическом помешивании, после чего фильтровали. Анализ проб проводили на приборе капиллярного электрофореза «Капель-104Т» производства НПП АФ «Люмэкс», с кварцевым капилляром (внутренний диаметр 75 мкм, внешний 365 мкм, общая длина 60 см, эффективная длина 50 см). Для подготовки к работе капилляр промывали последовательно концентрированной HClO4 (10 мин), водой очищенной (5 мин), раствором 4М NaOH (5 мин), водой очищенной (5 мин) и рабочим буфером (10 мин). Пробу вводили давлением 30 мбар в течение 7 с. Электрофореграммы регистрировали с помощью программы «Мультихром for Windows» (версия 1.5). При определении аскорбиновой кислоты использовали следующие условия: боратный буферный раствор (0,05 моль/л, pH=9,18) прямое фотометрическое детектирование (λ=254 нм) и напряжение +20 кВ.

Содержание аскорбиновой кислоты в абсолютно сухом лекарственном растительном сырье в процентах (X) вычисляли по формуле (1):

$$X = \frac{C \cdot V \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot (100 - W) \cdot 1000}, \qquad (1)$$

где С – концентрация аскорбиновой кислоты в сырье, мг/л;

a – навеска лекарственного растительного сырья, г;

V – объем воды очищенной, используемый при однократной обработке лекарственного растительного сырья, мл;

W – влажность лекарственного растительного сырья, %.

Количественное определение дубильных веществ в листьях морошки проводили в соответствии с методом 1 ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ XIV РФ.

Для количественного определения флавоноидов в морошки листьях применяли разработанную методику дифференциальной спектрофотометрии в присутствии комлексообразующего реагента алюминия хлорида. За основу разработанной методики была взята методика определения флавоноидов в траве пастушьей сумки. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре «ОКБ Спектр» СФ-2000 (Россия).

Определение влажности проводили в соответствии с ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Определение золы общей проводили в соответствии с ОФС.1.2.2.2.0013.15 «Зола общая».

Определение золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, проводили в соответствии с ОФС.1.5.3.0005.15 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте».

Статистическую обработку результатов количественных анализов проводили согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента».

Высушенное сырье морошки обыкновенной листья представляет собой смесь цельных или частично измельченных простых одиночных морщинистых листьев, 5–7 лопастных, черешковых, без прилистников. Листовые пластинки почковидные, округло-почковидные, сердцевидные по форме, длиной от 2,0 до 5,0 см, шириной от 3,0 до 7,0 см. Верхушка листа притупленная, основание сердцевидное, почковидное. Край зубчатый, мелкозубчатый, неровно-мелкозубчатый.

Листья морошки обыкновенной амфистоматического типа. Эпидерма состоит из изодиаметричных многоугольных клеток с равномерно утолщенными клеточными стенками (рис. 1, А). Клетки эпидермы вдоль жилок продольно-удлиненные. Устичный аппарат аномоцитного типа с 5-7 околоустьичными клетками и почковидными замыкающими клетками. Листья морошки обыкновенной опушены волосками. Было обнаружено 2 типа волосков: простые длинные нитевидные одноклеточные волоски, железистые головчатые многоклеточные волоски. Простые одноклеточные волоски локализуются на верхней и нижней поверхностях листа вдоль проводящих жилок (рис. 1, Б). На нижней стороне листовой пластинки количество простых одноклеточных волосков больше, они прижаты к поверхности листа. Простые волоски состоят из одной клетки, имеющей широкое основание и узкий, заостренный конец (рис. 1, В). Простые одноклеточные волоски имеют слегка бугристую (бородавчатую) поверхность, внутри содержат полость (рис. 1, Г). Головчатые многоклеточные волоски располагаются на нижней стороне листа вдоль жилок. Головчатые волоски состоят из 5-9 клеточной головки и 8-11 клеточной, слегка изогнутой ножки. Клетки головки располагаются вокруг одной центральной

клетки. У основания волоска ножка состоит из двух рядов клеток, выше к головке – из одного ряда клеток (рис. 1, Д). В основании головчатого многоклеточного волоска располагается розетка из 5-7 клеток (рис. 1, Е).

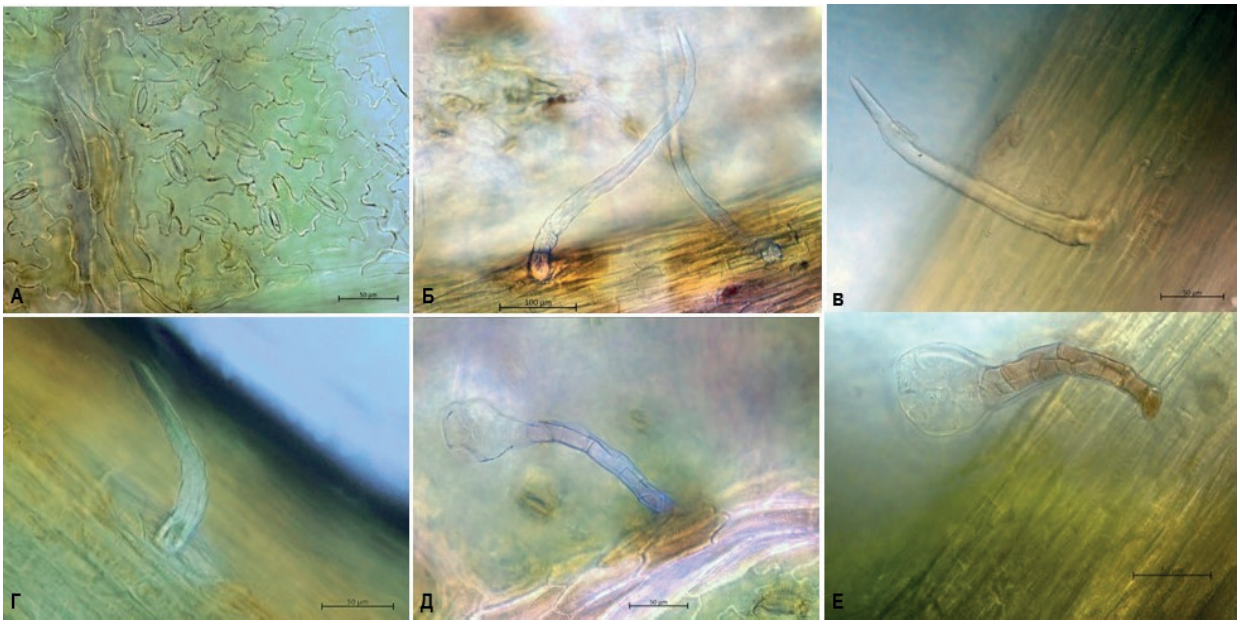


Рисунок 1. Анатомия листа морошки обыкновенной в листьях морошки *(Rubus chamaemorus L.)*
А – Фрагмент абаксиальной эпидермы; Б – Проводящая жилка с простыми одноклеточными волосками;
В – простой одноклеточный волосок; Г – простой одноклеточный волосок с бородавчатой поверхностью;
Д – головчатый многоклеточный волосок; Е – головчатый многоклеточный волосок с розеткой клеток у основания

Был проведен общий фитохимический анализ морошки обыкновенной листьев. Для определения основных групп действующих веществ были использованы общепринятые методы химического анализа. Из листьев получали водные и спирто-водные извлечения, которые подвергали предварительным испытаниям на основные группы БАВ – дубильные вещества, фенольные кислоты, флавоноиды, кумарины, аскорбиновую кислоту, антраценпроизводные, сапонины, азотсодержащие соединения, сердечные гликозиды.

Проведенная реакции на дубильные вещества с раствором желатина 1% в растворе натрия хлорида 10% дала положительный результат, что указывает на наличие данной группы веществ. Характерные эффектры реакций с раствором квасцов железоаммониевых 1%, с раствором свинца ацетата среднего 10% и раствором кислоты уксусной 10% указывают на наличие в сырье гидролизуемых дубильных веществ.

Феноловые кислоты были обнаружены и идентифицированы с помощью метода ВЭТСХ.

С помощью цианидиновой пробы и реакций со спиртовым раствором алюминия хлорида 5%, раствором натрия гидрокарбоната 5%, раствором железа (III) хлорида 1% установлено наличие флавоноидов.

Эффект лактонной пробы для обнаружения кумаринов был отрицательным для исследуемого образца.

Аскорбиновая кислота была обнаружена в сырье с помощью метода капиллярного электрофореза.

Реакция Борнтрегера не дала положительного эффекта, что свидетельствует об отсутствии антраценпроизводных.

При исследовании сапонинов была устойчивая пена в кислой среде, что указывает на наличие тритерпеновых сапонинов.

Появление слабовыраженных осадков или легкой мути с некоторыми из общеалкалоидных реактивов дает основание сделать вывод о наличии небольших количеств азотсодержащих соединений в исследуемом сырье.

Проведенные реакции на сердечные гликозиды (реакции Балье, Легаля, Келлер-Килиани) показали, что образец сырья не содержал данную группу БАВ.

Результаты предварительного фитохимического анализа листьев морошки представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты общего фитохимического анализа листьев морошки обыкновенной *(Rubus chamaemorus L.)*

Группа БАВ	Дубильные вещества	Фенольные кислоты	Флавоноиды	Кумарины	Аскорбиновая кислота	Антраценпроизводные	Сапонины	Алкалоиды	Сердечные гликозиды
Листья Rubus chamaemorus	+	+	+	–	+	–	+	±	–

Примечание: «+» – реакция положительная, эффект четко выражен, «±» – соединения данной группы БАВ обнаружены в следовых количествах; «–» – группа соединений не обнаружена (реакция отрицательна).

По результатам проведенной предварительной фитохимической оценки содержания основных групп биологически активных веществ в листьях морошки были обнаружены: гидролизуемые дубильные вещества, феноловые кислоты, флавоноиды, аскорбиновая кислота, сапонины. Изученные образцы не содержали кумаринов, антраценпроизводных, сердечных гликозидов, алкалоидов (таблица 3.1).

По предварительным результатам фитохимического исследования было отмечено, что листья морошки обыкновенной содержат комплекс БАВ, поэтому целесообразным является определение содержания экстрактивных веществ. В качестве растворителей были использованы вода очищенная, спирт этиловый 95%, 70%, 40%, 20%. Результаты определения содержания экстрактивных веществ представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Содержание экстрактивных веществ в листьях морошки обыкновенной *(Rubus chamaemorus L.)*

Растворитель	Содержание экстрактивных веществ в абсолютно сухом сырье, %
Вода очищенная	46,2±0,11
Спирт этиловый 95%	24,1±0,30
Спирт этиловый 70%	43,8±0,09
Спирт этиловый 40%	46,8±0,18
Спирт этиловый 20%	47,1±0,21

Таким образом, в случае листьев морошки наибольший выход экстрактивных веществ наблюдается при использовании в качестве экстрагента спирта этилового 20 %, наименьший – при использовании спирта этилового 95 % как растворителя.

Качественную оценку содержания флавоноидов и феноловых кислот в листьях морошки проводили с использованием метода ВЭТСХ. Идентификацию пятен веществ проводили путём оценки хроматограмм в видимом и УФ-свете (при 254 нм и 366 нм) в сравнении со значениями факторов удерживания (Rf) соответствующих стандартных образцов (СО). В качестве СО использовали спиртовые растворы флавоноидов (лютеолин, гиперозид, кверцетин, апигенин, рутин) и феноловых кислот (галловая, кофейная, хлорогеновая, п-кумаровая, коричная, эллаговая) с концентрацией 0,1 мг/мл.

В ходе исследования флавоноидного состава листьев морошки методом ВЭТСХ были получены следующие хроматограммы (рис. 2).

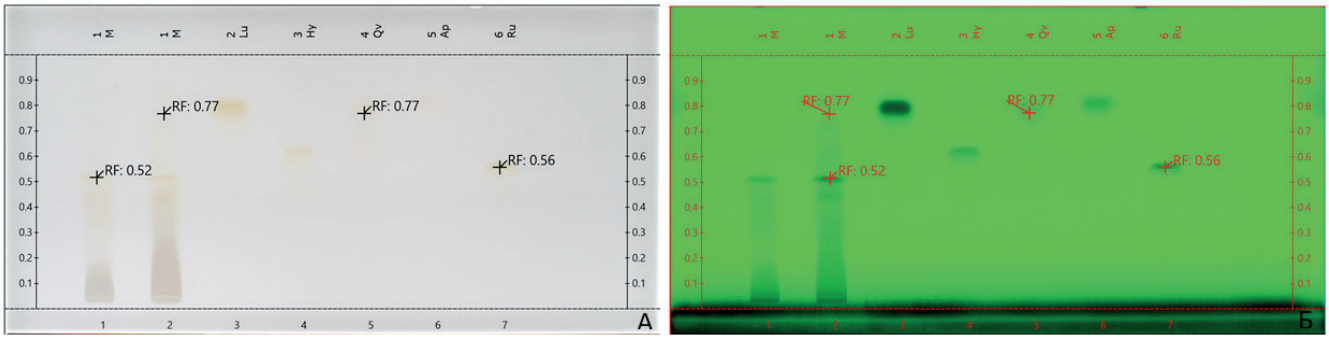


Рисунок 2. Изображение ВЭТСХ пластины №1. Трек 1 и 2 – извлечение 5 мкл и 10 мкл, трек 3 – стандартный раствор лютеолина 5 мкл, трек 4 – стандартный раствор гиперозида 5 мкл, трек 5 – стандартный раствор кверцетина 5 мкл, трек 6 – стандартный раствор апигенина 5 мкл и трек 7 – стандартный раствор рутина 5 мкл.
А – При видимом свете, Б – при длине волны 254 нм

Результаты анализа представлены в таблице 4. Исходя из данных в морошки листьях содержатся кверцетин и рутин.

Таблица 4 – Хроматографическая оценка флавоноидов в листьях морошки обыкновенной *(Rubus chamaemorus L.)*

Исследуемый раствор/пятна	Окраска зон адсорбции			Rf
	Видимый свет	УФ-свет (254 нм)	УФ-свет (366 нм)	
Лютеолин	Желтая	Серая	Коричневая	0,80
Гиперозид	Желтая	Серая	Коричневая	0,64
Кверцетин	**Светло-желтая**	**Светло-серая**	**Зеленая**	**0,77**
Апигенин	Желтая	Серая	Коричневая	0,82
Рутин	**Светло-желтая**	**Серая**	**Коричневая**	**0,56**
Пятно 1	Светло-желтая	Серая	Коричневая	0,52

Исследуемый раствор/пятна	Окраска зон адсорбции			Rf
	Видимый свет	УФ-свет (254 нм)	УФ-свет (366 нм)	
Пятно 2	Светло-желтая	Светло-серая	Зеленая	0,77

Оценка содержания фенольных кислот в листьях морошки показала наличие галловой, кофейной, п-кумаровой, хлорогеновой кислот. В ходе исследования наличия фенольных кислот были получены следующие хроматограммы (рис. 3).

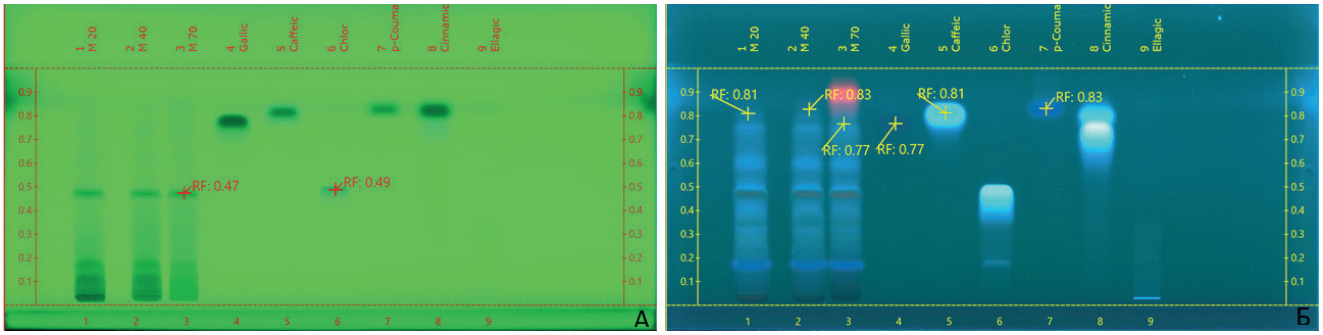


Рисунок 3. Изображение ВЭТСХ пластины №2. Трек 1, 2 и 3 – извлечения из сырья, полученные спиртом 20%, 40% и 70% соответственно по 10 мкл, трек 4 – стандартный раствор галловой кислоты 5 мкл, трек 5 – стандартный раствор кофейной кислоты 5 мкл, трек 6 – стандартный раствор хлорогеновой кислоты 5 мкл, трек 7 – стандартный раствор п-кумаровой кислоты 5 мкл, трек 8 – стандартный раствор коричной кислоты 5 мкл, 9 – стандартный расвор эллаговой кислоты 5 мкл. А – При длине волны 254 нм, Б – при длине волны 366 нм

Результаты анализа представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Хроматографическая оценка феноловых кислот в листьях морошки обыкновенной *(Rubus chamaemorus L.)*

Исследуемый раствор/пятна	Окраска зон адсорбции		Rf
	УФ-свет (254 нм)	УФ-свет (366 нм)	
Галловая кислота	**Серая**	**Фиолетовая**	**0,77**
Кофейная кислота	**Серая**	**Голубая**	**0,81**
Хлорогеновая кислота	**Серая**	**Голубая**	**0,49**
п-Кумаровая кислота	**Серая**	**Синяя**	**0,83**
Коричная кислота	Серая	Голубая	0,75
Эллаговая кислота	Серая	–	0,86
Пятно 1	Серая	Голубая	0,49
Пятно 2	Серая	Фиолетовая	0,77
Пятно 3	Серая	Голубая	0,81
Пятно 4	Серая	Синяя	0,83

Данные, полученные в ходе исследования содержания аскорбиновой кислоты в водных извлечениях методом капиллярного электрофореза, говорят о содержании аскорбиновой кислоты в пересчете на сухое сырье порядка 0,024 ± 0,002 %. При исследовании извлечений было установлено, что в среднем концентрация аскорбиновой кислоты в водных извлечениях из сырья составляла 1,5 ± 0,15 мг/л.

Количественное определение дубильных веществ в листьях морошки проводили в соответствии с ГФ XIV РФ методом титриметрии, который заключается в определении суммы дубильных веществ в пересчете на танин. Содержание дубильных веществ в листьях морошки обыкновенной (в % в пересчете на абсолютно сухое сырье) составляет 18,53±0,23 %.

Для определения содержания флавоноидов в листьях морошки обыкновенной разработана методика количественного определения суммы флавоноидов с использованием метода дифференциальной спектрофотометрии. Установлено, что одним из компонентов суммы флавоноидов, присутствующих в листьях морошки, является вещество, имеющее величину Rf и спектр поглощения сходные с рутином (рис. 4).

На спектрофотометре снимали спектры водно-спиртовых извлечений из образцов сырья в диапазоне длин волн 200-550 нм. Максимум поглощения окрашенного комплекса водно-спиртового извлечения из листьев морошки с раствором алюминия хлорида наблюдался при длине волны 406±2 нм (рис. 5, А). Максимум поглощения для комплекса СО рутина наблюдался при длине волны 404±2 нм (рис. 5, Б). В качестве аналитической была использована длины волны 405 нм.

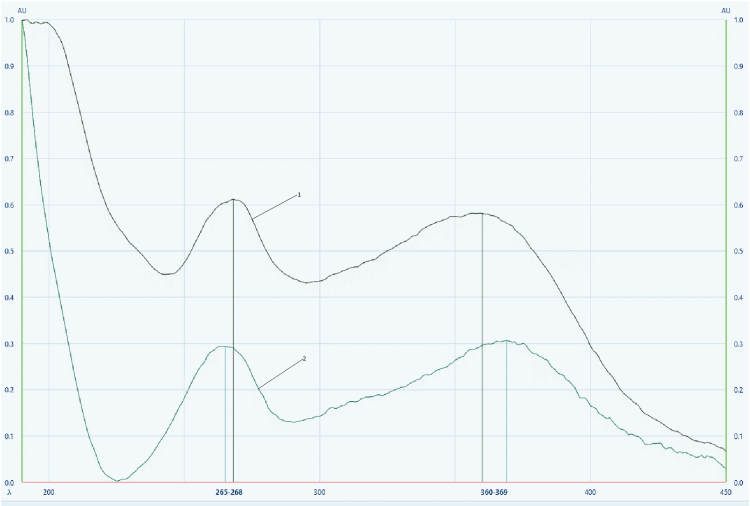


Рисунок 4. Спектры поглощения: 1 – СО рутина, 2 – пятна 1 (Rf=0,527)

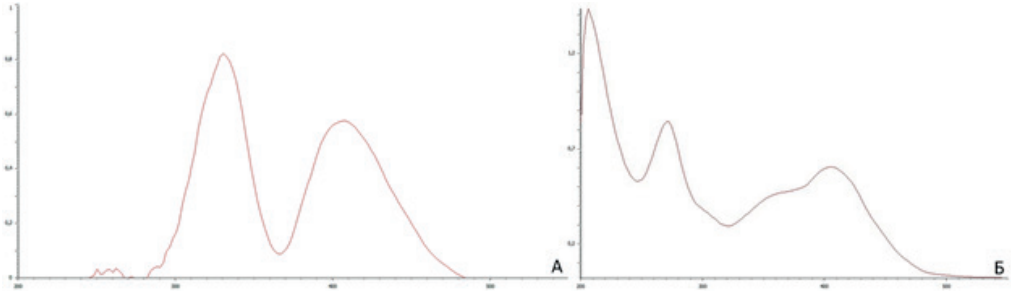


Рисунок 5. Спектры поглощения. А – Извлечения из листьев морошки после добавления $AlCl_3$, Б – СО рутина после добавления $AlCl_3$

При разработке методики количественного определения суммы флавоноидов изучали условия экстракции в зависимости от экстрагента, степени измельчения сырья, соотношения сырья и экстрагента, кратности экстрагирования и полноты комплексообразования с 2% спиртовым раствором алюминия хлоридом.

Наиболее полное извлечение определяемых веществ достигалось с использованием 20% спирта этилового, в образцах сырья со степенью измельчения 0,5 мм, при соотношении сырья и экстрагента 1:50, при однократном экстрагировании без упаривания и без деления объема растворителя и временем комплексообразования с 2% раствором алюминия хлорида 30 минут.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях морошки. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,5 мм. Около 0,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 25 мл 20% этилового спирта. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 15 минут с момента закипания содержимого колбы, после чего охлаждали до комнатной температуры. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр в колбу. Затем 1 мл фильтрата поместили в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавили 1 мл 2% раствора алюминия хлорида и довели объем раствора 20% этиловым спиртом до метки. Через 30 минут измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 405 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Для приготовления раствора сравнения в другую мерную колбу вместимостью 25 мл поместили 1 мл фильтрата и довели до метки 20% этиловым спиртом.

Параллельно измерили оптическую плотность раствора СО рутина. Для этого около 0,005 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100–105 °С, поместили в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворили в небольшом количестве спирта 96% при нагревании на водяной бане, охладили, довели объем спиртом 96% до метки и перемешали (раствор А СО рутина). После этого 1,0 мл раствора А СО рутина поместили в мерную колбу вместимостью 25 мл прибавили 1 мл алюминия хлорида раствора 2% и довели до метки спиртом 96% (раствор Б СО рутина). Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле (2):

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 100 \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 1 \cdot 25 \cdot 25 \cdot (100 - W)}, \qquad (2)$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора;
A_0 – оптическая плотность раствора Б СО рутина;
a_0 – навеска СО рутина, г;
a – навеска сырья, г;
P – содержание основного вещества в СО рутина, %;
W – влажность сырья, %.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в листьях морошки составило 3,46±0,09 %.

Для стандартизации сырья листьев морошки был проведен товароведческий анализ сырья. Результаты анализа образцов листьев морошки обыкновенной по показателям влажности, золы общей и золы, нерастворимой в 10% хлористоводородной кислоте, примесей представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Результаты товароведческого анализа листьев морошки обыкновенной *(Rubus chamaemorus L.)*

Показатели	Значение
Влажность, %	6,63±0,15
Зола общая, %	7,73±0,13
Зола, нерастворимая в 10% хлористоводородной кислоте, %	0,13±0,006
Сырье, изменившее окраску (пожелтевшее и почерневшее), %	0,14±0,002
Другие части растения, %	0,0032±0,0004
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, %	9,78±0,54
Органические примеси, %	0,018±0,004
Минеральные примеси, %	0,003±0,0001

Установлены макро- и микроскопические диагностические признаки сырья морошки обыкновенной листьев. В результате фитохимического анализа установлены основные группы биологически активных веществ сырья: полифенольный комплекс – флавоноиды, фенольные кислоты, дубильные вещества, а также присутствуют аскорбиновая кислота и сапонины. Содержание некоторых соединений было подтверждено с помощью ВЭТСХ по величине Rf и спектру поглощения вещества и стандарта.

Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях морошки обыкновенной методом дифференциальной спектрофотометрии, которая была использована для количественного определения содержания флавоноидов в сырье.

Было исследовано наличие и содержание некоторых БАВ. Количественное содержание аскорбиновой кислоты в исследуемом сырье составило 0,024±0,002%, дубильных веществ − 18,53±0,23 %, флавоноидов − 3,46±0,09 %.

В результате проведенного фармакогностического анализа образцов морошки обыквенной листьев определены показатели подлинности и доброкачественности, что позволит рекомендовать допустимые значения данных показателей для введения в проект фармакопейной статьи на сырье «Морошки обыкновенной листья».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.31 Фармакогнозия

ЛИТЕРАТУРА

1. Заболеваемость населения по основным классам болезней. [Электронный ресурс] URL: https://rosstat.gov.ru/folder/13721 [Дата обращения 10 февраля 2022 года].

2. Клинические рекомендации Цистит у женщин / Общероссийская общественная организация «Российское общество урологов» − 2021 г.

3. Устойчивость к антибиотикам. [Электронный ресурс] URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance [Дата обращения 15 февраля 2022 года].

4. Rubus chamaemorus L. Список растений. [Электронный ресурс] URL: http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0001014280 [Дата обращения 20 февраля 2022 года].

5. Егорова А.С., Вандышев В.В. Изучение морфолого-анатомических особенностей морошки приземистой (Rubus chamaemorus L.), произрастающей в Ямало-ненецком регионе // сб. Труды «Здоровье и образование в XXI веке». 2009. N.11. С. 388–389.

6. Ferlemi A., Lamari F. Berry leaves: an alternative source of bioactive natural products of nutritional and medicinal value // Antioxidants. 2016. N 17(5). С. 1-20.

7. Максимович М.О. Определение фитохимического состава листьев Rubus chamaemorus L., произрастающей в вельском районе архангельской области // Сборник статей по материалам XXI международной научно-практической конференции. 2019. 37-40.

8. Нилова Л.П., Малютенкова С.М., Кайгородцева М.С. Морошка: особенности биохимического состава, антиоксидантные свойства, использование // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2017. N 5(4). С. 19–26.

9. Сасновская К. А., Каючкина В. А., Страх Я. Л. Содержание фенольных соединений и флавоноидов в разных частях морошки приземистой. 2021.

10. Обзор вторичных метаболитов морошки и их биологической активности / А. К. Уэйли [и др.] //Медико-фармацевтический журнал «Пульс». 2020. Т. 22. N 7. С. 50-59.

11. Караваева А.В., Новикова П.В., Ефимова К.Н. Исследование антимикробной активности суммарных экстрактов листьев морошки // III Гаммермановские чтения. 2017. С. 43-47.

12. Егорова А.С., Вандышев В.В. Изучение морфолого-анатомических особенностей морошки приземистой (Rubus chamaemorus L.), произрастающей в Ямало-ненецком регионе // сб. Труды «Здоровье и образование в XXI веке». 2009. 11. С.388–389.

SUMMARY

PHARMACOGNOSTIC ANALYSIS OF CLOUDBERRY LEAVES (RUBUS CHAMAEMORUS L.)

Ayugova A.S., 5th year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popov St., 14, Russian Federation
E-mail: ayugova.anna@pharminnotech.com

Many different plants are used in traditional medicine as an effective treatment for a number of diseases, but are not officially defined as medicinal plant materials. In this work, cloudberry leaves *(Rubus chamaemorus L.)* were studied as a promising plant for medicinal use. Macro- and microscopic signs of leaves were determined. In addition, the main groups of biologically active substances were identified. The quantitative content of ascorbic acid in the studied raw materials was 0.024±0.002%, tannins – 18.53±0.23%, flavonoids – 3.46±0.09%.

Keywords: *Rubus chamaemorus, cloudberry, pharmacognostic analysis, leaf anatomy, spectrophotometry, flavonoids.*

REFERENCES

1. Morbidity of the population by main classes of diseases. [Internet] URL: https://rosstat.gov.ru/folder/13721 [Accessed February 10, 2022]. (in Russian)
2. Clinical recommendations Cystitis in women / All-Russian public organization «Russian Society of Urologists» – 2021. (in Russian)
3. Antibiotic resistance. [Internet] URL t: https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance [Accessed February 15, 2022]. (in Russian)
4. Rubus chamaemorus L. List of plants. [Internet] URL: http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0001014280 [Accessed February 20, 2022]. (in Russian)
5. Egorova A.S., Vandyshev V.V. Study of the morphological and anatomical features of cloudberry (Rubus chamaemorus L.), growing in the Yamalo-Nenets region // Proceedings «Health and education in the XXI century». 2009. N 11. P.388–389. (in Russian)
6. Ferlemi A., Lamari F. Berry leaves: an alternative source of bioactive natural products of nutritional and medicinal value // Antioxidants. 2016. N 17(5). C. 1-20.
7. Maksimovich M.O. Determination of the phytochemical composition of the leaves of Rubus chamaemorus L. growing in the Velsky district of the Arkhangelsk region. Collection of articles based on the materials of the XXI International Scientific and Practical Conference. 2019. P. 37-40. (in Russian)
8. Nilova L.P., Malyutenkova S.M., Kaygorodtseva M.S. Cloudberry: features of the biochemical composition, antioxidant properties, use. Bulletin of SUSU // Series «Food and Biotechnologies». 2017. N 5(4) P. 19–26. (in Russian)
9. Sasnovskaya K.A., Kayuchkina V.A., Strakh Ya.L. The content of phenolic compounds and flavonoids in different parts of cloudberry squat. 2021. (in Russian)
10. Review of cloudberry secondary metabolites and their biological activity / A.K. Whaley [et al.] // Medico-pharmaceutical journal «Pulse». 2020. Vol. 22(7). P. 50-59. (in Russian)
11. Karavaeva A. V., Novikova P. V., Efimova K. N. Study of the antimicrobial activity of total extracts of cloudberry leaves // III Hammerman Readings. 2017. P. 43-47. (in Russian)
12. Egorova A.S., Vandyshev V.V. Study of the morphological and anatomical features of cloudberry (Rubus chamaemorus L.), growing in the Yamalo-Nenets region // Proceedings «Health and education in the XXI century». 2009. N.11. P.388–389. (in Russian)

ГАРМОНИЗАЦИЯ ТРЕБОВАНИЙ КАЧЕСТВА К ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ УШНЫЕ КАПЛИ

Баллул Гадир, магистрант 1 года обучения,
Аль-рубайе Висам Махмуд, аспирант 3 года обучения
Научный руководитель**: Жилякова Е.Т.**, профессор, доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой.
Белгородский Государственный Национальный Исследовательский Университет
308015, Белгородская область, г. Белгород, ул. Победы, 85, Российская Федерация
E-mail: Ghadeerballoul@gmail.com

Ушные капли – удобная, эффективная и безопасная лекарственная форма, для лечения острого среднего отита и других отоларингологических заболеваний, но в фармакопеях ведущих стран мира, общей фармакопейной статьи на эту лекарственную форму нет. Проведя анализ фармацевтического рынка Сирийской Арабской Республике и Российской Федерации установлено, что в обеих странах наблюдается недостаток ассортимента комбинированных ушных капель для лечения острого среднего отита [1].

Ключевые слова: *ушные капли, вязкость, консерванты, стерильность, однородность содержания, гетерогенные системы, хранение и упаковка, маркировка.*

Целью данного исследования является анализ монографий, ведущих фармакопей мира для гармонизации требований к качеству этой лекарственной формы является своевременным и актуальным.

Задачами данного исследования являлись:

1. Собрать все требования, содержащиеся в наиболее часто используемых фармакопеях
2. Определение общих требований к производству ушных капель

В качестве методов исследования были использованы контент-анализ [2].

Ушные капли – наружная лекарственная форма для лечения ушных заболеваний рост которых наблюдаются во всем мире, 5% населения мира, или 430 миллионов человек, нуждаются в реабилитации для устранения «инвалидизирующей» потери слуха (432 миллиона взрослых и 34 миллиона детей). По оценкам, к 2050 году более 700 миллионов человек, или каждый десятый, будет страдать патологией приводящей и глухоте [3, 4]. Основной целью лекарственной формы ушные капели является достижение нужной концентрации препарата в месте всасывания и поддержание ее в течение соответствующего длительного времени, что в свою очередь способствует снижению частоты применения лекарственных средств. В этой связи. гармонизация требований к качеству лекарственной формы ушные капли представлен интерес и является актуальной.

В результате анализа монографий Европейской Фармакопеи 9.0 издания 2018г, Белорусской Фармакопеи 4.0 издания 2018 г, Государственной Фармакопеи РФ 14, 2018, Фармакопеи Украины, 2021 и USP 43-NF 38, выявлены и обобщены характеристики качества к лекарственной форме ушные капли, которое представленные в таблице 1.

Таблица 1 – Обобщенные требования к качеству лекарственной формы ушные капли

№ п/п	Показатель	Описание
1	Определение	Ушные капли и ушные спреи представляют собой растворы, одного или нескольких активных веществ, подходят для применения, без отрицательного воздействие на барабанную перепонку [5].
2	Вспомогательные вещества	Ушные лекарственные средства, жидкие лекарственные формы обычно содержат одно или более действующих веществ в них могут входить вспомогательные вещества, для обеспечения осмотического давления, вязкости, создания необходимого значения pH, растворимости действующих веществ, стабильности [5].
3	Консерванты	Консерванты не должны оказывать отрицательного воздействия на барабанную перепонку. Антимикробные консерванты должны быть активны в отношении патогенной флоры, заявленной в частной фармакопейной статье [5].
4	Стирильность	Стерильные капли для местного применения, предназначенные для применения при хирургических вмешательствах, должны изготавливаться с использованием материалов и способов, обеспечивающих стерильность, предотвращающих бактериальное обсеменение и рост микроорганизмов в лекарственном средстве и отвечающих требованиям Общей фармакопеи «Стерильность» [6, 7, 8].
5	Однородность содержания	Масса ни одной дозы не должна отклоняться более чем на 10 % от средней. Суммарная масса 10 доз не должна отличаться более чем на 15 % от номинальной массы 10 доз [6, 7].
6	Однородность массы	Ушные лекарственные средства в однодозовых контейнерах должны выдерживать испытание на однородность массы для единицы дозированного лекарственного средства. Испытание на однородность массы не требуется, если испытание на однородность содержания предусмотрено для всех действующих веществ [5, 9, 8].
7	Гетерогенные системы	При разработке состава капель должны учитываться физико-химические свойства действующих и вспомогательных веществ, их совместимость. Капли должны быть химически и физически стабильны (суспензии, эмульсии) [7, 6].
8	Хранение и упаковка	Материалы упаковки должны быть безвредны и совместимы с компонентами лекарственного препарата Стерильные капли хранят в стерильной герметичной упаковке с контролем первого вскрытия) [7, 6].
9	Маркировка	На этикетке указывают: – название всех добавленных антимикробных консервантов; – «стерильно», если необходимо; – для лекарственных средств в много дозовых контейнерах: срок хранения после вскрытия) [7, 6].

Таким образом, для производства ушных капель, качество которых соответствует мировым стандартам, эта лекарственная форма должна иметь достаточную вязкость, чтобы не выливаться из наружного уха, осмотическое давление, соответствующее физиологическому, pH близкое к нейтральному, стерильны если они применяются в хирургии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акафьева Т.И., Землянова М.А. Анализ фармацевтического рынка российской Федерации // Вестник ПГУ. Биология. 2013. N 1. С. 1-4.

2. Christen E., Petra B. A hands-on guide to doing content analysis // African Journal of Emergency Medicine. 2017. N.7. P.93-99. https://doi.org/10.1016/j.afjem.2017.08.001.

3. Всемирная организация здравоохранения. (н.д.). Глухота и потеря слуха. Всемирная организация здоровья. Проверено 1 апреля 2021 г.

4. Сравнение бактерицидной деятельности офлоксацина отдельно и в комбинации с бензиловым спиртом в отношении патогенных микроорганизмов и грибов, вызывающих отит среднего уха / Г. Баллул [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. 2021. Вып. 6(108). Ч. 2. С. 26-30.

5. Совет Европы. Европейская фармакопея: Опубл. в соответствии с конвенцией о разработке европейской фармакопеи. 2018.

6. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. [Электронный ресурс] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14

7. Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств. Государственная фармакопея Украины. 1.0 изд. 2021.

8. Экспертный совет и его экспертные комиссии. Фармакопея США (43-NF 38). 2020.

9. Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении. Государственная фармакопея Республики Беларусь. 4.0 изд.. (2018).

SUMMARY

Gadeer Balloul, 1st year master's student.
Al-Rubaye Wisam Mahmud, 3rd year postgraduate student
Scientific adviser**: Zhilyova E.T.** professor, doctor of pharmaceutical sciences,
head of the department of pharmaceutical technology
Belgorod State National Research University
85 Pobedy Street, Belgorod, the Belgorod region, 308015, Russia
E-mail: Ghadeerballoul@gmail.com

Ear drops are a convenient, effective and safe dosage form for the treatment of acute otitis media and other otolaryngological diseases, but in the pharmacopeias of the leading countries of the world, there is no general pharmacopoeial article for this dosage form. After analyzing the pharmaceutical market of the Syrian Arab Republic and the Russian Federation, it was found that in both countries there is a lack of an assortment of combined ear drops for the treatment of acute otitis media [7]. purpose of the work. analysis of monographs, the world's leading pharmacopoeias to harmonize the quality requirements of this dosage form is timely and relevant.

Keywords: *ear drops, viscosity, preservatives, sterility, content uniformity, heterogeneous systems, storage and packaging, labeling.*

REFERENCES

1. Akafyeva T.I., Zemlyanova M.A. Analysis of the pharmaceutical market of the Russian Federation // Bulletin of PSU. Biology. 2013. N. 1. P. 1-4. (in Russian)

2. Christen E., Petra B. A hands-on guide to doing content analysis // African Journal of Emergency Medicine. 2017. N.7. P.93-99. https://doi.org/10.1016/j.afjem.2017.08.001.

3. World Health Organization. (n.d.). Deafness and hearing loss. World Health Organization. Retrieved April 1. 2021. (in Russian)

4. Comparison of the bactericidal activity of ofloxacin single and in combination with benzyl alcohol against pathogenic microorganisms and fungi that cause otitis of the middle ear / G. Ballul [et al.] // International Research Journal. 2021. Vol.6(108).Par. 2. P. 26-30. (in Russian)

5. Council of Europe. European pharmacopoeia: Publ. in accordance with the convention on the elaboration of a European pharmacopoeia. 2018. (in Russian)

6. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV ed. Vol. 1. [Internet] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (in Russian).

7. Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines. The State Pharmacopoeia of Ukraine. 1.0 ed. 2021. (in Russian)

8. The Council of Experts and its Expert Committees. United State Pharmacopoeia (43- NF 38). 2020. (in Russian)

9. Center for Examinations and Tests in Health Service. The state pharmacopoeia of the Republic of Belarus. 4.0 ed. 2018. (in Russian)

УДК 615.322

ШРОТ КОРНЕВИЩ С КОРНЯМИ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ – ИСТОЧНИК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Бартенева В.И., студ. 4 курса, **Рахмиджанова Ю.А.**, студ. 4 курса
Научный руководитель: **Мальцева Е.М.,** к. фарм.н., зав. каф.
фармацевтической и общей химии (ORCID: ID: 0000-0003-4874-3420)
Кемеровский государственный медицинский университет
650056, Кемерово, ул. Ворошилова, 22а, Российская Федерация
E-mail: bartenevaviktoria@gmail.com

Проведено исследование качественного и количественного состава полифенольного комплекса биологически активных соединений шрота корневищ с корнями родиолы розовой, полученного после экстракции 70% этанолом при производстве сухого экстракта. Методами фитохимического и хроматографического анализа в водно-спиртовом извлечении

из шрота обнаружены эпигаллокатехингаллат, олигомерные проантоцианидины, простые фенолы – салидрозид, следы фенилпропаноидов, а также коричный спирт и его гликозиды. Количественное содержание полифенолов, определенное перманганатометрически по ГФ XIV издания составило 4,36±0,45%. Суммарное содержание полифенольного комплекса в извлечении 70% этанолом, полученное методом мацерации составило 3,80±0,45%, с применением мацерации и УЗ-излучения – 4,82±0,73%. Антиоксидантная активность водно-спиртового извлечения, определённая методом DPPH, сопоставима с активностью известных водорастворимых антиоксидантов – аскорбиновой кислоты и таннина сумаха.

Ключевые слова: *корневища с корнями родиолы розовой, шрот, олигомерные проантоцианидины, антиоксидантная активность.*

Родиола розовая (*Rhodiola rosea L.*) хорошо изученное лекарственное растение, препараты из которого проявляют адаптогенный эффект, нейропротекторное, кардиопротекторное, антидепрессивное, анксиолитическое и ноотропное действие [1,2]. Высокий мировой спрос на сырьё родиолы розовой связан с расширением ассортимента лекарственных и косметических средств, БАДов, продуктов питания. В настоящее время родиола розовая классифицируется как редкий и исчезающий вид. Решение проблемы сохранения генетических ресурсов данного вида в природной среде связано с разработкой методов культивирования и возвращения растений в природу, а также введение её в промышленную культуру. Другим направлением получения биологически активных соединений (БАС) родиолы розовой является выращивание её в каллусной культуре [3].

При производстве экстрактивных препаратов из корневища с корнями родиолы розовой образуются большие объёмы отходов сырья – шрот, который утилизируется компостированием или сжиганием. Однако шрот родиолы розовой может содержать до 30% БАС, относящихся к вторичным метаболитам данного растения. Так в плотной клеточной стенке корневищ с корнями остаются соединения полифенольного характера (дубильные вещества конденсированного типа, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, простые фенолы и др.). Известно, что *R. rosea* L. содержит редкую группу олигомерных продельфинидинов, содержащих в структуре фрагменты эпигаллокатехингаллата и эпигаллокатехина [2]. Помимо лигнина и пищевых волокон полифенольные соединения являются наиболее ценными соединениями шрота корневищ с корнями родиолы розовой, так как обладают полезными для здоровья человека свойствами, связанными с антиоксидантной, антибактериальной и противовоспалительной активностью [2,4].

Цель данного исследования заключается в изучении качественного и количественного состава полифенольного комплекса, выделенного из шрота корневищ с корнями *R. rosea* L.

Объектом исследования служило сырье (шрот), полученное после водно-спиртовой экстракции корневищ с корнями родиолы розовой, предоставленное ООО «РУСЭКСТРАКТ» (г. Кемерово). После экстракции шрот сушили воздушно-теневым способом при комнатной температуре.

Шрот представлял собой куски корневищ и корней различной формы, проходящие сквозь сито с диаметром отверстий 5 мм, розовато-коричневого цвета, с тонким специфическим запахом, с горьковато-вяжущим вкусом. Влажность сырья, определяли на анализаторе влажности MB25 (OHAUS Corporation, США), она составила 6,15±0,08 %.

Для получения водных извлечений шрот корневищ с корнями родиолы розовой заливали дистиллированной водой, доведенной до кипения (1:125) и кипятили с обратным холодильником в течение 30 минут. Полученное водное извлечение охлаждали, отфильтровывали и проводили качественные реакции на дубильные вещества по общепринятым методикам фитохимического анализа (Гринкевич, Сафронич).

Для ТСХ-скрининга получали извлечение 70% этанолом (1:10) методом мацерации в течение 5 дней в темном месте. Хроматографическое разделение проводили в системе растворителей: толуол – ацетон – муравьиная кислота безводная (6:6:1), восходящим способом на пластинке «Сорбфил-ПТСХ-П-А-УФ» [5]. В качестве стандартного образца использовали эпигаллокатехингаллат (EGCG, Sigma-Aldrich). Хроматограммы проявляли несколькими реактивами:

1) смесь 1% спиртового раствора ванилина и 9н раствора серной кислоты в этаноле (на ПАЦ и катехины);

2) смесь 1% растворов железа (III) хлорида и калия феррицианида (на фенолы);

3) спиртовым раствором 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH, Sigma-Aldrich) (на вещества с антиоксидантной активностью).

Количественное определение суммы дубильных веществ в исследуемом сырье проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в растительном сырье и лекарственных растительных препаратов» перманганатометрическим методом (метод Левенталя) в пересчете на танин. В качестве альтернативного варианта определения суммы полифенольных соединений использовали спектрофотометрический метод Folin-Ciokalteu [6]. После осаждения проантоцианидинов раствором формальдегида в разбавленной хлористоводородной кислоте этим же методом определяли количество низкомолекулярных фенольных соединений. Расчет количественного содержания полифенольного комплекса проведен в пересчете на галловую кислоту.

Образцы для анализа готовили методом мацерации при соотношении сырье-экстрагент (1:25) в течение 2 дней при температуре 40 °С в темноте (образец 1). Образец 2 дополнительно подвергали обработке в УЗ ванне в течение 1 часа при мощности 30 Вт.

Антиоксидантную активность определяли методом, основанным на взаимодействии антиоксидантов со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH) [6].

УФ-спектр снимали на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Спектрофотометрические исследования проводили на фотометре КФК-3 (Россия) в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Все измерения проводили в трехкратной повторности. Статистическую обработку результатов измерения проводили согласно требованиям ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента».

Фитохимический анализ, проведённый с помощью качественных реакций, в водном извлечении шрота ККРР показал наличие дубильных веществ преимущественно конденсированного типа – проантоцианидинов. Реакция Стиасни (с 40% раствором формальдегида и разбавленной хлористоводородной кислотой) и реакция с бромной водой дали положительный результат. В первом случае выпал осадок кирпично-красного цвета, во втором появилась опалесценция. С 1% раствором ЖАК появилось темно-синее окрашивание, характерное для дубильных веществ гидролизуемого типа. Такой результат, вероятно, связан с наличием в структуре проантоцианидинов корневищ с корнями родиолы розовой структурных фрагментов пирогаллола и галловой кислоты. На хроматограмме водно-спиртовых извлечений шрота корневищ с корнями родиолы розовой при использовании всех реактивов для проявления были обнаружены зоны адсорбции, соответствующие зоне образца свидетеля EGCG и полимерных форм проантоцианидинов (от линии старта до Rf 0,25). Над EGCG обнаружены 2 зоны адсорбции соединений фенольного характера с высокой антиоксидантной активностью, которые окрашиваются реактивом проявления 1 в сине-фиолетовый цвет (предположительно зоны простых фенолов корневищ с корнями родиолы розовой). При проявлении хроматограмм в УФ-свете наблюдались 4 флуоресцирующие зоны адсорбции, принадлежащие фенилпропаноидам корневищ с корнями родиолы розовой.

Содержание суммы дубильных веществ в шроте корневищ с корнями родиолы розовой в пересчете на танин в абсолютно сухом сырье, определенное методом Левенталя составило 4,36±0,45 %. Количественное содержание суммы полифенолов, определенное методом спектрофотометрии с реактивом Folin-Ciokalteu в пересчете на галловую кислоту, составило в образце 1 – 3,80±0,45%, а в образце 2– 4,42±0,73%. Таким образом, выход полифенольного комплекса после УЗ обработки шрота в процессе экстракции увеличивается в среднем на 26,84%. После осаждения 40% раствором формальдегида в разбавленной хлористоводородной кислоте было обнаружено, что содержание проантоцианидинов в образце 1 и образце 2 составило 2,88±0,12% и 4,01±0,26% соответственно. Таким образом, даже незначительная экспозиция УЗ повышает выход из сырья флаван-3-олов и олигомерных проантоцианидинов.

На следующем этапе исследования реакцией со стабильным хромоген-радикалом DPPH был установлен высокий уровень антиоксидантной активности водно-спиртовых извлечений шрота корневищ с корнями родиолы розовой. Для образцов 1 и 2 водно-спиртовых извлечений был построен график зависимости антиоксидантной активности от концентрации полифенольных соединений (мкг/мл) и проведен корреляционно-регрессионный анализ. Установлено, что теснота связи по шкале Чеддока между признаками весьма высокая или функциональная. Зависимость признаков статистически значима ($p<0,05$), а коэффициент корреляции равен от 0,982 до 0,993. Концентрация полифенольных соединений шрота корневищ с корнями родиолы розовой, при которой происходит 50% ингибирование радикала DPPH (I_{C50}), составляет для образца 1 – 10,05±0,31 мкг/мл, образца 2 – 10,29±0,15 мкг/мл. Таким образом, антиоксидантная активность водно-спиртовых извлечений шрота корневищ с корнями родиолы розовой сопоставима с активностью известных антиоксидантов аскорбиновой кислоты и таннина, для которых данный показатель составил 7,2 и 6,0 мкг/мл соответственно [6].

Заключение. В ходе проведенного исследования было установлено, что шрот корневищ с корнями родиолы розовой содержит значительное количество полифенолов, обладающих выраженной антиоксидантной активностью. Таким образом, вторичная переработка шрота корневищ с корнями родиолы розовой позволит получить природные антиоксиданты, которые можно использовать как основу для разработки многофункциональных продуктов с добавленной стоимостью – БАД, косметических средств и продуктов функционального питания.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.31 Фармакогнозия
76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. Быков В.А., Запесочная Г.Г., Куркин В.А. Родиола розовая (Rhodiola rosea L.): Традиционные и биотехнологические аспекты получения лекарственных средств (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 1999. Т. 33. N 1. С. 28–37.

2. Anti-atherosclerosis of oligomeric proanthocyanidins from Rhodiola rosea on rat model via hypolipemic, antioxidant, anti-inflammatory activities together with regulation of endothelial function / Q. Zhou [et al.] // Phytomedicine. 2018. Vol. 51. P. 171-180. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.10.002.

3. In vitro culture of Rhodiola rosea L. / O.N. Khapilina [et al.]// Biotechnology. Theory and practice. 2016. Vol.9(12). Doi 10.11134/btp.4.2016.1

4. Free radical-scavenging activities of oligomeric proanthocyanidin from Rhodiola rosea L. and its antioxidant effects in vivo / Q. Zhou [et al.]/ / Nat Prod Res. 2014. Vol. 28(24). P. 2301-2303. doi: 10.1080/14786419.2014.921786

5. Affiniy-type polymer adsorbents in the study of physiologically active substances. XII. Separation and analysis of phenolic compounds in Rodiola rosea L. extracts on adsorbent with phenolic ligands / E.M. Antipenko, P.V Kuznetsov // Pharmaceutical chemistry journal. 1998. Vol. 32(11). P.48-51. https://doi.org/10.1007/BF02465839

6. Антимикробная и антирадикальная активность сухих экстрактов травы Sanguisorba officinalis L. / Н.О. Егорова [и др.]// Современные проблемы науки и образования. 2018. N 3. С. 14.

SUMMARY

WASTE OF RHIZOMES RHODIOLA ROSEA – A SOURCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

Barteneva V.I., 4th year student, **Rakhmidzhanova Yu.A.**, 4th year student
Kemerovo State Medical University
Academic advice: **Maltseva E.M.**, candidate of pharmaceutical sciences.,
head of the department of Pharmaceutical and General Chemistry, ORCID: ID: 0000-0003-4874-3420
Kemerovo State Medical University,
650056, Kemerovo, st. Voroshilova, 22a, Russian Federation
E-mail: bartenevaviktoria@gmail.com

The study of the qualitative and quantitative composition of the polyphenolic complex of biologically active compounds of the waste of rhizomes with the roots of Rhodiola rosea, obtained after extraction with 70% ethanol in the production of dry extract, was carried out. Phytochemical and chromatographic analysis methods revealed epigallocatechin gallate, oligomeric proanthocyanidins, simple phenols – salidroside, traces of phenylpropanoids, as well as cinnamic alcohol and its glycosides in a water-alcohol extract from waste. The quantitative content of polyphenols, determined permanganatometrically according to the State Pharmacopoeia XIV edition, was 4.36±0.45%. The total content of the polyphenolic complex in the extraction of 70% ethanol obtained by maceration was 3.80±0.45%, with the use of maceration and ultrasonic radiation – 4.82±0.73%. The antioxidant activity of the water-alcohol extract, determined by the DPPH method, is comparable to the activity of known water-soluble antioxidants – ascorbic acid and sumac tannin.

Keywords: *rhizomes with roots of Rhodiola rosea, waste products, oligomeric proanthocyanidins, antioxidant activity.*

REFERENCES

1. Bykov V.A., Zapesochnaya G.G., Kurkin V.A. Rodiola rozovaya (Rhodiola rosea L.): Traditsionnyye i biotekhnologicheskiye aspekty polucheniya lekarstvennykh sredstv (obzor) // Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal. 1999. Vol. 33(1). P. 28–37. (in Russian)
2. Anti-atherosclerosis of oligomeric proanthocyanidins from Rhodiola rosea on rat model via hypolipemic, antioxidant, anti-inflammatory activities together with regulation of endothelial function / Q. Zhou [et al.] // Phytomedicine. 2018. Vol. 51. P. 171-180. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.10.002.
3. In vitro culture of Rhodiola rosea L. / O.N. Khapilina [et al.]// Biotechnology. Theory and practice. 2016. Vol.9(12). Doi 10.11134/btp.4.2016.1
4. Free radical-scavenging activities of oligomeric proanthocyanidin from Rhodiola rosea L. and its antioxidant effects in vivo / Q. Zhou [et al.]/ / Nat Prod Res. 2014. Vol. 28(24). P. 2301-2303. doi: 10.1080/14786419.2014.921786
5. Affiniy-type polymer adsorbents in the study of physiologically active substances. XII. Separation and analysis of phenolic compounds in Rodiola rosea L. extracts on adsorbent with phenolic ligands / E.M. Antipenko, P.V Kuznetsov // Pharmaceutical chemistry journal. 1998. Vol. 32(11). P.48-51. https://doi.org/10.1007/BF02465839
6. Antimikrobnaya i antiradikal'naya aktivnost' sukhikh ekstraktov travy Sanguisorba officinalis L. / N.O. Yegorova [et al.] // Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. 2018. N3. P. 14. (in Russian)

УДК 54:543.6

РАЗДЕЛЕНИЕ ХЛОРПРОИЗВОДНЫХ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Белова В.А., студ. 4 курса
Научные руководители: **Никитина Т.Г.**, канд.хим.наук, доцент; **Дударев В.Г.**, канд.хим.наук, старший преподаватель
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: vlada.belova@spcpu.ru

С помощью капиллярного электрофореза было произведено эффективное разделение хлорпроизводных салициловой кислоты, использующихся в медицинской практике в качестве промежуточного продукта получения антигельминтных препаратов, синтезированного путем окислительного хлорирования смесью перекиси водорода и соляной кислоты в среде уксусной кислоты.

Ключевые слова: *капиллярный электрофорез, салициловая кислота, антигельминтные лекарственные субстанции, 3,5-дихлорсалициловая кислота, хлорирование салициловой кислоты, разделение производных, гельминтоз.*

В настоящее время проблема паразитарных заболеваний носит существенный характер. По данным Всемирной организации здравоохранения в мире 4,5 млрд. зараженных. 80% всех больных – дети. [1] Опасность состоит в том, что

осложнения у детей могут вызвать задержку физического и психологического развития. Гельминтоз может поражать сердце, головной мозг, легкие, вызывая при этом тяжелые заболевания. [2]

В современной медицине лечение гельминтоза, а также его профилактика осуществляется с помощью антигельминтных препаратов, получаемых из лекарственных субстанций. Примером такой субстанции служат салициламиды. [3] В данной работе мы рассмотрим промежуточный продукт получения салициламидов – 3,5-дихлорсалициловую кислоту, синтезированную путем окислительного хлорирования смесью перекиси водорода и соляной кислоты в среде уксусной кислоты (рис. 1).

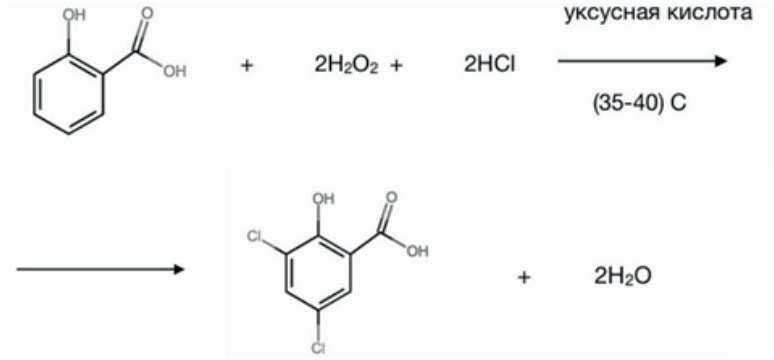


Рисунок 1. Схема синтеза 3,5-дихлорсалициловой кислоты

При недостаточном хлорировании может присутствовать 5-хлорсалициловая кислота (рис. 2).

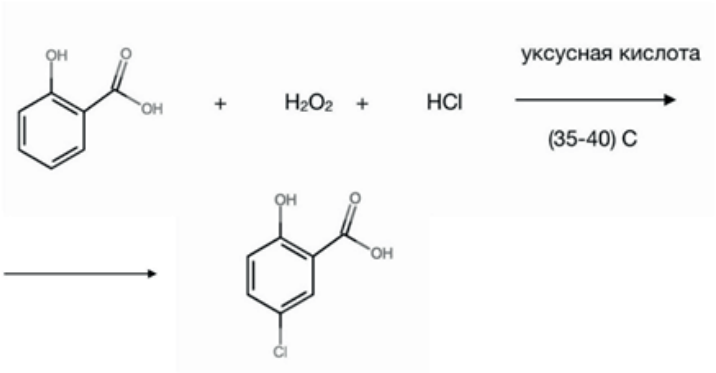


Рисунок 2. Схема получения 5-хлорсалициловой кислоты

Также может образовываться 3,5-дихлорацетилсалициловая кислота (рис. 3).

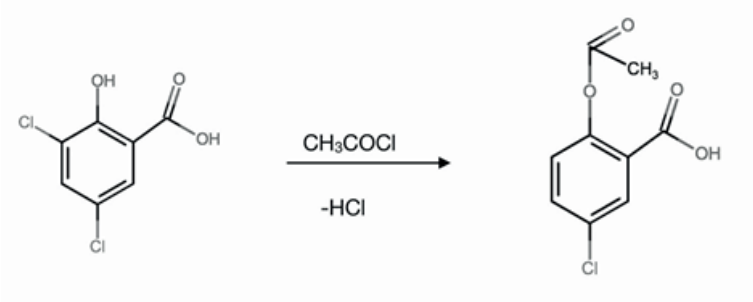


Рисунок 3. Получение 3,5-дихлорацетилсалициловой кислоты

Образуется смесь хлорпроизводных салициловой кислоты. Для получение чистого продукта важно проверить полученное вещество на примеси данных соединений. Целью настоящего исследования является оценка эффективности разделения хлорпроизводных салициловой кислоты с помощью капиллярного электрофореза.

В соответствии с целью ставятся следующие задачи:
– получить спектры поглощения веществ
– вычислить длины волн, при которых наблюдаются максимумы
– провести анализ на капельном электрофорезе отдельных образцов и смесей веществ
– оценить способность разделения хлорпроизводных салициловой кислоты

Были проанализированы образцы салициловой кислоты, 3,5-дихлорсалициловой кислоты, 3,5,6-трихлорсалициловой кислоты, 3,5-дихлорацетилсалициловой кислоты и синтезированная путем окислительного хлорирования салициловой кислоты 3,5-дихлорсалициловая кислота. Также была создана и проанализирована модельная смесь (смесь 3,5-дихлорсадициловоцй кислоты и 5-хлорсалициловой кислоты) с целью совместного обнаружения и разделения.

Капиллярно-электрофоретическое определение анионных форм салициловых кислот проводили на приборе капиллярного электрофореза «Капель-104Т», производства НПП АФ «Люмэкс», снабженную кварцевым капилляром с внешним полиамидным защитным покрытием (внутренний диаметр 75 мкм, внешний 365 мкм, общая длина капилляра – 60 см, длина капилляра до детектора – 50 см). Все эксперименты проводили в боратном буферном растворе, при напряжении 20 кВ, длина волны спектрофотометрического детектирования – 254 нм, ввод пробы осуществляли давлением 30 мбар в течение 5 с. Для регистрации электрофореграмм использовали компьютерную программу «Мультихром для Windows».

При исследовании использовались следующие буферные растворы:

− 0,05 М боратный буфер pH 9,18;

− 0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 20 мМ ДДСН;

− 0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 40 мМ ДДСН;

− 0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 40 мМ ДДСН + 20% ацетонитрил

Изучаемые салициловые кислоты являются слабыми органическими кислотами, которые в щелочных растворах с pH>8 присутствуют в форме анионов. Было произведено изучение возможности разделения анионов салициловой (СК), 5-хлорсалициловой (5ХСК), 3,5-дихлорсалициловой (ДХСК), 3,5-дихлорацетилсалициловой (АцСК) кислот методом капиллярного электрофореза с использованием боратного буферного раствора в анионной схеме анализа без обращения электроосмотического потока. Кроме того, была оценена возможность использования для разделения салициловых кислот мицеллярной электрокинетической хроматографии после добавки в боратный буферный раствор додецилсульфата натрия. Добавки ДДНС не сказываются на разделении пиков аналитов, поэтому в дальнейших экспериментах использовали в боратный буферный раствор без добавления ДДСН.

Времена миграции анионов салициловых кислот в боратном буферном растворе представлены в Таблице 1:

Таблица 1 – Времена миграции салициловых кислот

Вещество	Время миграции маркера электроосмотического потока, $t_{пот}$, с	Время миграции аналита, $t_{ан}$, с
Салициловая кислота	231,5	419
5-хлорсалициловая кислота	228	394
3,5-дихлорсалициловая кислота	225,4	372,7
3,5-дихлорацетилсалициловая кислота	233,2	388,4

По данным Таблицы 1 был произведен расчет электрофоретических подвижностей анионов салициловых кислот, с помощью следующих формул:

$$\mu_a^0 = \mu_a - \mu_{пот}$$

$$\mu_a = \frac{L_{эфф} \cdot L_{общ}}{t_{ан} \cdot U} = \frac{50см \cdot 60см}{t_{ан} \cdot 20кВ}$$

$$\mu_{пот} = \frac{L_{эфф} \cdot L_{общ}}{t_{пот} \cdot U} = \frac{50см \cdot 60см}{t_{пот} \cdot 20кВ}$$

Полученные данные расчета электрофоретических подвижностей анионов салициловых кислот представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Электрофоретические подвижности анионов салициловых кислот

Вещество	Электрофоретическая подвижность, μ_a^0, см²/кВ·с
Салициловая кислота	-0,290
5-хлорсалициловая кислота	-0,277
3,5-дихлорсалициловая кислота	-0,263
3,5-дихлорацетилсалициловая кислота	-0,379

Таким образом, установлено, что анионы салициловых кислот имеют разные электрофоретические подвижности, что позволяет осуществить их разделение с использованием боратного буферного раствора. Была приготовлена модельная смесь, содержащая 5ХСК и ДХСК. Электрофоретические подвижности 5ХСК и ДХСК в смеси совпали с подвиж-

ностями этих образцов в индивидуальных растворах. Результат анализа показал возможность совместного определения и разделения 5ХСК и ДХСК.

С помощью метода капиллярного электрофореза был произведен анализ синтезированного образца ДХСК. Для всех пиков на электрофореграмме были рассчитаны элеткрофоретические подвижности. На основании полученных данных была проведена идентификация пиков: было установлено, что в образце помимо ДХСК присутствует примесь 5ХСК, тогда как СК, АцСК – отсутствуют.

По методу внешнего стандарта с использованием площадей соответствующих пиков было вычислено соотношение 5ХСК и ДХСК в синтезированном образце ДХСК. Расчет количественного содержания проводили по формуле:

$$\text{С(5ХСК)} = \frac{S_x}{S_{\text{ст}}} \cdot \frac{m_{\text{ст}}}{V} = \frac{0{,}46}{2{,}75} \cdot \frac{3{,}5\text{мг}}{50\text{мл}} = 0{,}012\text{мг/мл}$$

$$\text{С(ДХСК)} = \frac{S_x}{S_{\text{ст}}} \cdot \frac{m_{\text{ст}}}{V} = \frac{3{,}11}{16{,}64} \cdot \frac{6{,}2\text{мг}}{50\text{мл}} = 0{,}023\text{мг/мл}$$

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что в синтезированном продукте содержания 5ХСК и ДХСК соотносятся как 1 к 2.

В ходе работы успешно было проведено разделение хлорпроизводных салициловой кислоты, а именно 5ХСК и ДХСК с помощью капиллярного электрофореза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Controlling Soil-Transmitted Helminthiasis in Pre-School-Age Children through Preventive Chemotherapy / M. Albonico [et al.] // PLoS Negl Trop Dis. 2008. Vol. 2(3). P. e126. doi: 10.1371/journal.pntd.0000126.

2. Марушко Ю.В., Грачева М.Г. Современное состояние проблемы гельминтозов у детей. Вопросы диагностики и лечения //Современная педиатрия. 2012. N 3(43). С. 1-5

3. Кочергина Е. А. Особенности лечения паразитарных заболеваний. 2013. С. 2-3

SUMMARY

SEPARATION OF CHLORINE DERIVATIVES OF SALICYLIC ACID BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Belova V.A., 4th year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: vlada.belova@spcpu.ru

Capillary electrophoresis was used to effectively separate chlorine derivatives of salicylic acid, which are used in medical practice as an intermediate product for the production of anthelmintic drugs, synthesized by oxidative chlorination with a mixture of hydrogen peroxide and hydrochloric acid in an acetic acid medium.

Keywords: *capillary electrophoresis, salicylic acid, anthelmintic medicinal substances, 3,5-dichlorosalicylic acid, chlorination of salicylic acid, separation of derivatives, helminthiasis*

REFERENCES

1. Controlling Soil-Transmitted Helminthiasis in Pre-School-Age Children through Preventive Chemotherapy / M. Albonico [et al.] // PLoS Negl Trop Dis. 2008. Vol. 2(3). P. e126. doi: 10.1371/journal.pntd.0000126.

2. Marushko Ju.V., Gracheva M.G. Sovremennoe sostojanie problemy gel'mintozov u detej. Voprosy diagnostiki i lechenija // Sovremennaja pediatrija. 2012. Vol. 3(43). C. 1-5 (in Russian)

3. Kochergina E. A. Osobennosti lechenija parazitarnyh zabolevanij. 2013. P. 2-3. (in Russian)

УДК 543.544.943.3:582.711.16

ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОРНЕВИЩ И КОРНЕЙ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ

Блинова С.А., студ. 5 курса
Научный руководитель **Скляревская Н.В.,** к.фарм.н., доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: blinova.sofiya@pharminnotech.com

В ходе исследования был проведен качественный и количественный анализ водно-спиртовых извлечений из разных образцов корневищ и корней *Rhodiola rosea* методами высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) и

высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием стандартных образцов салидрозида, розарина и тирозола. На основании полученных данных были определены сорта родиолы розовой с наибольшим содержанием салидрозида.

Ключевые слова: *родиола розовая, салидрозид, высокоэффективная тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, корневища и корни.*

Родиола розовая (*Rhodiola rosea* L.) – многолетнее травянистое растение семейства толстянковые – *Crassulaceae.* Официнальным сырьем в России являются корневища и корни, которые заготавливают в фазу цветения и плодоношения, очищают и отмывают от земли, разрезают на куски и высушивают [1]. Естественная среда произрастания родиолы розовой – регионы с холодным и умеренным климатом. В России произрастает на побережье Белого и Баренцева морей, на Урале, в горных районах Восточной и Западной Сибири и Дальнего Востока. Наиболее крупный участок ареала охватывает горы Южной Сибири. При соблюдении условий рациональной эксплуатации заросли родиолы восстанавливаются очень медленно, что не дает возможности заготовки в промышленных масштабах. Данную проблему можно решить культивированием сортов родиолы розовой с высокими показателями содержания биологически активных веществ [2, 3]. Основными действующими веществами *Rhodiola rosea* являются эфирные масла, стеролы (β–ситостерин, даукостерин), гликозиды, органические кислоты (щавелевая, лимонная, яблочная, галловая, янтарная), фенольные соединения: дубильные вещества; фенилэтаноиды, фенилпропаноиды и их гликозиды (тирозол, п-кумаровый спирт, коричный спирт, кофейная кислота, салидрозид, розин, розавин, триандрин, розарин); флаволигнаны (родиолин, ларицирезинол); флавоноиды (трицин, родионин, родионидин, родиолгин, родалин и др.), монотерпены (розиридин, розиридол) [2, 4].

Целью работы являлось проведение фитохимического анализа сырья *Rhodiola rosea,* сравнение количественного содержания салидрозида в сырье, заготовленном в 2020 и 2021 гг. в питомнике лекарственных растений СПХФУ, с целью выявления оптимального сорта для культивирования. Для достижения поставленной цели необходимо были выполнить следующие задачи:

1. Провести качественный анализ водно-спиртовых извлечений из корневищ и корней родиолы розовой методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ).
2. Определить количественное содержание салидрозида в образцах подземных органов *Rhodiola rosea* методом ВЭЖХ.
3. Выявить образцы родиолы розовой, перспективные для культивирования в питомнике лекарственных растений СПХФУ.

Объектом исследования были 19 образцов корневищ и корней родиолы розовой, заготовленных в 2020 и 2021 гг. в питомнике лекарственных растений СПХФУ, а также 2 образца из Алтайского края. Сырье, заготовленное в 2020 г., было высушено воздушно-теневым способом. Образцы 2021 г. сушили с использованием инфракрасной сушилки при температуре 70° С. Высушенное сырье измельчали на электрорезке ТУ 37-53 тип 622-1-М, просеивали через сито с отверстиями диаметром 0,25 мм.

Качественный анализ корневищ и корней родиолы розовой проводили методом ВЭТСХ [5]. Пробоподготовку осуществляли согласно методике Государственной фармакопеи 14 издания [1]. Извлечения получали с использованием ультразвуковой ванны «Сапфир-4.0 ТТС» (Россия). ВЭТСХ анализ выполняли на приборе *CAMAG* (Швейцария) с использованием пластин MERCK HPTLC plates silica gel 60 F 254 размером 20x10 см. Образцы наносили на пластины методом распыления в виде полос длиной 8 мм с отступом справа 20 мм и 8 мм от нижнего края с помощью полуавтоматического аппликатора *Linomat 5*. Элюирование проводили в вертикальной автоматической камере с двумя желобками *Twin Trough Chamber CAMAG ADC 2* с насыщением 20 мин (с фильтровальной бумагой). Изображения получали с помощью *CAMAG TLC Visualizer 2*. Сканирующую денситометрию проводили на спектроденситометре *CAMAG Scanner 3*. Обработку результатов осуществляли с помощью программного обеспечения *VisionCATS* [5].

В работе были использованы стандартные образцы салидрозида (стандартный образец-порошок, содержание салидрозида 98%, Sigma Aldrich, США), тирозола (стандартный образец-порошок с содержанием тирозола 98%, Sigma Aldrich, США), розарина (стандартный образец-порошок, содержание розарина не менее 98%, Sigma Aldrich, США).

Количественное определение салидрозида проводили методом ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu LC-20 (Япония), снабженном диодно-матричным детектором. Разделение проводили на колонке Luna C18, размером 250x4,6 мм, заполненной обращенно-фазным октадецилсилильным сорбентом с частицами 5 мкм. В качестве элюентов применяли смесь 0,05% трифторуксусной кислоты и ацетонитрила, изменение состава подвижной фазы проводили в градиентном режиме. Объем вводимой пробы составлял 20 мкл. Регистрировали хроматограммы при длине волны 254 нм. Расчет содержания салидрозида проводили с использованием метода внешнего стандарта, вычисляли по формуле [1]:

$$X = \frac{S_1 * a_0 * 80 * P}{S_0 * a_1 * (100 - W)}$$

где S_1 – площадь пика салидрозида в растворе А испытуемого раствора;
a_0 – навеска СО салидрозида, г;
P- содержание салидрозида в СО, %;
S_0 – площадь пика СО салидрозида;
a_1 – навеска сырья, г;
W – влажность сырья, %.

Обработку результатов эксперимента проводили с помощью программы LabSolutions.

Методами ВЭТСХ и ВЭЖХ были исследованы водно-спиртовые извлечения из различных сортов родиолы розовой 2020 и 2021 гг. заготовки. На первом этапе спиртовые растворы наносили на пластины для ВЭТСХ по 15 и 20 мкл. Затем пластины помещали в автоматическую камеру с системой растворителей хлороформ–спирт 96%–вода (25:16:1). Элюирование прекращалось автоматически, когда фронт растворителей достигал 70 мм от линии старта. Изображение пластин получали с помощью *CAMAG TLC Visualizer 2* в видимом и УФ-свете при длинах волн 254 и 366 нм. В результате проведения ВЭТСХ в образцах корневищ и корней родиолы розовой были идентифицированы салидрозид, розарин и тирозол.

Все образцы корневищ и корней родиолы розовой 2020 и 2021 гг. заготовки анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Хроматограммы салидрозида и извлечений, полученных из образцов сырья родиолы розовой из Алтайского края, представлены на рисунках 1-3.

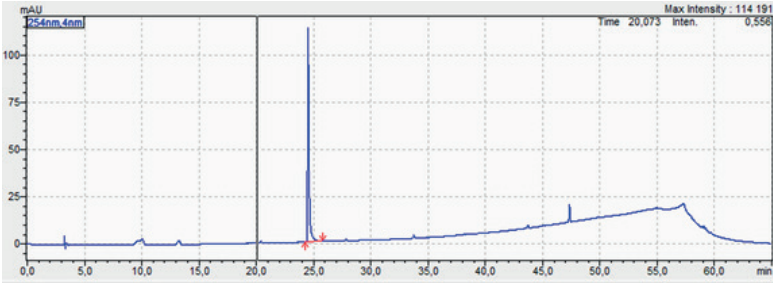


Рисунок 1. ВЭЖХ-хроматограмма стандартного образца салидрозида

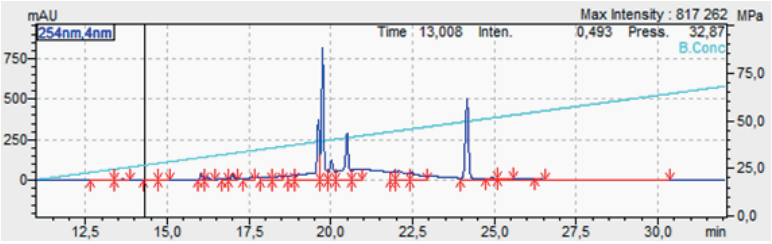


Рисунок 2. ВЭЖХ-хроматограмма образца Алтай 1

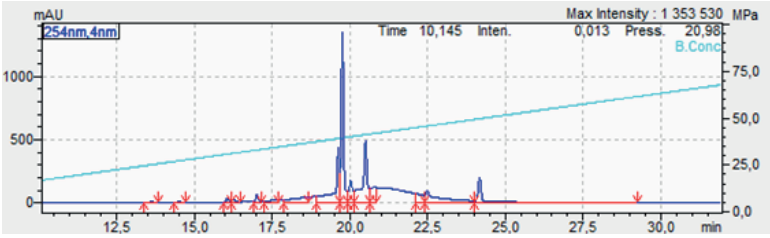


Рисунок 3. ВЭЖХ- хроматограмма образца Алтай 2

Результаты количественного определения салидрозида в корневищах и корнях *Rhodiola rosea* методом ВЭЖХ представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Содержание салидрозида в образцах родиолы розовой 2021 г. заготовки

№ образца	Содержание салидрозида, %	№ образца	Содержание салидрозида, %
Алтай 1	4,2766	4	0,4249
Алтай 2	2,2884	5	0,2447
1	0,8223	6	0,2007
2	0,6531	7	0,3682
3	0,0010	8	0,2227

Таким образом, большее содержание салидрозида наблюдалось в образцах корневищ и корней родиолы розовой из Алтайского края. В изученных образцах подземных органов, заготовленных в питомнике лекарственных растений СПХФУ, максимальное содержание салидрозида отмечено в образце №1 (0,8223 %).

Таблица 2 – Содержание салидрозида в образцах родиолы розовой 2020 г. заготовки

№ образца	Содержание салидрозида, %	№ образца	Содержание салидрозида, %	№ образца	Содержание салидрозида, %
1	0,1726	8	0,0236	15	0,3848
2	0,0736	9	0,1389	16	01967
3	0,0422	10	0,1101	17	0,2476
4	0,0271	11	0,1933	18	0,0612
5	0,1618	12	0,3143	19	0,3131
6	0,1101	13	0,1978		
7	0,0428	14	0,4547		

Содержание салидрозида в корневищах и корнях *Rhodiola rosea* 2020 г. заготовки составило от 0,0236% до 0,4547%. Установлено, что большее количество салидрозида наблюдалось у образцов подземных органов №14 (0,4547%) и 15 (0,3848%). Эти значения гораздо меньше тех, что получены для образца №1 2021 г. заготовки. Возможно, это отличие связано с условиями сушки и хранения сырья *Rhodiola rosea.*

Таким образом, проведен качественный анализ водно-спиртовых извлечений из корневищ и корней родиолы розовой методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии. Были идентифицированы салидрозид, розарин и тирозол. Определено количественное содержание салидрозида в образцах подземных органов *Rhodiola rosea* методом ВЭЖХ. Выявлены образцы родиолы розовой, перспективные для культивирования в питомнике лекарственных растений СПХФУ.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.31 Фармакогнозия

ЛИТЕРАТУРА

1. ФС.2.5.0036.15 «Родиолы розовой корневища и корни» // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс].URL: http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php. (Дата обращения 01.03.2022).

2. Перинская Ю.С., Саканян Е.И. Современное состояние и перспективы разработки лекарственных средств на основе корневищ с корнями родиолы розовой (Rodiola rosea L.) // Химико-фармацевтический журнал. 2014. N 8. С. 28-32.

3. Чалданбаева, А.К. Химическое изучение и возможности использования в медицине ряда растений рода Rhodiola флоры Кыргызстана // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. 2012. N 4. С. 121-123.

4. Panossian A, Wikman G, Sarris J. Rosenroot (Rhodiola rosea): traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy // Phytomedicine. 2010. Vol. 17(7). P.481-93. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.02.002.

5. CAMAG: World Leader in Planar Chromatography [Internet]. URL: https://www.camag.com. (Accessed 01.03.2022).

SUMMARY

PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF RHIZOMES AND ROOTS OF RHODIOLA ROSEA

Blinova S.A., 5th year student
Academic advise: **Sklyarevskaya N.V.**, docent, Candidate of Pharmaceutical Sciences
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: blinova.sofiya@pharminnotech.com

In the course of the study, a qualitative and quantitative analysis of water-alcohol extracts from various varieties of rhizomes and roots of *Rhodiola rosea* was carried out using high-performance thin layer chromatography (HPTC) and high performance liquid chromatography (HPLC) using standard samples of salidroside, rosarin and tyrosol. Based on the data obtained, the varieties of Rhodiola rosea with the highest salidroside content were determined.

Keywords: *Rhodiola rosea, salidroside, high performance thin layer chromatography, high performance liquid chromatography, rhizomes and roots.*

REFERENCES

1. Pharmacopoeia article «Rhodiola rosea rhizomes and roots» // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php. (in Russian)

2. Perinskaja Ju.S., Sakanjan E.I. The current state and prospects for the development of medicines based on rhizomes with Rhodiola rosea roots (Rodiola rosea L.) // Chemical and Pharmaceutical journal. 2014. N 8. P.28-32. (in Russian)

3. Chaldanbaeva, A. K. Chemical study and the possibility of using in medicine a number of plants of the genus Rhodiola flora of Kyrgyzstan // Vestnik KGMA of the I.K. Akhunbayev. 2012. N 4. P. 121-123. (in Russian)

4. Panossian A, Wikman G, Sarris J. Rosenroot (Rhodiola rosea): traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy // Phytomedicine. 2010. Vol. 17(7). P.481-93. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.02.002.
5. CAMAG: World Leader in Planar Chromatography [Internet]. URL: https://www.camag.com. (Accessed 01.03.2022).

УДК 543.426

ОПТИМИЗАЦИЯ ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХИНИНА В ШАМПУНЕ

Вавилов А.А., студ. 4 курса
Научные руководители: **Зубакина Е.А.,** канд. хим. наук, доцент
Труханова Ю.А., ассистент каф. аналитической химии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.14, лит А, Российская Федерация
E-mail: aleksej.vavilov@spcpu.ru

Проведена разработка методики количественного определения хинина в составе шампуня «Klorane» с экстрактом хинина. Проведен качественный анализ испытуемого косметического средства на наличие хинина. Выявлены мешающие факторы количественного определения хинина и разработана методика пробоподготовки шампуня, заключающаяся в экстракции хинина диэтиловым эфиром с последующей отгонкой растворителя и количественном разведении остатка в 0,1 Н растворе серной кислоты. Найден коэффициент экстракции и произведен расчет количества хинина в шампуне торговой марки «Klorane».

Ключевые слова: *хинин, флуоресценция, экстракция, экстрагент, интенсивность.*

Хинин – основной алкалоид коры хинного дерева с сильным горьким вкусом, обладающий жаропонижающим и обезболивающим свойствами, а также выраженным действием против малярийных плазмодиев. Хинин применяется и в косметической промышленности. Он входит в состав шампуней и бальзамов против выпадения волос, что также должно подвергаться контролю качества [1].

Флуориметрические методы привлекательны за счет распространенности применения в современных испытательных лабораториях и центрах, поэтому исследования в области качественного и количественного определения методом флуориметрии актуальны.

Использование флуориметрической методики при определении хинина в косметических средствах, а именно, в шампунях, перспективно ввиду имеющихся возможностей метода, таких как высокая чувствительность, широкий диапазон определяемых концентраций, простота и невысокая стоимость аппаратурного оформления [1-4].

Цель исследования – определение содержания хинина в косметическом средстве методом флуориметрии, а также выявление и устранение мешающих компонентов матрицы определяемого вещества.

Задачи:

• Выявить и устранить мешающие компоненты матрицы определяемого вещества.

• Определить содержание хинина в косметическом средстве методом флуориметрии.

Материалы и методы

В качестве анализируемого объекта был взят шампунь с содержанием экстракта хинина торговой марки «Klorane».

В качестве вещества сравнения использовали реактив Хинина сульфат 99 % (Ленреактив). Пробоподготовку проводили с использованием реактивов квалификации «х.ч.».

УФ-спектр регистрировали на спектрометре SHIMADZU UVmini-1240 (Япония).

Измерение интенсивности люминесценции проводили на приборе ФЛЮОРАТ-02-3М.

Результаты анализа оценивались по относительному стандартному отклонения (RSD) и выражались в процентах RSD.

Результаты и их обсуждение

Для анализа интенсивности люминесценции первоначально был записан УФ-спектр и определена длина волны максимума поглощения хинина сульфата, приготовленного в 0,1н растворе серной кислоты, которая составила 353±2 нм. Основываясь на литературных данных, была выбрана разница между длиной волны возбуждения и люминесценции в 100 нм.

При выбранной длине волны (452 нм) была исследована интенсивность люминесценции в зависимости от концентрации серной кислоты. Выявлено, что наибольшая интенсивность наблюдается при разведении хинина в растворе 0,1 н серной кислоты, что согласуется с литературными данными [4, 5].

Для дальнейшего количественного определения была построена градуировочная прямая по шести калибровочным растворам хинина в концентрациях от 16 нг/мл до 160 нг/мл и от 160 нг/мл до 1800 нг/мл. Коэффициенты корреляции полученных зависимостей были 0,998 и 0,997 соответственно.

При изучении состава шампуня были определены мешающие компоненты матрицы, а именно кофеин и бензоат натрия, влияющие на интенсивность люминесценции. В результате изучения физических свойств данных компонентов, было решено провести экстракцию диэтиловым эфиром, в котором растворим хинин и не растворимы кофеин и бензоат натрия.

Анализ проводили по следующей методике:

Раствор хинина с концентрацией 0.8 мг/мл (штоковый раствор). В мерную колбу вместимостью 100 мл помещали около 100 мг (точная навеска) хинина сульфата, добавляли 30 мл 0,1Н раствора серной кислоты, перемешивали до полного растворения навески. Доводили объем раствора до метки 0,1Н раствором серной кислоты до метки и перемешивали.

Раствор хинина с концентрацией 1600 нг/мл. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 200,0 мкл раствора хинина концентрации 0.8 мг/мл, добавляли 30 мл 0,1н раствора серной кислоты, перемешивали до полного растворения навески. Доводили объем раствора до метки 0,1н раствором серной кислоты до метки и перемешивали. Регистрируют интенсивность люминесценции и по градуировочному графику рассчитывают концентрацию хинина (С, нг/мл). Анализ повторяют три раза.

Раствор сравнения с концентрацией 1600 нг/мл. В плоскодонную колбу помещали 200,0 мкл раствора хинина с концентрацией 0.8 мг/мл, прибавляли 30 мл диэтилового эфира, перемешивали. К раствору прибавляли 30 мл воды дистиллированной и интенсивно перемешивали. Полученную смесь помещали в делительную воронку и сливали водный слой до первого прохождения органического слоя через воронку. Органический слой сливали в отдельную емкость. Проводили повторную экстракцию водного слоя. Полученный после второй экстракции органический слой объединяли со слоем с первой экстракции. К объединенному органическому слою добавляли сульфат магния и перемешивали. Через 10 минут раствор отфильтровывали от сульфата магния в круглодонную колбу и упарили досуха на пленочном испарителе. Из круглодонной колбы остаток количественно переносили в мерную колбу объемом 50 мл посредством четырехкратной промывки стенок круглодонной колбы 0,1н раствором серной кислоты. Объем раствора мерной колбы доводили 0,1н раствором серной кислоты до метки и перемешивали. Регистрируют интенсивность люминесценции и по градуировочному графику рассчитывают концентрацию хинина (С, нг/мл). Анализ повторяют три раза.

I Испытуемый раствор. Около 200 мг (точная навеска, ($m_н$)) шампуня помещали в плоскодонную колбу, прибавляли 30 мл диэтилового эфира, перемешивали до полного растворения навески. К раствору прибавляли 30 мл воды дистиллированной и интенсивно перемешивали. Полученную смесь помещали в делительную воронку и сливали водный слой до первого прохождения органического слоя через воронку. Органический слой сливали в отдельную емкость. Проводили повторную экстракцию водного слоя. Полученный после второй экстракции органический слой объединяли со слоем с первой экстракции. К объединенному органическому слою добавляли сульфат магния и перемешивали. Через 10 минут раствор отфильтровывали от сульфата магния в круглодонную колбу и упарили досуха на пленочном испарителе. Из круглодонной колбы остаток количественно переносили в мерную колбу объемом 50 мл посредством четырехкратной промывки стенок круглодонной колбы 0,1н раствором серной кислоты. Объем раствора мерной колбы доводили 0,1н раствором серной кислоты до метки и перемешивали. Регистрируют интенсивность люминесценции и по градуировочному графику рассчитывают концентрацию хинина (С, нг/мл). Анализ повторяют три раза.

Были получены следующие результаты (таблица 1):

Таблица 1 – Результаты анализа количественного определения хинина методом флуориметрии

Наименование раствора	C_1, нг/мл	C_2, нг/мл	C_3, нг/мл	Ccp, нг/мл	RSD, %
Раствор хинина с концентрацией 1600 нг/мл	1554,2	1554,3	1554,2	1555,2	0,1
Раствор сравнения с концентрацией 1600 нг/мл (после экстракции)	70,1	72,1	70,5	70,9	1,5
Испытуемый раствор	26,7	27,2	25,6	26,5	3,1

Согласно полученным данным, была найдена степень экстракции хинина диэтиловым эфиром (К) по формуле 1:

$$K, \% = \frac{C_{\text{ср раствора сравнения}}}{C_{\text{ср раствора хинина 1600 нг/мл}}} * 100 \quad (1)$$

Степень экстракции составила 4,56 %. С учетом коэффициента экстракции, содержание хинина в косметическом средстве (Х, %) находили по формуле 2:

$$X, \% = \frac{C_{\text{ср испытуемого раствора}}}{K * m_н} * 100 \quad (2)$$

В результате было получено, что в шампуне «Klorane» содержится 2,91 % хинина.

Заключение

В ходе исследования был проведен качественный анализ шампуня торговой марки «Klorane». Изучен состав шампуня, выявлены вещества, оказывающие влияние на интенсивность люминесценции. Разработана методика пробоподготовки для количественного определения хинина в косметическом средстве, заключающаяся в экстракции хинина диэтиловым эфиром с последующей отгонкой растворителя и количественном разведении остатка в 0,1 н растворе серной кислоты. Найдена степень экстракции хинина диэтиловм эфиром и произведен расчет количества хинина в шампуне торговой марки «Klorane».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.19.00 Аналитическая химия
31.19.29 Анализ органических веществ
31.23.21 Алкалоиды

ЛИТЕРАТУРА

1. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria / J. Achan [et al.] // Malaria Journal. 2011. Vol. 10. P. 144.

2. Dietary levels of quinine in tonic water do not inhibit CYP2D6 in vivo / J. Donovan. [et al.] // Food and Chemical Toxicology, 2003. Vol. 41. P.1199-1201.

3. Silvia Ortega-Algar, Natividad Ramos-Martos, Antonio Molina-Díaz. Fluorimetric Flow-Through Sensing of Quinine and Quinidine// Microchimica Acta. 2004. Vol. 147. P. 211–217.

4. Николаева А.А., Иванов А.А., Короткова Е.И.. Определение хинина в безалкогольных напитках методом флуориметрии. Аналитика и контроль. 2018. Т. 22. N 3. С. 334-342.

5. Raymond f. chen Some Characteristics of the Fluorescence of Quinine // Laboratory of Technical Development, National Heart Institute, Bethesda, Maryland 20014

SUMMARY

OPTIMIZATION OF FLUORIMETRIC DETERMINATION QUININA IN SHAMPOO

Vavilov A.A., 4th year student
Scientific adviser: **Zubakina E.A.,** Candidate of Chem. Sciences, associate professor of the department analytical chemistry
Trukhanova Yu.A., assistant of the department analytical chemistry
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, d.14, lit A, Russian Federation
E-mail: aleksej.vavilov@spcpu.ru

A technique for the quantitative determination of quinine in the Klorane shampoo with quinine extract was developed. A qualitative analysis of the tested cosmetic product for the presence of quinine was carried out. Interfering factors in the quantitative determination of quinine were identified, and a procedure for shampoo sample preparation was developed, consisting in the extraction of quinine with diethyl ether, followed by distillation of the solvent, and quantitative dilution of the residue in a 0.1 N sulfuric acid solution. The extraction coefficient was found and the amount of quinine in the Klorane shampoo was calculated.

Keywords: *quinine, fluorescence, extraction, extractant, intensity.*

REFERENCES

1. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria / J. Achan [et al.] // Malaria Journal. 2011. Vol. 10. P. 144.

2. Dietary levels of quinine in tonic water do not inhibit CYP2D6 in vivo / J. Donovan. [et al.] // Food and Chemical Toxicology, 2003. Vol. 41. P.1199-1201.

3. Silvia Ortega-Algar, Natividad Ramos-Martos, Antonio Molina-Díaz. Fluorimetric Flow-Through Sensing of Quinine and Quinidine// Microchimica Acta. 2004. Vol. 147. P. 211–217.

4. Nikolaev A.A., Ivanov A.A., Korotkov E.I. Determination of quinine in soft drinks by fluorimetry // Analytics and Control. 2018. Vol. 22(3). P. 334-342.

5. Raymond f. chen Some Characteristics of the Fluorescence of Quinine // Laboratory of Technical Development, National Heart Institute, Bethesda, Maryland 20014

УДК 54.061:54.066

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ИЗВЛЕЧЕНИИ ИЗ ПЛОДОВ СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ И ПЛОДОВ БОЯРЫШНИКА

Васильева П.А., аспирант 2 года обучения
Научный руководитель: **Дмитриева И.Б.** докт. хим. наук, доц. каф. физ. и колл. химии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: polina.vasileva@spcpu.ru

Описаны методы количественного изучения химического состава извлечений из плодов софоры японской и плодов боярышника. Определены основные группы биологически-активных веществ в водных извлечениях из плодов софоры японской и плодов боярышника, полученных методом перколяции.

Ключевые слова: *плоды софоры японской, плоды боярышника, флавоноиды, качественное определение, биологически-активные вещества.*

Интерес к препаратам, полученным на основе лекарственного растительного сырья (ЛРС), с каждым годом возрастает. В связи с этим поиск наиболее богатого биологически-активными веществами (БАВ) сырья является актуальной задачей в фармацевтической отрасли. Многие работы указывают на то, что перспективным сырьем для извлечения БАВ являются плоды софоры японской [1], а также плоды боярышника [2].

Целью работы являлось исследование основных классов БАВ, содержащихся в водных извлечениях из плодов софоры японской и плодов боярышника, полученных методом перколяции.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи: провести анализ литературных данных о содержании БАВ в плодах софоры японский и плодах боярышника; приготовить водные извлечения из соответствующих плодов методом перколяции; подобрать способы идентификации основных классов веществ в данных извлечениях.

В качестве объектов исследования использовались водные извлечения из плодов софоры японской ТУ 9198-001-0145156605-16, плодов боярышника № Р N001762/01 компании «ФармаЦвет». Извлечения получали методом перколяци [3].

Обзор литературы показал, что в плодах софоры японской содержатся разнообразные БАВ: флавоноиды, углеводы, эфирные масла, сапонины, алкалоиды, дубильные вещества, кумарины, фитостерины, фенольные и высшие жирные кислоты, лектины [4]; плоды боярышника также содержат большой комплекс БАВ (флавоноиды, витамин С, антоцианиды, сапонины, дубильные вещества, фенольные соединения) [2].

Для определения ***флавоноидов*** в извлечении применяли реакцию, называемую «Цианидиновая проба»; реакцию с алюминием хлоридом; реакцию Вильсона; реакцию с аммиаком; реакцию с трехлорным железом.

Реакцию «Цианидиновая проба» проводили следующим образом: в две пробирки помещали по 1 мл извлечения из исследуемого ЛРС, в одну из пробирок добавили 0,03-0,05 г порошка магния, затем в каждую из пробирок приливали 3 капли концентрированной соляной кислоты. Разбавляли содержимое пробирки водой и добавляли бутиловый спирт. При восстановлении атомарным водородом в присутствии магния и кислоты концентрированной хлористоводородной флавоноиды образуют малиновое окрашивание. При реакции агликонов с бутиловым спиртом наблюдается переход малиновой окраски в верхнюю органическую фазу, а при реакции гликозидов – флавоноиды остаются в водной фазе [5].

Для реакции с алюминием хлоридом к 1 мл излечения добавляли 2-3 капли 5%-го спиртового раствора хлорида алюминия и выдерживали в течении получаса. Флавоноиды, с гидроксигруппами у атомов C_3 и C_5, образуют хелатные комплексы с иономами алюминия за счет гидроксильных групп. Комплекс имеет желтый цвет с желто-зеленой флуоресценцией [5].

Реакцию Вильсона, также называемую борно-лимонная реакция, проводили следующим образом: к 2 мл извлечения добавляли 1 мл 2 %-ного раствора борной кислоты и 1 мл 2 %-ного спиртового раствора щавеливой кислоты. 3- и 5-гидрокси флавоны и 3- и 5-гидрокси флавонолы взаимодействуют с борной кислотой в присутствии борной кислоты, образуют ярко-желтое окрашивание с желтовато-зеленой флуоресценцией. Если участие в реакции принимает 3-ОН группа образуется устойчивый пятичленный комплекс, который не разрушается при добавлении щавелевой кислоты. Если в реакции принимает участие 5-ОН группа образуемый шестичленный комплекс после добавления щавелевой кислоты разрушается (окраска и флуоресценция исчезают) [5].

Для проведения реакции с аммиаком к 1 мл извлечения добавляют 3-5 капель соответствующего раствора. В реакции с раствором аммиака флавоны, флаваноны, флавонолы и флаванонолы дают желтое окрашивание, которое при нагревании переходит в оранжевое или красное. В случае халконов и ауронов образуется красное или пурпурное окрашивание. Если в растворе находятся чистые катехины окраска не происходит, однако присутствие примесей (продуктов окисления) вызывает появление желтой окраски. Антоцианы при наличии аммиака образуют синее или фиолетовое окрашивание [5].

Для проведения реакции с треххлорным железом. К 1 мл извлечения добавляют 1% спиртовым раствором хлорида железа (III). В данной реакции образуется коричневая окраска, если в извлечении присутствуют флавоноиды, содержащие 3-ОН-группу или зеленая, если содержатся флавоноиды с 5-ОН-группой, может образоваться синяя окраска при присутствии флавоноидов с 3- 4- 5- ОН-группами [5].

С целью идентификации флавоноидов также использовали ***тонкослойную хроматографию***. Извлечение из исследуемого ЛРС и стандартный раствор рутина ФС-000569 партии 332 наносили микрошприцом на пластинку силикагель «Silufor», расстояние между пробами составляло не более 10 мм. Пластинку с нанесенными пробами сушили на воздухе. В хроматографическую камеру с подвижной фазой «н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5)» помещали пластинку с нанесенными пробами. После прохождения подвижной фазы через пластинку, ее вынимали, опрыскивали раствором аллюминия хлорида 5%, сушили на воздухе и просматривали в УФ-свете при длине волны 354 нм [5].

С целью определения ***простых фенолов*** к 1 мл извлечения прибавляли небольшой кристаллик сульфата железа закисного. При наличии простых фенолов происходит образование комплекса, изменяющего окраску от сиреневого до темного с дальнейшим образованием темно-фиолетового осадка [5].

Другой метод определения простых фенолов заключался в прибавлении к 2-3 мл отфильтрованного извлечения 2-3 капель раствора железоамонийных квасцов. При наличии гидролизуемых простых фенолов в данной реакции образуется комплекс, имеющий темно-синюю окраску [5].

Идентификацию ***полисахаридов*** проводили с использованием этилового спирта, гидроксида натрия и хлористоводородной кислоты [5].

К 2 мл извлечения прибавляли 6 мл 95% этилового спирта, перемешивали. Эта реакция основа на способности полисахаридов осаждаться в присутствии спирта.

К 1–2 мл извлечения прибавляли несколько капель раствора гидроксида натрия. При наличии полисахаридов в извлечении образуется лимонно-желтое окрашивание.

К 1 мл извлечения добавляли несколько капель концентрированной хлористоводородной кислоты. При наличии полисахаридов в извлечении образуется желтовато-зеленое окрашивание.

Для определения ***сапонинов*** в пробирку к 2 мл извлечения добавляли несколько капель 10% ацетата свинца. Данная реакция основа на способности сапонинов осаждаться тяжелыми металлами [5].

Для реакции на пенообразование в одну пробирку поместили 5 мл 0,01 н раствора соляной кислоты, в другую – 5 мл 0,01 н раствора гидроксида натрия. Добавили в каждую из пробирок по 0,5 мл исследуемого извлечения и встряхивали с одинаковой интенсивностью в течение 1 мин. Если в обеих пробирках образуется примерно равные по величине и стойкости столбики пены или в пробирке с кислой средой выше, то сырье содержит тритерпеновые сапонины, если столбик пены больше при щелочном pH, то – стероидные [5].

С целью определения ***алкалоидов*** к 1 мл полученных извлечений добавляли несколько капель раствора танина, который готовили по следующей технологии: 10 г танина растворяли в 90 мл воды и добавляли 10 мл этилового спирта. Раствор танина образует с алкалоидами беловатые или желтоватые аморфные осадки [5].

Наличие ***дубильных веществ*** определяли следующим образом: в реакции с желатином, калия бихроматом, солями железа (III), нитритом натрия [5].

К 1–3 мл извлечения добавляли 2–3 капли 1%-го раствора желатина в 10%-й раствор натрия хлорида. Результаты анализа наблюдали на черном фоне, сравнивая с исходным извлечением. С 1% раствором желатина в 10% растворе натрия хлорида в извлечении с дубильными веществами появляется муть, исчезающая при добавлении избытка желатина.

При реакции с калия бихроматом к 1–3 мл извлечения добавляли 3–5 капель 5%-го раствора калия бихромата. С 5% раствором бихромата калия образуется коричневый осадок или муть.

В реакции с солями железа (III) к 1–3 мл извлечения добавляют 3 капли 1%-го раствора железоаммонийных квасцов. Гидролизуемые дубильные вещества дают черно-синее окрашивание, а конденсированные – черно-зеленое.

Реакцию с нитритом натрия проводят в кислой среде. К 2 мл извлечения прибавляют несколько кристалликов натрия нитрита и 0,5 мл хлористоводородной кислоты. При наличии гидролизуемых дубильных веществ в извлечении образуется красно-коричневое окрашивание раствора.

В реакциях на определение флавоноидов в извлечениях из плодов софоры японской и плодов боярышника были получены идентичные результаты. В данных извлечениях содержится разнообразные группы флавоноидов (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты качественного определения флавоноидов в извлечениях из плодов софоры японской и плодов боярышника

Название реакции	Результат	Определяемые вещества
Цианидиновая проба	слабое малиново-оранжевое окрашивание при воздействии бутилового спирта не переходящее в органическую фазу	содержатся флавонолы, флавононы или флавоны, содержатся гликозиды флавоноидов
Реакция с алюминием хлоридом	слабое лимонно-желтое окрашивание	содержатся флавоноиды, имеющие две оксигруппы в положении C_3 и C_5
Реакция Вильсона	ярко-желтое окрашивание с желто-зеленой флуоресценцией, при дальнейшем добавлении соответсвующих органических кислот окраска и флуоресценция исчезли	содержатся 3- и 5-гидрокси флавоны и 3- и 5-гидрокси флавонолы
Реакция с аммиаком	слабое желтое окрашивание, при нагревании переходящее в оранжевое	содержатся флавоны, флавонолы или флавононы
Реакция с трехлорным железом	образование коричнево-зеленой окраски	3- и 5-гидрокси флавоноидов

На пластинке с раствором стандарта рутина, извлечениями из плодов софоры японской и плодов боярышника после хроматографирования были получены следующие результаты: на линии хроматографирования стандарта рутина обнаружено желто-коричневое пятно; на линии хроматографирования раствора софоры японской было обнаружено четыре желто-коричневых пятна, одно из которых по величине, положению и интенсивности соответствует раствору рутина, что подтверждают нахождение в извлечении из плодов софоры японской флавоноидов; а также было обнаружено пятно на линии хроматографирования плодов боярышника, по величине, положению и интенсивности соответствующее раствору рутина, что подтверждает наличие в извлечении из плодов боярышника флавоноидов.

При определении ***простых фенолов*** в извлечениях получены следующие результаты: в реакции с сульфатом железа закисного в извлечениях из плодов софоры японской происходит образование красновато-фиолетового, затем темно-фиолетового окрашивания, при стоянии образуется темно-фиолетовый осадок. Следовательно, в извлечении из плодов софоры японской содержатся простые фенолы. В реакции с сульфатом железа закисного извлечение из плодов боярышника не дало видимых изменений, следовательно, в извлечении из плодов боярышника простые фенолы отсутствуют.

В реакции с железоаммонийными квасцами в пробирке с извлечением из плодов софоры японской образовалось темно-синее окрашивание, что свидетельствует о наличие в нем гидролизуемых простых фенолов. В данной реакции с извлечением из плодов боярышника изменений не произошло, что подтверждает отсутствие простых фенолов в данном извлечении.

При проведении реакций на обнаружения ***полисахаридов*** в извлечениях было определено, что в извлечениях из плодов софоры японской сапонины присутствуют, в то время как в извлечениях из боярышника отсутствуют (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты качественного определения полисахаридов в извлечениях из плодов софоры японской и плодов боярышника

Название реакции	Результат	Наличие полисахаридов в извлечении	
		из плодов софоры японской	из плодов боярышника
Реакция с этиловым спиртом	При взаимодействии с этиловым спиртом в извлечении из плодов софоры японской происходит осаждение слизи из водного извлечения. В извлечении из плодов боярышника образование осадка не происходит.	присутствуют	отсутствуют
Реакция с гидроксидом натрия	Извлечение из плодов софоры японской в реакции с гидроксидом натрия приобретает лимонно-желтую окраску, извлечение из плодов боярышника в данной реакции не изменяет цвета.	присутствуют	отсутствуют
Реакция с концентрированной хлористоводородной кислотой	Извлечение из плодов софоры японской приобретает желтовато-зеленое окрашивание. После добавления 95%-го этанола слизь коагулирует в пористый осадок. Данные изменения не происходят с извлечением из плодов боярышника.	присутствуют	отсутствуют

При воздействии ацетата свинца с извлечениями из плодов софоры японской и плодов боярышника происходит осаждение ***сапонинов.*** Следовательно, в данных извлечениях содержатся сапонины, причем тритерпеновые сапонины осаждаются средним ацетатом свинца, а стероидные – основным.

В реакции пенообразования как для извлечения из плодов софоры японской, так и для извлечения из плодов боярышника происходит образование пены, примерно равной по объему и стойкости с кислотой и с щелочью. Это свидетельствует о наличие в данных извлечениях тритерпеновых сапонинов.

При определении ***алкалоидов*** в извлечении из плодов софоры японской при добавлении танина произошло образование беловатого аморфного осадка. Следовательно, в извлечении из плодов софоры японской присутствуют алкалоиды. В извлечении из плодов боярышника при добавлении танина образование осадка не произошло, что свидетельствует об отсутствие алкалоидов в извлечении из плодов боярышника.

При обнаружении дубильных веществ в извлечениях их плов софоры японской и плодов боярышника получились результаты, которые могут свидетельствовать лишь о незначительном содержании дубильных веществ в извлечениях, а также о наличии не всех классов дубильных веществ, а лишь отдельных, что требует дальнейшего, более тщательного изучения (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты качественного определения дубильных веществ в извлечениях из плодов софоры японской и плодов боярышника

Название реакции	Результат	Наличие дубильных веществ в извлечении	
		из плодов софоры японской	из плодов софоры японской
Реакция с раствором желатина	не произошло образование осадка или помутнения в извлечения из плодов софоры японской и боярышника	отсутствуют	отсутствуют
Реакция с калием бихроматом	в пробирки с извлечением из плодов боярышника произошло потемнение раствора, в пробирке с извлечением из плодов софоры японской изменений не произошло	отсутствуют	присутствуют
Реакция с железоаммонийными квасцами	в пробирке с извлечением из плодов софоры японской произошло черно-зеленое окрашивание, аналогичное окрашивание произошло в пробирке с извлечением из плодов боярышника	присутствуют	присутствуют
Реакция с нитритом натрия в кислой среде	в пробирках с извлечениями из плодов софоры японской и плодов боярышника изменений не произошло	отсутствуют	отсутствуют

Был проведен анализ литературных данных о наличии БАВ в плодах софоры японской и плодах боярышника и выявлено, что в плодах софоры японской содержатся флавоноиды, углеводы, эфирные масла, сапонины, алкалоиды,

дубильные вещества, кумарины, фитостерины, фенольные и высшие жирные кислоты, лектины; в плодах боярышника содержатся флавоноиды, витамин С, антоцианиды, сапонины, дубильные вещества, фенольные соединения.

Было приготовлено водное извлечение из плодов софоры японской и плодов боярышника методом перколяции и обнаружено, что в извлечениях из плодов софоры японской и плодов боярышника содержатся флавоноиды, имеющие две оксигруппы в положении C_3 и C_5, флавонолы (в частности, 3- и 5-гидрокси флавонолы), флавононы или флавоны (в частности, 3- и 5-гидрокси флавоны). С помощью методом тонкослойной хроматографии было подтверждено содержание рутина в извлечениях из плодов софоры японской и плодов боярышника.

В процессе исследования было обнаружено, что в водном извлечении из плодов софоры японской, полученным методом перколяции, кроме флавоноидов обнаружен комплекс других биологически-активных веществ (простые фенолы, полисахариды, сапонины (в частности, тритерпеновые), алкалоиды, дубильные вещества). В водном извлечении из плодов боярышника, полученном методом перколяции, кроме флавоноидов содержатся сапонины и незначительная часть дубильных веществ.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.19.29 Анализ органических веществ

31.23.39 Кумарины, флавоноиды, антоцианины и родственные соединения

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузьмин А.В., Легостева А.Б. Липовый цвет и плоды софоры японской – перспективное сырье в области производства ранозаживляющих эмульсионных мазей // Инновации в здоровье нации, Санкт-Петербург. 2018. С.199-201.

2. Извлечение ценных компонентов из плодов боярышника и барбариса северо-западного региона / И.А. Морозкова [и др.] // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2020. Вып. 232. С.181-195.

3. Изучение физико-химических характеристик дисперсий растительного сырья на основе плодов софоры японской, влияющих на процесс экстракции / П.А. Васильева [и др.] // 2-й Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине». 2021. С.48-55.

4. Целесообразность и возможные пути комплексной переработки плодов софоры японской / А.М. Сампиев [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник // Фундаментальная медицина. 2016. С.112-117.

5. Аслонова И. Ж., Кароматов И. Д. Лечебные свойства растения софора японская // Биология и интегративная медицина. 2017. С.179-190.

SUMMARY

DETERMINATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE EXTRACT FROM THE FRUITS OF JAPANESE SOPHORA AND EXTRACT FROM THE FRUITS OF HAWTHORN

Vasilyeva P.A. 2nd year phD student
Academic advise: **Dmitrieva I.B.**, Doctor of Chemical Sciences, Assoc. Prof.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popova St., St. Petersburg, reet, 197376, Russian Federation
E-mail: polina.vasileva@spcpu.ru

Methods for quantitative study of the chemical composition of extracts from the fruits of Japanese Sophora and hawthorn fruits are described. The main groups of biologically active substances in aqueous extracts from the fruits of Japanese Sophora and hawthorn fruits obtained by percolation have been determined.

Keywords: *fruits of Japanese Sophora, hawthorn fruits, flavonoids, qualitative determination, biologically active substances.*

REFERENCES

1. Kuzmin A.V., Legosteva A.B. Lipovy tsvet i plody sofora yaponskaya – perspective raw materials in the field of production of wound healing emulsion ointments // Innovations in the health of the nation, St. Petersburg. 2018. P.199-201 (in Russian)

2. Extraction of valuable components from the fruits of hawthorn and barberry of the north-western region / I.A. Morozkova [et al.] // Izvestiya Of the St. Petersburg Forest Technical Academy. 2020. Vol. 232. P.181-195(in Russian)

3. Study of the physical and chemical characteristics of dispersions of plant raw materials based on the fruits of Japanese Sophora, affecting the extraction process / P.A. Vasilyeva [et al.] // 2nd All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation «Modern Achievements of Chemical and Biological Sciences in Preventive and Clinical Medicine». 2021 P.48 -55(in Russian)

4. Expediency and possible ways of complex processing of fruits of Sophora Japanese / A.M. Sampiev [et al.] // Kuban scientific medical bulletin. Fundamental Medicine, 2016. P.112-117(in Russian)

5. Aslonova I. Zh., Karomatov I. D. Medicinal properties of plants Sofora japonica // Biology and Integrative Medicine. 2017. P.179-190 (in Russian)

УДК 615.099.07

ПРОБЛЕМА ВОЗНИКНОВЕНИЯ НЕДОСТОВЕРНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ПСИХОАКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА, ВЫЗВАННАЯ ПЕРЕКРЕСТНЫМИ РЕАКЦИЯМИ С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ МЕБЕВЕРИНА

Викман П.С., аспирант 1 года обучения
Научный руководитель: **Стрелова О.Ю.**, канд. хим. наук, доцент, зав. кафедрой фармацевтической химии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: vikman.polina@pharminnotech.com

Мебеверин является лекарственным препаратом широкого применения, который способен вызывать ложноположительные результаты при предварительном иммунохимическом анализе на метамфетамин, амфетамин и метилендиоксиметамфетамин (MDMA, Экстази).

Исходя из данных литературных источников были определены основные метаболиты данного лекарственного препарата и выявлены возможные причины возникновения перекрестных взаимодействий.

Для проведения дальнейших исследований метаболизма мебеверина, а также валидации методики определения данного лекарственного препарата в биологическом материале, была разработана методика хроматографического анализа субстанции мебеверина гидрохлорида.

Ключевые слова: *иммунохроматография, кросс-реакции, метаболизм, мебеверин, метамфетамин, высокоэффективная жидкостная хроматография, волосы, ферментативный гидролиз.*

Согласно Приказу Министерства Здравоохранения РФ от 18.12.2015 г. № 933н медицинское освидетельствование включает в себя следующие этапы: предварительный осмотр врачом-специалистом; определение в выдыхаемом воздухе наличия алкоголя; определение наличия психоактивных веществ в моче; выявление уровня психоактивных веществ в моче; определение уровня психоактивных веществ в крови [1].

Исследование биологического объекта выполняется в две стадии. На первой стадии проводят предварительные исследования с использованием иммунохимических методов, а на второй – подтверждающие исследования методами газовой и (или) жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием [1].

На этапе предварительного иммунохроматографического анализа (ИХА) с помощью специальных тест-полосок возможно возникновение перекрестных взаимодействий с лекарственными препаратами, которые не относятся к психоактивным, и их метаболитами, а, следовательно, появление недостоверных результатов анализа.

Существует большое количество лекарственных препаратов, прием которых может привести к перекрестным взаимодействиям, и чаще всего ложноположительные результаты анализа появляются при проведении исследований на наличие в биологических объектах амфетамина и метамфетамина [2]. Одним из таких веществ является мебеверин, который широко применяется как спазмолитик при различных расстройствах желудочно-кишечного тракта.

Мебеверин является сложным эфиром вератровой (3,4-диметоксибензойной) кислоты и мебеверинового спирта. Мебеверин метаболизируется путем гидролиза сложного эфира до мебеверинового спирта и вератровой кислоты и выводится преимущественно с мочой только в виде метаболитов – вератровой кислоты и мебеверинового спирта, частично в виде мебевериновой кислоты, частично – в виде деметилмебевериновой кислоты [2].

По данным некоторых литературных источников, мебеверин вызывает ложноположительные результаты иммуноферментных исследований на амфетамины и метамфетамины, что может быть обусловлено обнаружением в этих пробах пара-метоксиамфетамина, метоксиэтиламфетамина и гидроксиэтиламфетамина, которые также являются метаболитами данного лекарственного вещества [3].

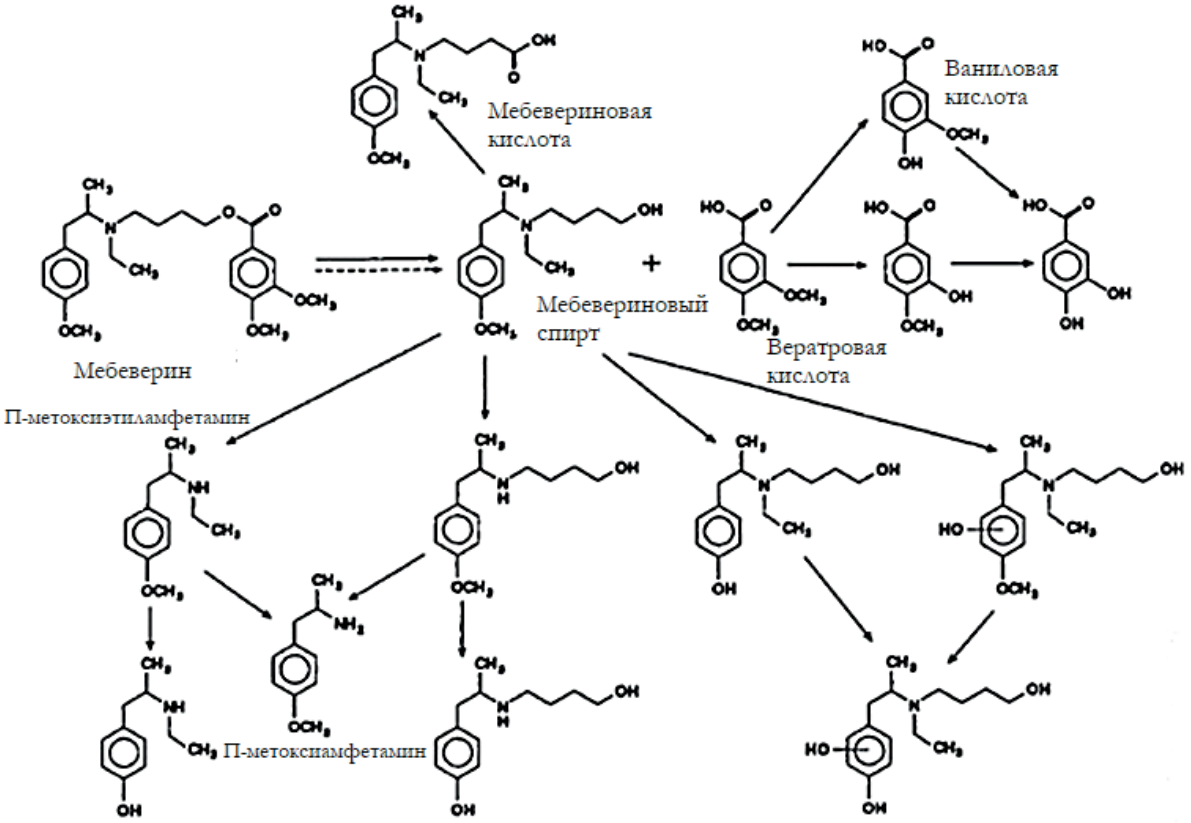


Рисунок 1. Схема метаболизма мебеверина [3]

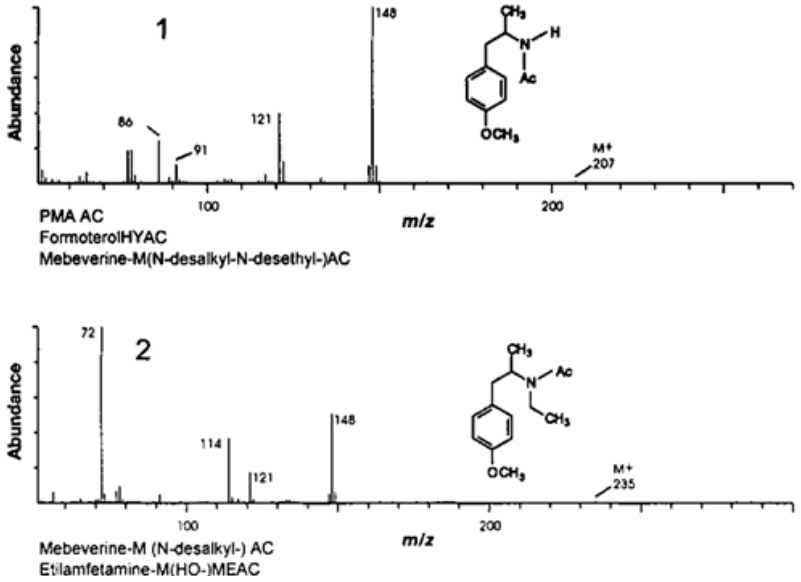


Рисунок 2. Масс-спектры некоторых метаболитов мебеверина [4]

Как видно из приведенных выше данных, недостоверные результаты освидетельствования для выявления факта употребления различных психоактивных веществ могут возникать и на втором этапе при проведении подтверждающих исследований, вследствие обнаружения в биологических жидкостях определенных метаболитов мебеверина (пара-метоксимамфетамина, этиламфетамина и других).

Таким образом, можно отметить, что проведение лабораторной диагностики только с использованием биологических жидкостей, мочи и крови, не позволяет исключить факт получения ложноположительных результатов за счет преимущественного нахождения токсикантов в биожидкостях в метаболизированном виде. Лица с наркотической зависимостью могут маскировать применения запрещенных веществ, эпизодическим употреблением лекарственных средств перед проведением процедуры лабораторной диагностики и осмотра врачом-наркологом.

В наших ранее опубликованных работах было показано, что проведение исследования волос с целью выявления факта употребления психоактивных веществ позволит повысить достоверность аналитической диагностики и снизить вероятность получения ложноположительных результатов анализа [5].

Целью данной работы явилась разработка методики проведения анализа лекарственного вещества мебеверина гидрохлорида методом ВЭЖХ для дальнейшего применения данной методики в анализе биологического материала, в том числе оценки пригодности методики для анализа волос.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Подбор условий хроматографического исследования субстанции мебеверина гидрохлорида;
2. Оценка пригодности хроматографической системы;
3. Проверка линейности в аналитической области для разработанной методики.

Исследование проводили с использованием следующих веществ и реактивов: вода деионизированная, субстанция мебеверина гидрохлорида, соответствующая всем требованиям государственной фармакопеи, триэтиламин Hipersolv chromanorm, для ВЭЖХ, концентрированная фосфорная кислота Fisher Scientific, для ВЭЖХ, ацетонитрил (UV-IR-HPLC-gradient), для ВЭЖХ.

Исследования проводили на жидкостном хроматографе Shimadzu Prominence LC-20 (Япония) с диодноматричным детектором SPD-M20A, оснащенном колонкой с обращенной фазой Symmetry C18 (4,6 мм x 250 мм x 5 мкм) с предколонкой Symmetry C18 (3,9 мм x 20 мм x 5 мкм). Температура термостата колонки 35°C, скорость потока элюента составляла 1,4 мл/мин, объем вводимой пробы 20 мкл.

Запись хроматограмм и обработку данных осуществляли на персональном компьютере с помощью программного обеспечения Lab Solutions версии 1.22. Запись хроматограмм осуществляли при длине волны детекции 262 нм.

В качестве подвижной фазы был использован 1% раствор триэтиламина (pH = 3,5) и ацетонитрил в соотношении 25:75.

Для приготовления испытуемого раствора мебеверина гидрохлорида (0,1 мг/мл) около 200 мг (точная навеска) субстанции помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в подвижной фазе, доводя объем раствора тем же растворителем до метки с последующим перемешиванием. Далее 0,5 мл полученного раствора (1 мг/мл) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводя объем раствора подвижной фазой до метки и снова перемешивали.

Проверка пригодности хроматографической системы проведена на основании анализа раствора мебеверина гидрохлорида (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты проверки пригодности хроматографической системы

№ опыта	Время удерживания пика мебеверина (RT), мин	Площадь пика мебеверина (A)	Эффективность (N)	Фактор ассиметрии (T)
1	1,831	1762542	3373	1,170
2	1,833	1765542		
3	1,830	1769542		
Среднее значение	1,831	1765875		
Относительное стандартное отклонение (Sr), %	0,08	0,20		

По данным, приведенным в таблице выше, видно, что относительное стандартное отклонение времени удерживания и площади пика мебеверина составило не больше 5,0% (n≥3), а фактор асимметрии, рассчитанный для пика мебеверина, находится в пределах от 0,8 до 1,5. Эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику мебеверина составила не менее 1000 теоретических тарелок. Таким образом, можно сделать вывод, что данная аналитическая система пригодна для дальнейшего количественного определения мебеверина.

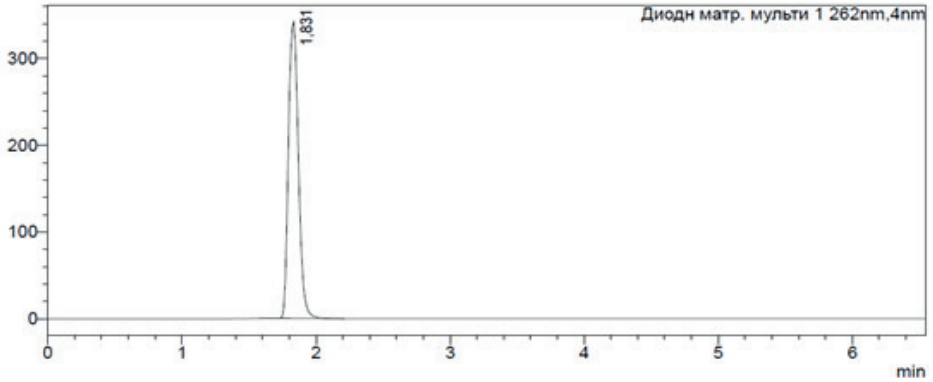


Рисунок 3. Хроматограмма испытуемого раствора мебеверина гидрохлорида

В ходе исследования также была проверена линейность в аналитической области путем последовательного хроматографирования пяти проб раствора испытуемого вещества с различными концентрациями. На основании полученных данных был построен график зависимости площади пика мебеверина гидрохлорида от концентрации испытуемого раствора (рис. 4).

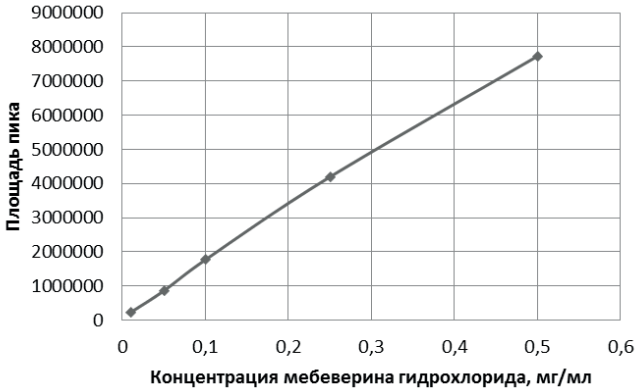


Рисунок 4. График зависимости площади пика мебеверина гидрохлорида от концентрации испытуемого раствора

Наличие линейной зависимости между x и y (x – концентрация мебеверина, y – площадь пика на хроматограмме) подтверждали расчетным путем по экспериментальным данным, полученным при калибровке с использованием корреляционного анализа.

Таким образом, была разработана методика качественного и количественного анализа мебеверина гидрохлорида методом ВЭЖХ. В дальнейшем планируется валидация данной методики, а также использование её для определения мебеверина гидрохлорида в биологических жидкостях и волосах, с применением для пробоподготовки разработанной и валидированной методики ферментативного гидролиза [5].

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.35.43 Судебная медицина

ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ Минздрава России от 18.12.2015 N 933н (ред. от 25.03.2019) «О порядке проведения медицинского освидетельствования на состояние опьянения (алкогольного, наркотического или иного токсического)» (Зарегистрировано в Минюсте России 11.03.2016 N 41390). [Электронный ресурс]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_195274 (Дата обращения 04.03.2022)

2. Трудности интерпретации результатов химико-токсикологического анализа при обнаружении лекарственных веществ с особенностями метаболизма (фенибут, селегилин, мебеверин) / М.В. Крысько [и др.] // Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2020. С. 99-106.

3. Kraemer T., Bickeboeller-Friedrich J., Maurer H.H. On the metabolism of the amphetamine-derived antispasmodic drug mebeverine: gas chromatography-mass spectromtery studies on rat liver microsomes and human urine // Drug Metab. Dispos. 2000. Vol. 28(3). P. 339-347.

4. Kraemer T, Wennig R, Maurer HH. The antispasmodic drug mebeverine leads to positive amphetamine results by fluorescence polarization immunoassay (FPIA)--studies on the toxicological analysis of urine by FPIA and GC-MS // J Anal Toxicol. 2001. Vol. 25(5). P. 333-338. https://doi.org/10.1093/jat/25.5.333

5. Слустовская, Ю.В. Разработка и валидация методики ферментативного гидролиза для изолирования токсических веществ из неокрашенных волос // Судебно-медицинская экспертиза. 2019. N 1. С. 24-29. https://doi.org/10.17116/sudmed20196201124

SUMMARY

THE PROBLEM OF FALSE-POSITIVES RESULTS OF LABORATORY TESTS FOR PSYCHOACTIVE SUBSTANCES CAUSED BY CROSS-REACTIONS WITH MEBEVERINE DRUGS

Vikman P.S., P.G. 1st year student
Academic advise: **Strelova O.Yu**., Cand. chem. sciences, Associate Professor,
Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popov Street, 14, Russian Federation
E-mail: vikman.polina@pharminnotech.com

Mebeverine is a drug of wide application that can cause false-positive results in the preliminary immunochemical analysis for methamphetamine, amphetamine and methylenedioxymethamphetamine (MDMA, Ecstasy).

Based on the data of the literature, the main metabolites of this drug were determined and possible causes of cross-interactions were identified.

To conduct further studies of the metabolism of mebeverine, as well as to develop a methodology for determining this drug in biological material, the conditions for chromatographic analysis were selected.

Keywords: *immunochromatography, cross-reactions, metabolism, mebeverine, methamphetamine, high-performance liquid chromatography, hair, enzymatic hydrolysis.*

REFERENCES

1. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 18.12.2015 N 933n (ed. dated 25.03.2019) «On the procedure for conducting a medical examination for intoxication (alcoholic, narcotic or other toxic)» (Registered with the Ministry of Justice of the Russian Federation on 11.03.2016 N 41390). [Internet]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_195274 (Date of treatment 04.03.2022). (In Russian).

2. Difficulties in interpreting the results of chemical and toxicological analysis when detecting medicinal substances with metabolic features (phenibut, selegilin, mebeverin) / M.V. Krysko [et al.] // Collection of scientific papers of the All-Russian scientific and practical conference with international participation. Edited by A.V. Silin, L.B. Gaikova. – 2020. – C. 99-106 (In Russian)

3. Kraemer T., Bickeboeller-Friedrich J., Maurer H.H. On the metabolism of the amphetamine-derived antispasmodic drug mebeverine: gas chromatography-mass spectromtery studies on rat liver microsomes and human urine // Drug Metab. Dispos. 2000. Vol. 28(3). P. 339-347.

4. Kraemer T, Wennig R, Maurer HH. The antispasmodic drug mebeverine leads to positive amphetamine results by fluorescence polarization immunoassay (FPIA) – studies on the toxicological analysis of urine by FPIA and GC-MS // J Anal Toxicol. 2001. Vol. 25(5). P. 333-338. https://doi.org/10.1093/jat/25.5.333

5. Slustovskaya, Yu.V. Development and validation of enzymatic hydrolysis techniques for isolating toxic substances from unpainted hair // Forensic medical examination. 2019. N 1. P. 24-29. https://doi.org/10.17116/sudmed20196201124 (In Russian).

УДК 615.322

ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ КОМПЛЕКСА ЦИНКА С КВЕРЦЕТИНОМ В СРАВНИТЕЛЬНОМ АСПЕКТЕ

Вишняков Е.В., асп. 2 года обучения (ORCID: 0000-0002-4716-7866), **Орлова К.В.**, студ. 5 курса
Научный руководитель: **Тернинко И.И.**, докт. фарм. наук, доцент, начальник ИЛ ЦККЛС СПХФУ, проф. (ORCID: 0000-0002-2942-1015)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: evgeniy.vishnyakov@pharminnotech.com

Модификация молекулы флавоноида с введением в их структуру металла с получением минеральных комплексов может приводить к появлению новых и потенцированию имеющихся фармакологических эффектов флавоноида-предшественника. В ходе работы оценены 2 способа получения комплекса цинка с кверцетином, отличающихся друг от друга комплексообразователями (цинка хлорид и цинка ацетат), а также наличием/отсутствием депротонирующего агента в сравнительном аспекте. Метод, в котором отсутствовал депротонирующий агент и использовался цинка ацетат, является наиболее оптимальным с точки зрения выхода (53,3% против 46,8%) и простоты проведения синтеза.

Ключевые слова: *флавоноиды, металлы, кверцетин, цинк, минеральные комплексы, синтез.*

Флавоноиды – это биологически активные вещества (БАВ) растительного происхождения, обладающие широким спектром биологических активностей. На сегодняшний день ведётся активный синтез комплексов металлов с флавоноидами [1]. Как показывают данные научных источников [2], эти соединения могут демонстрировать повышенную антиоксидантную активность в сравнении с флавоноидом-предшественником, а также проявлять противоопухолевую, противодиабетическую и другие виды активностей.

Получение комплексов металлов с флавоноидами представляет собой нетривиальную задачу, потому как необходимо учитывать ряд условий, влияющих на структурные характеристики и выход продукта. В первую очередь подбирают соль металла, флавоноид и растворитель. Важно, чтобы выбранные компоненты хорошо растворялись в растворителе (вода, метанол, этанол и др.). Далее прибегают к оценке стехиометрического соотношения компонентов в комплексе с применением спектральных методов. Структура соли металла и флавоноида, а также их растворимость в выбранном растворителе будут влиять на подходы к синтезу и целевой выход продукта [3].

Некоторые методики предполагают применение депротонирующих агентов (аммиак, пиридин, метоксид натрия, боратный буфер и др.) для открытия сайтов связывания в молекуле флавоноидов, являющихся по своей природе слабыми ОН-кислотами. Подбор депротонирующего агента будет зависеть от растворителя, природы соли металла и флавоноида. Важными условиями проведения синтеза также являются время нагревания реакционной смеси и температурный режим [3].

Следовательно, в виду того, что комплексы металлов с флавоноидами представляют особый интерес с точки зрения перспективности их применения для лечения социально-значимых заболеваний (в т.ч. и в качестве носителей активных молекул для таргетной терапии), актуальной остаётся задача по их синтезу с применением унифицированных методик. Исходя из этого, **целью работы** было сравнить два подхода к синтезу минерального комплекса кверцетина с цинком и выбрать наиболее приемлемый способ.

Задачи исследования:

1) Предложить два метода получения комплекса цинка с кверцетином, отличающихся условиями проведения синтеза;

2) Доказать применимость депротонирующего агента для Метода 1;

3) Оценить выход полученных комплексов и предложить наиболее оптимальный метод их получения.

В качестве материалов исследования применялись следующие субстанции и реактивы: лиганд – кверцетин (чистота ВЭЖХ не менее 98,0%), комплексообразователи – цинка ацетат ($Zn(CH_3COO)_2$), «х.ч.», цинка хлорид ($ZnCl_2$), «х.ч.», растворитель – метанол, депротонирующий агент – метоксид натрия (CH_3ONa), PanReac.

Нами было предложено два метода получения комплекса цинка с кверцетином, отличающихся условиями проведения синтеза.

Метод 1. В стеклянный стакан помещали 0,1511 г (0,5 ммоль) кверцетина и растворяли в метаноле. С помощью pH-метра измеряли водородный показатель раствора и доводили его значение до 7 с применением депротонирующего агента – метоксида натрия. Смесь переносили в круглодонную колбу, прибавляли 0,0681 г (0,5 ммоль) цинка хлорида, растворённого в метаноле. Колбу подсоединяли к обратному холодильнику и нагревали при постоянном помешивании с помощью магнитной мешалки (200 об/мин) в течение 6 часов при температуре 60 ^{0}C. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и измеряли pH, доводили его значение до 7 с помощью метоксида натрия. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали трёхкратно порциями метанола по 30 мл, собирали с фильтра и сушили в эксикаторе.

Метод 2. В круглодонную колбу помещали 0,1511 г (0,5 ммоль) кверцетина и растворяли в метаноле. К смеси прибавляли осторожно по каплям метанольный раствор, содержащий 0,1097 г (0,5 ммоль) цинка ацетата. Колбу подсоединяли к обратному холодильнику, и нагревали при температуре 60 ^{0}C и постоянном помешивании с помощью магнитной мешалки (200 об/мин) в течение 6 часов. Содержимое колбы охлаждали до комнатной температуры. Выпавший в колбе осадок отфильтровывали, промывали трёхкратно порциями метанола по 30 мл, собирали с фильтра и сушили в эксикаторе.

Ранее нами были предприняты попытки использования в качестве депротонирующего реактива пиридина. Однако для подщелачивания метанольного раствора кверцетина до нужного значения pH необходимо было затратить большое количество пиридина, вследствие чего возрастала вероятность его конкурентного взаимодействия с солями цинка, что приводило к получению продукта, отличного по физико-химическим свойствам от того, что был получен в ходе реализации условий Метода 1 и 2.

Выход минерального комплекса кверцетина с цинком по Методу 1 составил 46,8 %, по Методу 2 – 53,3 %. Отличие в выходах целевого продукта можно объяснить применением различных солей цинка в качестве комплексообразователя. Так, при добавлении к метанольному раствору кверцетина метанольного раствора цинка хлорида pH среды смещается в кислую область, что приводит к уменьшению связывания цинка с молекулой кверцетина. Для открытия сайтов связывания используется депротонирующий реактив – метоксид натрия, с помощью которого значение pH можно скорректировать до 7, тем самым открыв места связывания в молекуле флавоноида. Стоит отметить, что в Методе 1 депротонирующий агент (метоксид натрия) применяют на 2 стадиях. Однако введение дополнительной стадии не способствовало увеличению выхода целевого продукта.

Необходимо констатировать что при подщелачивании реакционной смеси важно оценивать значения констант диссоциации фенольных гидроксилов в выбранном растворителе. Однако данные по константам диссоциации для кверцетина в метаноле отсутствуют, поэтому оптимум pH 7 был подобран исходя из оценки литературных источников [3].

В Методе 2 нет необходимости в применении депротонирующего агента в виду того, что цинка ацетат способствует подщелачиванию метанольного раствора кверцетина, давая возможность без применения метоксида натрия «открыть» центры связывания. Следовательно, в виду лучшей растворимости цинка ацетата в метаноле (по сравнению с цинка хлоридом) [3] и отсутствия использования депротонирующего агента, можно говорить, что Метод 2 наиболее универсальный для получения комплексов металлов с флавоноидами.

В ходе работы оценены два способа получения комплекса цинка с кверцетином, отличающихся друг от друга использованными солями комплексообразователя (цинка хлорид и цинка ацетат), а также наличием/отсутствием депротонирующего агента в сравнительном аспекте. Метод 2, в котором отсутствовал депротонирующий агент и использовался цинка ацетат, является наиболее оптимальным с точки зрения выхода (53,3% против 46,8%) и простоты проведения синтеза.

Источник финансирования. Испытания проводили с использованием парка оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.23.39 Кумарины, флавоноиды, антоцианы и родственные соединения

31.21.19 Общие синтетические методы

ЛИТЕРАТУРА

1. Flavonoid-metal ion complexes: a novel class of therapeutic agents / Selvaraj S. [et al.] // Medicinal Research Reviews. 2013. Vol. 34(4). P. 677–702. DOI: 10.1002/med.21301

2. Kasprzak M.M., Erxleben A., Ochocki J. ChemInform abstract: properties and applications of flavonoid metal complexes // ChemInform. 2015. Vol. 46(29). P. 45853–45877. DOI: 10.1002/chin.201529267

3. Metal complexes of flavonoids: their synthesis, characterization and enhanced antioxidant and anticancer activities / M. Khater [et al.] // Future medicinal chemistry. 2019. 11(21). P. 2845–2867. DOI: 10.4155/fmc-2019-0237.

SUMMARY

APPROACHES TO THE OBTAINING OF A ZINC COMPLEX WITH QUERCETIN IN A COMPARATIVE ASPECT

Vishnyakov E.V., 2nd year postgraduate student (ORCID: 0000-0002-4716-7866), **Orlova K.V.**, 5th year student
Academic advise: **Terninko I.I.**, professor, D. Sc. in Pharmacy, associate professor (ORCID: 0000-0002-2942-1015)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: evgeniy.vishnyakov@pharminnotech.com

Modification of a flavonoid molecule with the introduction of a metal into their structure to obtain mineral complexes can lead to the appearance of new and potentiation of existing pharmacological effects of the precursor flavonoid. In the course of the work, 2 methods for obtaining a complex of zinc with quercetin were evaluated, differing from each other in complexing agents (zinc chloride and zinc acetate), as well as in the presence/absence of a deprotonating agent in a comparative aspect. Method 2, in which there was no deprotonating agent and zinc acetate was used, is the most optimal in terms of yield (53.3% versus 46.8%) and ease of synthesis.

Keywords: *flavonoids, complexes, metals, quercetin, zinc, mineral complexes, synthesis.*

REFERENCES

1. Flavonoid-metal ion complexes: a novel class of therapeutic agents / Selvaraj S. [et al.] // Medicinal Research Reviews. 2013. Vol. 34(4). P. 677–702. DOI: 10.1002/med.21301

2. Kasprzak M.M., Erxleben A., Ochocki J. ChemInform abstract: properties and applications of flavonoid metal complexes // ChemInform. 2015. Vol. 46(29). P. 45853–45877. DOI: 10.1002/chin.201529267

3. Metal complexes of flavonoids: their synthesis, characterization and enhanced antioxidant and anticancer activities / M. Khater [et al.] // Future medicinal chemistry. 2019. 11(21). P. 2845–2867. DOI: 10.4155/fmc-2019-0237.

УДК 61:615.014

СТАНДАРТИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА БИОМЕДИЦИНСКИХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ И ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ: ПРОБЛЕМНЫЕ АСПЕКТЫ И ОСОБЕННОСТИ

Водякова М.А., соискатель
(ORCID: 0000-0002-6008-0554, ResearcherID: B-6785-2018)
Руководитель: **Меркулов В.А.**, д-р мед. наук, проф.
(ORCID: 0000-0003-4891-973X, ResearcherID: D-2794-2018)
Научный центр экспертизы средств медицинского применения
127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2, Российская Федерация
E-mail: vod-marina@mail.ru

Стандартизация клеточных линий для производства биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) и высокотехнологических лекарственных препаратов (ВТЛП) является актуальным вопросом для большинства исследователей и производителей. В данной работе были отражены основные проблемные аспекты и особенности процесса стандартизации клеточных линий.

Ключевые слова: *стандартизация, биомедицинский клеточный продукт, высокотехнологический лекарственный препарат, клеточная линия, контроль качества, процесс производства.*

Стандартизация клеточных линий важна для получения БМКП/ВТЛП высокого качества с определенными характеристиками. В общей сложности для данного процесса можно выделить следующие основные проблемы, связанные:

1. С полиморфизмом физиологических особенностей доноров:

• Возраст

В различных работах показано, что с увеличением возраста донора ухудшается качество клеточного материала, особенно мезенхимальных стромальных клеток [1, 2].

• Пол

Зависимость качества клеточных линий от пола изредка встречается в научных работах. Например. Aksu A.E. и коллеги [3] изучали остеогенную дифференцировку мезенхимальных стромальных клеток из жировой ткани, которая была различна у мужчин и женщин.

• Физиологическое состояние и сопутствующие заболевания

Оценка физиологического состояния донора и принятие во внимание заболеваний, которыми он страдает, необходимо, поскольку качество клеточных линий будет зависеть от следующих факторов, например: здоров или болен человек в принципе [4]; какое именно заболевание присутствует у донора [5, 6]; влияние вредных привычек и факторов развития заболеваний [7]; наличие беременности у женщин [8]. Однако существует также мнение, что каждый человек индивидуален в принципе, следовательно, и его клеточные линии тоже, поэтому различия характеристик для разных доноров может быть огромным [9].

2. С забором клеточного материала:

• Место забора

Получение клеточной линии и ее очистка от сопутствующих популяций клеток имеют прямую зависимость от места выделения из разных органов и тканей. Существуют различия в количественном содержании целевых клеток не только в одном типе ткани, но и в разных участках организма [10, 11].

• Способ забора

Способ забора материала у донора также может влиять на свойства и количество клеток на единицу объема биопсийной ткани [12-14].

Кроме способа и места забора биопсии на свойства клеточной линии могут влиять и другие факторы, связанные с измельчением ткани, обработкой полученной клеточной суспензии и дальнейшим выделением целевых клеток.

3. С валидацией производственного процесса:

• Культивирование

Риск изменения клеточной линии в процессе культивирования вследствие многочисленных факторов очень высок. Поэтому при стандартизации клеточных линий на данном этапе необходимо поддержание постоянства клеточного состава в процессе культивирования (оценка концентраций реактивов, длительность культивирования, контроль подлинности, чистоты и генетической стабильности) без отклонений от заданных допустимых норм, подтверждение стабильности характеристик клеток на разных пассажах, определение критериев верификации для сред, сывороток и других вспомогательных материалов [15-18].

• Криоконсервация и хранение

Криоконсервация и хранение клеточных линий являются важными этапами производства БМКП/ВТЛП, которые влияют на жизнеспособность и активность. При стандартизации этих процессов важно подобрать оптимальные условия криоконсервации: соблюдение температурного режима, возможность использования специальных криосред и криопротекторов. Кроме того, должны быть определены пороговые значения жизнеспособности клеточных линий [15].

Таким образом, в ходе исследования стандартизации клеточных линий, которые в последующем будут использоваться в составе БМКП/ВТЛП для применения человеку, были выделены следующие особенности, которые необходимо учитывать:

1. Оценка значимых характеристик доноров: возраст, пол, наличие сопутствующих заболеваний и другие, а также наличие информации об источнике(ах) клеток (ткани) и способе их забора.

2. Установление диапазона вариабельных параметров клеточной линии, который бы соблюдался при производстве разных серий одного препарата.

3. Осуществление тщательного подбора и стандартизации условий получения, культивирования, криоконсервации и хранения клеточного материала, используемого для производства БМКП/ВТЛП, с валидацией используемых методик. Необходимость разработки оптимальных протоколов получения материала, культивирования клеток и их криоконсервации.

4. Необходимость использования в процессе производства клеточной линии только верифицированных реактивов и растворов, приготовление которых задокументировано соответствующим образом и воздействие которых на клетки не приведет к нежелательному изменению их свойств.

5. Проведение постоянного контроля чистоты и подлинности популяции клеток в процессе производства клеточной линии, что может обеспечить поддержание постоянства клеточного состава в заданном диапазоне параметров и подтверждение стабильности характеристик клеток на пассажах, используемых для введения пациентам.

6. Преимущественное использование в терапевтических целях клеток, прошедших минимально возможное число пассажей (генераций).

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России №056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.13.99 Биотехнологическое получение других продуктов

76.31.33 Биофармация

ЛИТЕРАТУРА

1. Comparison between human fetal and adult skin / N.F. Coolen [et al.] //Archives of dermatological research. 2010. Vol. 302(1). P. 47-55. https://doi.org/10.1007/s00403-009-0989-8

2. Age-related changes in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: consequences for cell therapies / A. Stolzing [et al.] // Mechanisms of Ageing and Development. 2008. Vol. 129(3). P. 163-173. https://doi.org/10.1016/j.mad.2007.12.002

3. Role of gender and anatomical region on induction of osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells / A.E. Aksu [et al.] // Annals of Plastic Surgery. 2008. Vol. 60(3). P. 306-322. https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e3180621ff0

4. Разработка и оптимизация вакцин на основе аутологичных дендритных клеток (ДК), активированных раково-тестикулярными антигенами, для лечения больных меланомой кожи / Т.Л. Нехаева [и др.] // Вестник Уральской Медицины. 2014. Т.5. N 51. С. 92-98.

5. Endothelial differentiation of adipose-derived stem cells from elderly patients with cardiovascular disease / P. Zhang [et al.] // Stem Cell Dev. 2011. Vol. 20(6). P. 977-988. https://doi.org/10.1089/scd.2010.0152

6. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease / M. Vasa [et al.] // Circulation. 2001. Vol. 103(24). P. 2885-2890. https://doi.org/10.1161/hc2401.092816

7. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk / J.M. Hill [et al.] // New England Journal of Medicine. 2003. Vol. 348(7). P. 593-600. https://doi.org/10.1056/NEJMoa022287

8. Adipose-derived stem cell from pregnant women show higher proliferation rate unrelated to estrogen / L.W. Ng [et al.] // Human Reproduction. 2009. Vol. 24(5). P. 1164-1170. https://doi.org/10.1093/humrep/dep001

9. Зависимость пролиферации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток от характеристик доноров / А.С. Григорян [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2009. Т. 4. N 2. С. 70-75.

10. Effect of tissue-harvesting site on yield of stem cells derived from adipose tissue: implications for cell-based therapies / Jurgens W.J. [et al.] // Cell and Tissue Research. 2008. Vol. 332(3). P. 415-426. https://doi.org/10.1007/s00441-007-0555-7

11. Regional anatomic and age effects on cell function of human adipose-derived stem cells / B.M. Schipper [et al.] // Annals of Plastic Surgery. 2008. Vol. 60(5). P. 538-544. https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e3181723bbe

12. Differences in stem and progenitor cell yield in different subcutaneous adipose tissue depots / J.K. Fraser [et al.] // Cytotherapy. 2007. Vol. 9(5). P. 459-467. https://doi.org/10.1080/14653240701358460

13. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cell yield and growth characteristics are affected by the tissue-harvesting procedure / M.J. Oedayrajsingh-Varma [et al.] // Cytotherapy. 2006. Vol. 8(2). P. 166-177. https://doi.org/10.1080/14653240600621125

14. Harvesting human adipose tissue derived adult stem cells: resection versus liposuction / S. Schreml [et al.] // Cytotherapy. 2009. Vol. 11(7). P. 947-957. https://doi.org/10.3109/14653240903204322

15. Устюгов А.Ю., Осипова Е.Ю., Румянцев С.А. Критерии стандартизации клеточных препаратов для клинического использования // Онкогематология. 2013. Т.4. С. 37-45.

16. Aging of mesenchymal stem cell in vitro / M.M. Bonab [et al.] // BMC Cell Biology. 2006. Vol. 7. P. 14. https://doi.org/10.1186/1471-2121-7-14

17. Replicative senecence of mesenchymal stem cells: a continuous and organized process / W. Wagner [et al.] // PloS ONE. 2008. Vol. 3(5). P. 1-12. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002213

18. Цитогенетическое исследование мультипотентных мезенхимных стромальных клеток человека в процессе культивирования / Н.П. Бочков [и др.] // Медицинская генетика. 2009. Т. 8. N 12. С. 3-6.

SUMMARY

CELL LINES STANDARTIZATION FOR THE PRODUCTION OF BIOMEDICAL CELL PRODUCTS AND HIGH-TECH DRUGS: PROBLEM ASPECTS AND FEATURES

Vodyakova M.A., degree seeking student
(ORCID: 0000-0002-6008-0554, ResearcherID: B-6785-2018)
Academic advise: **Merkulov V.A.**, doctor of medical science, prof.
(ORCID: 0000-0003-4891-973X, ResearcherID: D-2794-2018)
Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products
127051, Moscow, Petrovsky Blvd, 8/2, Russian Federation
E-mail: vod-marina@mail.ru

Cell lines standardization for the production of biomedical cell products (BMCP) and high-tech drugs (HTD) is a topical issue for most researchers and manufacturers. This study reflected the main problem aspects and features of the process of cell lines standardization.

Keywords: *standardization, biomedical cell product, high-tech drug, cell line, quality control, manufacturing process.*

REFERENCES

1. Comparison between human fetal and adult skin / N.F. Coolen [et al.] //Archives of dermatological research. 2010. Vol. 302(1). P. 47-55. https://doi.org/10.1007/s00403-009-0989-8

2. Age-related changes in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: consequences for cell therapies / A. Stolzing [et al.] // Mechanisms of Ageing and Development. 2008. Vol. 129(3). P. 163-173. https://doi.org/10.1016/j.mad.2007.12.002

3. Role of gender and anatomical region on induction of osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells / A.E. Aksu [et al.] // Annals of Plastic Surgery. 2008. Vol. 60(3). P. 306-322. https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e3180621ff0

4. Razrabotka i optimizacija vakcin na osnove autologichnyh dendritnyh kletok (DK), aktivirovannyh rakovo-testikuljarnymi antigenami, dlja lechenija bol'nyh melanomoj kozhi / T.L. Nehaeva [et al.] // Vestnik Ural'skoj Mediciny. 2014. Vol. 5(51). P. 92-98. (in Russian).

5. Endothelial differentiation of adipose-derived stem cells from elderly patients with cardiovascular disease / P. Zhang [et al.] // Stem Cell Dev. 2011. Vol. 20(6). P. 977-988. https://doi.org/10.1089/scd.2010.0152

6. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease / M. Vasa [et al.] // Circulation. 2001. Vol. 103(24). P. 2885-2890. https://doi.org/10.1161/hc2401.092816

7. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk / J.M. Hill [et al.] // New England Journal of Medicine. 2003. Vol. 348(7). P. 593-600. https://doi.org/10.1056/NEJMoa022287

8. Adipose-derived stem cell from pregnant women show higher proliferation rate unrelated to estrogen / L.W. Ng [et al.] // Human Reproduction. 2009. Vol. 24(5). P. 1164-1170. https://doi.org/10.1093/humrep/dep001

9. Zavisimost' proliferacii mul'tipotentnyh mezenhimal'nyh stromal'nyh kletok ot harakteristik donorov / A.S. Grigorjan [et al.] // Kletochnaja transplantologija i tkanevaja inzhenerija. 2009. Vol. 4(2). P. 70-75. (in Russian).

10. Effect of tissue-harvesting site on yield of stem cells derived from adipose tissue: implications for cell-based therapies / Jurgens W.J. [et al.] // Cell and Tissue Research. 2008. Vol. 332(3). P. 415-426. https://doi.org/10.1007/s00441-007-0555-7

11. Regional anatomic and age effects on cell function of human adipose-derived stem cells / B.M. Schipper [et al.] // Annals of Plastic Surgery. 2008. Vol. 60(5). P. 538-544. https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e3181723bbe

12. Differences in stem and progenitor cell yield in different subcutaneous adipose tissue depots / J.K. Fraser [et al.] // Cytotherapy. 2007. Vol. 9(5). P. 459-467. https://doi.org/10.1080/14653240701358460

13. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cell yield and growth characteristics are affected by the tissue-harvesting procedure / M.J. Oedayrajsingh-Varma [et al.] // Cytotherapy. 2006. Vol. 8(2). P. 166-177. https://doi.org/10.1080/14653240600621125

14. Harvesting human adipose tissue derived adult stem cells: resection versus liposuction / S. Schreml [et al.] // Cytotherapy. 2009. Vol. 11(7). P. 947-957. https://doi.org/10.3109/14653240903204322

15. Ustjugov A.Ju., Osipova E.Ju., Rumjancev S.A. Kriterii standartizacii kletochnyh preparatov dlja klinicheskogo ispol'zovanija // Onkogematologija. 2013. Vol. 4. P. 37-45. (in Russian).

16. Aging of mesenchymal stem cell in vitro / M.M. Bonab [et al.] // BMC Cell Biology. 2006. Vol. 7. P. 14. https://doi.org/10.1186/1471-2121-7-14

17. Replicative senecence of mesenchymal stem cells: a continuous and organized process / W. Wagner [et al.] // PloS ONE. 2008. Vol. 3(5). P. 1-12. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002213

18. Bochkov N.P. Citogeneticheskoe issledovanie mul'tipotentnyh mezenhimnyh stromal'nyh kletok cheloveka v processe kul'tivirovanija / N.P. Bochkov [et al.] // Medicinskaja genetika. 2009. Vol. 8(12). P. 3-6. (in Russian).

УДК 615.072

МЕТОДИКА КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МНОГОКОМПОНЕНТНОЙ МАЗИ НА ОСНОВЕ ТРИАЗАВИРИНА И ХЛОРАМФЕНИКОЛА

Воробьёва С.И., студ. 4 курса, **Грозина А.В.**, студ. 4 курса,
Красильникова Д.Е., студ. 4 курса, **Мельников А.М.**, студ. 3 курса
Научный руководитель: **Мельникова О.А.**, д.фарм.н., профессор
Уральский государственный медицинский университет
620028, Екатеринбург, ул. Репина д. 3, Российская Федерация
E-mail: krivosib@mail.ru

В статье представлены физико-химические методы анализа экспериментальной мази, механизмы действия основных компонентов. Выполнен подбор растворителя и разработана методика качественного определения многокомпонентной мази спектрофотометрическим методом. Проведен анализ мази методом оптической микроскопии.

Ключевые слова: *триазавирин, хлорамфеникол, мазь, спектрофотометрия, микроскопия, растворимость.*

Последние два года в мировом сообществе постоянно идет поиск новых способов профилактики новой коронавирусной инфекции. COVID-19 ясно дал понять о необходимости не только противовирусных, но и антибактериальных методах профилактики. Точкой приложения для проникновения респираторных вирусов являются верхние дыхательные пути, в частности слизистая оболочка полости носа, для защиты которой целесообразно использовать лекарственные препараты для местного применения, обладающие барьерными функциями. Ввиду доказанных антибактериальных

свойств хлорамфеникола и противовирусной эффективности триазавирина, появилась необходимость комбинирования данных лекарственных препаратов в форме мази, для стандартизации которой встает вопрос о разработке методов качественного определения действующих веществ.

Целью настоящего исследования является разработка методов качественного анализа экспериментальной мази.

Для достижения поставленной цели сформулировали следующие задачи:

1. Провести фармакопейный анализ фармацевтических субстанций, которые входят в состав полученной мази;
2. Установить растворимость данной мази в различных растворителях;
3. Подобрать методику спектрофотометрии для анализируемой мази;
4. Произвести подсчет частиц и установить их размер методом микроскопии.

В рамках исследования провели анализ фармакопейных статей, стандартизирующие лекарственные препараты, физический метод подбора растворителя, физико-химический метод спектрофотометрии, физический метод определения количества частиц – оптическая микроскопия.

Объектом анализа была мазь, массой 100 г, состав которой включал: триазавирин 6 г., хлорамфеникол 1,5 г., наночастиц титана 1 г., NaKMg 6 г., ПЭО 1500, ПЭО 400. Описание: зеленовато-желтого цвета гетерогенная смесь, где дисперсная фаза – порошок, дисперсионная – мазевая основа. Исходя из данных по показателям «растворимость» триазавирина и хлорамфеникола и требований фармакопейной статьи (ФС) к растворимости (не мене трех растворителей разной полярности) для образца мази мы выбрали следующие растворители: вода, спирт этиловый, ацетон, уксусная кислота, диметилформамид. Произвели растворение навески вещества массой 1,0 г в каждом из растворителей в соответствии с требованиями ФС ГФ. Анализируемый образец мази мало растворим в воде и не растворим в спирте, ацетоне, уксусной кислоте и диметилформамиде.

Риамиловир (триазаверин) является синтетическим аналогом оснований пуриновых нуклеозидов (гуанина), с широкой противовирусной активностью. Механизм действия вещества заключается в ингибировании синтеза вирусных РНК и репликации геномных фрагментов. Предполагаемые мишени – РНК-полимераза, гемагглютин, клеточная протеиндисульфидизомераза [3].

Хлорамфеникол (левомицетин) представитель антибиотиков широкого спектра действия, обладающий бактериостатическим противомикробным действием. В микробной клетке происходит нарушение синтеза белка на стадии переноса аминокислот т-РНК на рибосомы [3].

Для качественного определения анализируемого образца, в соответствии с ФС ГФ на действующие компоненты, выбран метод спектрофотометрия [1]. Достоинствами данного метода являются низкий предел обнаружения определяемого вещества, высокие чувствительность и селективность, быстрота проведения анализа, автоматизация выдачи результатов.

Исходя из методики, представленной ФСП на триазавирин, где концентрация рабочего раствора составляет 0,02 мг/мл, рассчитали точную навеску триазавирина 0,005 г, которую поместили в мерную колбу на 250,0 мл. Растворили навеску водой и довели до метки. Получили максимумы поглощения при длине волны (λ) 258 нм и 358 нм, а минимум поглощения λ = 301 нм.

Для определения хлорамфеникола, точную навеску 0,005 г субстанции и растворили в воде, затем довели объем раствора водой до 250 мл. Получили максимум поглощения при λ =278 нм и минимум поглощения при λ = 237 нм [2].

По вышеуказанным методикам на действующие вещества анализируемой мази разработали методику качественного определения. Точную навеску массой 0,1299 г поместили в мерную колбу на 250,0 мл, растворили водой и довели до метки. Все измерения проводились при диапазоне λ = 220 – 600 нм в кювете УФ-спектрометра с толщиной поглощающего слоя 1 см относительно воды (рис. 1). По результатам проведенных растворений, выбором раствора сравнения стала вода. Максимумы поглощения составили λ = 258 нм и λ = 358 нм, а минимум поглощения λ = 237 нм.

Выявлены совпадения максимумов поглощения образца мази и триазавирина при λ = 258 нм, λ = 358 нм и минимум мази и хлорамфеникола при λ = 237 нм. Максимумы поглощения веществ, изолированных и в смеси, отличаются ввиду присутствия межмолекулярного взаимодействия.

Полученные расхождения в спектрах объясняются межмолекулярным взаимодействиями между триазавирином и хлорамфениколом.

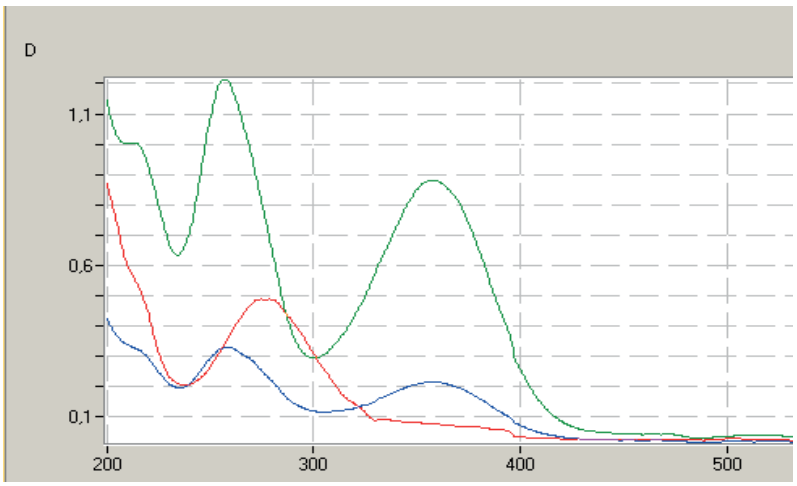


Рисунок 1. УФ-спектр анализируемой мази, стандартных образцов триазавирина и хлорамфеникола
(Мазь Триазавирин Хлорамфеникол)

Проведен метод оптической микроскопии. 0,01 г исследуемой мази нанесли на предметное стекло, добавили 1 каплю β-нафтола, нагрели на водяной бане (рис. 2) [1].

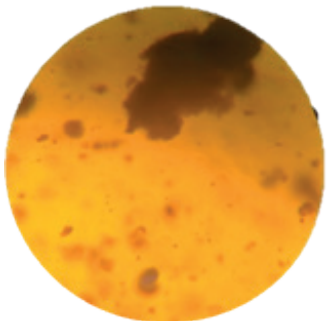


Рисунок 2. Увеличение микроскопа х100

Произведен подсчет частиц и установлен их размер с помощью микроскопа Micros Austria. Средний размер частиц составляет 150 мкм при увеличении 100, количество частиц на 10 см составляет 74 (рис. 3).

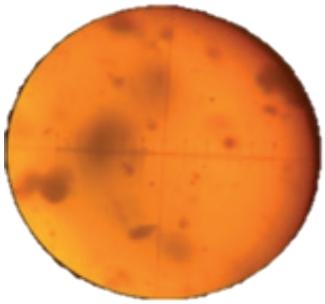


Рисунок 3. Измерение длины объекта с помощью окуляра-микрометра

В ходе работы было установлено, что многокомпонентный образец мази мало растворим в воде и не растворим в спирте, ацетоне, уксусной кислоте и диметилформамиде.

Выявлены совпадения максимумов поглощения образца мази и триазавирина, минимум мази и хлорамфеникола

Полученные расхождения в спектрах объясняются межмолекулярным взаимодействиями между триазавирином и хлорамфениколом.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея. XIV изд. Т. I. 2018. [Электронный ресурс] URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/99/index.html (дата обращения 02.09.2021).

2. Государственная Фармакопея. XIV изд. Т. III. 2018. [Электронный ресурс] URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_3/HTML/339/index.html (дата обращения 02.09.2021).

3. Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный ресурс] URL:https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx (дата обращения 02.09.2021).

4. Эффективность и безопасность применения препарата риамиловир в лечении пациентов с COVID-19 / А.У. Сабитов [и др.] //Антибиотики и химиотерапия. 2021. Т. 66. N. 1-2. С. 33-37.

5. Смоленков А.Д. Спектрофотометрические и флуориметрические методы определения гидразина и его метилированных аналогов // Журнал аналитической химии. 2012. Т. 67. N. 2. С. 133-133.

SUMMARY

METHOD OF QUALITATIVE DETERMINATION OF A MULTICOMPONENT OINTMENT BASED ON TRIAZAVIRIN AND CHLORAMPHENICOL

Vorobyova S.I., 4th year student, **Grozina A.V.**, 4th year student,
Krasilnikova D.E., 4th year student, **Melnikov A.M.**, 3rd year student
Academic advise: **Melnikova O.A.**, Doctor of Pharmacy, Professor
Ural State Medical University
620028, Yekaterinburg, st. Repina 3, Russian Federation
E-mail: krivosib@mail.ru

The article presents physical and chemical methods for the analysis of an experimental ointment, the selection of a solvent is carried out, and a method for the qualitative determination of a multicomponent ointment by the spectrophotometric method is developed.

Keywords: *tirazavirin, chloramphenicol, ointment, spectrophotometry, microscopy, solubility.*

REFERENCES

1. State Pharmacopoeia. Edition XIV. Vol. I. [Internet] URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/99/index.html (Accessed 02.09.2021).

2. State Pharmacopoeia. Edition XIV. Vol. III. [Internet] URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_3/HTML/339/index.html (Accessed 02.09.2021).

3. State register of medicines. [Internet] URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx (Accessed 09/02/2021).

4. Efficacy and safety of riamilovir in the treatment of patients with COVID-19 / A.U. Sabitov [et al.] // Antibiotics and Chemotherapy. 2021. Vol. 66(1-2). P. 33-37.

5. Smolenkov A.D. Spectrophotometric and fluorimetric methods for the determination of hydrazine and its methylated analogues // Journal of Analytical Chemistry. 2012. Vol. 67(2). P. 133-133.

УДК 544.2

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ЖЕЛЕЗА (III) С ГЛИЦИНОМ

Воронина А.В., Кучук М.И., Яковенко М.А., студ. 3 курс
Научный руководитель: **Дмитриева И.Б.**, доцент, д.х.н.,
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anastasiya.voronina@spcpu.ru

Проведено исследовано образование комплексов Fe (III) с глицином в водных растворах методом спектрофотомерии. Анализ электронных спектров показал наличие смещения максимума пиков, соответствующих данным катионам, в присутствии глицина, что свидетельствует об образовании комплексов между катионом железа и глицином. Установлено преобладание специфического взаимодействия с анионной формой глицина.

Ключевые слова: *комплексообразоване, спектроскопия, лиганд, глицин, аминокислоты, переходные металлы.*

Традиционный подход к созданию лекарственных средств (ЛС) заключается в поиске новых классов химических соединений, обладающих определенной биологической активностью, а также структурных аналогов уже известных фармакологических препаратов. Однако в последние годы повысился интерес к наиболее рациональному использованию известных лекарственных веществ, а также к возможности их химической модификации, в том числе к созданию комплексных соединений с эссенциальными микроэлементами.

Известно, что в ряде случаев комплексообразование способно не только усилить фармакологическое действие, но и уменьшить токсичность, свести к минимуму нежелательное побочное действие лигандов. Токсичность лигандов можно

объяснить способностью некоторых лекарственных веществ образовывать in vivo комплексы и усугублять, тем самым, имеющийся в больном организме дисбаланс микроэлементов (МЭ).

Введение эссенциальных МЭ в виде комплексных соединений с ЛС нередко повышает общую резистентность организма и ускоряет выздоровление. Хорошие результаты были получены при использовании в комплексном лечении острых бронхитов ферроплекса, а также препаратов Co (2) и Si (2). Комплексы Fe (3), Ni (2) и Co (2) оказались эффективными при лечении тифопаратифо с метионином и меди с пиридберином – при экспериментальном шигелезе. Применение комплексов Co (2), Cu (2) и Fe (3) с ГИНК и её производными позволило снизить токсичность противотуберкулезных средств при сохранении их высокой активности. Комплексы Co (3) с некоторыми сульфаниламидами заметно тормозили рост грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, оказывали выраженное терапевтическое действие при отравлении фосфорорганическими соединениями, кроме комплекса Co (2) с сульгином. Причём наивысшим терапевтическим эффектом обладает соединение, в котором координация осуществлялась за счет азота аминогруппы бензольного кольца.

Аминокислоты проявляют не только кислотно-основные свойства, но и способны образовывать комплексы с различными металлами [1-3]. Большинство аминокислот образуют внутрикомплексные соединения с ионами металлов. Понятия «хелат» и «внутрикомплексное соединение» часто отождествляются. Внутрикомплексные соединения отличаются рядом специфических свойств, широко используемых в анализе различных элементов.

Хелаты, или циклические комплексные соединения, отличаются от других координационных соединений тем, что их лиганды мульти- (или поли-) дентантны и поэтому присоединяются к центральному атому одновременно с помощью нескольких групп. Такой лиганд как бы охватывает центральный атом клешнёй, отсюда их стали называть хелатами (от греч. χιλn – клешня). Хелаты могут содержать один или несколько циклов [1].

Для нас особый интерес представляют нейтральные координационно-насыщенные циклические комплексные соединения, названные Гринбергом внутрикомплексными [3,4]. Для образования таких соединений лиганд должен обязательно иметь и ионогенные, и неионогенные группы, а металл – координационное число, существенно большее, чем заряд.

Цель настоящей работы состояла в исследовании комплексообразования в системе Fe (III) – глицин.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

− провести анализ методов исследования комплексообразования;

− приготовить серию изомолярных растворов хлорида железа и глицина;

− определить аналитические длины волн для растворов хлорида железа и глицина;

− измерить зависимость оптической плотности от длины волны для серии изомолярных растворов смесей хлорида железа и глицина при варьировании их соотношения.

В настоящей работе в качестве основных объектов исследования использовались: глицин мари ч.д.а. хлорид железа (III) марки ч.

Изучение комплексообразования в системе Fe (III) – глицин проводили спектрофотометрическим методом изомолярных серий на спектрофотометре СФ-2000.

Необходимым условием метода изомолярных серий является пропорциональность между оптической плотностью D и выходом реакции (накоплением комплекса). Уравнением связи для окрашенных комплексных соединений является закон Бугера – Ламберта – Бера:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l, \qquad (1)$$

где ε – молярный коэффициент поглощения; l – толщина поглощающего слоя раствора c – концентрация.

Взаимодействие между металлом M и лигандом B протекает по реакции:

$$mM + nB \leftrightarrow M_mB_n, \qquad (2)$$

для которой константа устойчивости:

$$\beta = [M_mB_n,]/[M]^m[B]^n. \qquad (3)$$

В нашем случае мы готовили равномолярные концентрации $FeCl_3$ и $NiNO_3$ с $C = 5{\cdot}10^{-2}$ моль/л. Такой же концентрации готовили водные растворы аминокислоты. Затем сливали различные равномолярные объёмы (V, мл) аминокислоты и $FeCl_3$ ($NiNO_3$) так, чтобы суммарный объём оставался постоянным. Оптическая плотность растворов определялась на спектрофотометре СФ-2000 в кварцевых кюветах 10 мм. Для всех исследуемых комплексов находилась аналитическая длина волны. Для этого измеряли оптическую плотность полученных растворов при различных длинах волн. Затем строили график зависимости $D = f(V_B/(V_B+V_M))$. Максимум физического свойства соответствовал максимальному выходу комплекса M_mB_n. Абсцисса этой точки характеризовала состав комплекса, так как $V_M/V_B = m/n$. Соотношения V_M/V_B были следующими: 20 мл/0 мл; 16 мл/4 мл; 12 мл/8 мл; 8 мл/12 мл; 4 мл/16 мл.

График зависимости D – представленный на рис. 1, для различных соотношений приливаемых равномолярных объёмов водных растворов глицина и $FeCl_3$ ($C_г = 5 \cdot 10^{-2}$ моль/л, $C_{FeCl3} = 5 \cdot 10^{-2}$ моль/л), показывает чёткое смещение пиков оптической плотности в растворах содержащих глицин, по сравнению с растворами чистого $FeCl_3$. Это, несомненно, говорит о наличии в растворах комплексных соединений Fe (III) – глицин. Отметим, что для всех кривых на данном рисунке характерно наличие двух пиков с более высокой и более низкой оптической плотностью. Мы связываем существование пика с меньшей оптической плотностью с координационным взаимодействием Fe (III) и OH^--ионов, которых при данном значении pH весьма малое количество.

Для изучения взаимодействия между компонентами в растворе, данные этого эксперимента мы оценили с помощью метода изомолярных серий, описанного выше. Из полученного графика зависимости на рис. 2 видно, что максимум данной кривой по оси $V_г / V_г + V_{FeCl_3}$ смещён в область от 0,2 до 0,6. Максимум физического свойства соответствует максимальному выходу комплекса M_mB_n. Абсцисса максимума характеризует состав комплекса, так как $V_{FeCl_3} / V_г = m/n$. В нашем случае состав комплексов варьируется от Fe_4Gly до Fe_2Gly_3.

Для изучения влияния изменения относительных количеств ионных форм глицина на комплексообразование с Fe (III) проведено изучение комплексообразования при более основных значения pH. В этом случае отмечалось, что величина пика, связанная с более высоким содержанием OH^- увеличилась. Этот факт подтверждает наши предположения высказанные выше.

Исходя из строения и свойств внутрикомплексных соединений аминокислот, описанных выше, а также с учётом изменения относительного количества анионной формы глицина, при увеличении значения pH системы, данное изменение состава можно объяснить стремлением к образованию более устойчивых координационных соединений атома Fe (III) с анионом глицина, по мере увеличения его содержания в растворе.

Таким образом, из полученных экспериментальных данных, подтверждено преобладание специфического взаимодействия Fe (III) с анионной формой глицина.

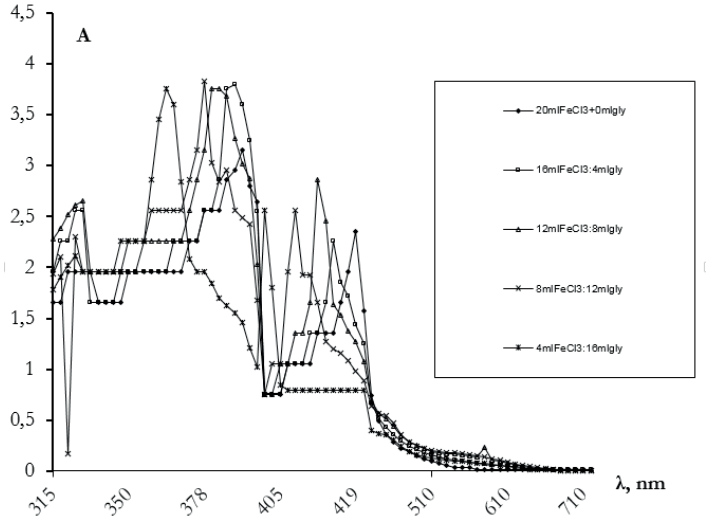


Рисунок 1. Электронные спектры поглощения в изомолярных растворах $FeCl_3$ и глицина

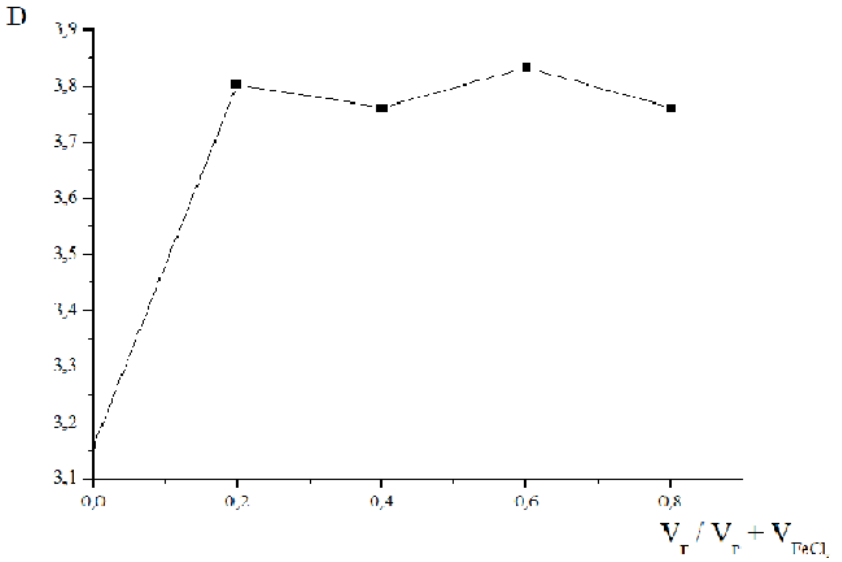


Рисунок 2. Зависимость пиков оптической плотности комплекса Fe (III) – глицин от его состава

Исследовано образование комплексов Fe (III) с глицином в водных растворах методом спектрофотомерии. Анализ электронных спектров показал наличие смещения максимума пиков, соответствующих данным катионам, в присутствии глицина, что свидетельствует об образовании комплексов между катионом железа и глицином. Установлено преобладание специфического взаимодействия с анионной формой глицина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедева Л.И. Комплексообразование в аналитической химии. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1985. 174 с.
2. Coordinating radiometals of copper, gallium, indium, yttrium, and zirconium for PET and SPECT imaging of disease / T.J. Wadas [et al.] // Chem. Rev. 2010. N. 110(5) P.2858-2902.
3. Gallium(III) Complexes of trans-Bis(2-hydroxybenzyl) Cyclen Derivatives: Absence of a Cross-Bridge Proves Surprisingly More Favorable / C.V. Esteves [et al.] // Inorg. Chem. 2014. Vol. 53(9). P. 4371-4386.
4. Fielding L. NMR methods for the determination of protein–ligand dissociation constants // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. 2007. N.51(4). P. 219–242.

SUMMARY

COMPLEX FORMATION OF IRON (III) WITH GLYCINE

Voronina A.V., Kuchuk M.I., Yakovenko M.A., student 3nd year
Academic advise: **Dmitrieva I.B.**, PhD of Chemical Sciences, Associate Professor
St. Petersburg Chemical and Pharmaceutical University
197022, St. Petersburg, Professor Popov str., 14, Russia
E-mail: anastasiya.voronina@spcpu.ru

The formation of Fe (III) complexes with glycine in aqueous solutions was studied by spectrophotometry. An analysis of the electronic spectra showed the presence of a shift in the maximum of the peaks corresponding to these cations in the presence of glycine, which indicates the formation of complexes between the iron cation and glycine. The predominance of specific interaction with the anionic form of glycine was established.

Keywords: *complexation, spectroscopy, ligand, glycine, amino acids, transition metals.*

REFERENCES

1. Lebedeva L.I. Complex formation in analytical chemistry. L.: Leningrad Publishing House. un-ta, 1985. 174 p.
2. Coordinating radiometals of copper, gallium, indium, yttrium, and zirconium for PET and SPECT imaging of disease / T.J. Wadas [et al.] // Chem. Rev. 2010. N. 110(5) P.2858-2902.
3. Gallium(III) Complexes of trans-Bis(2-hydroxybenzyl) Cyclen Derivatives: Absence of a Cross-Bridge Proves Surprisingly More Favorable / C.V. Esteves [et al.] // Inorg. Chem. 2014. Vol. 53(9). P. 4371-4386.
4. Fielding L. NMR methods for the determination of protein–ligand dissociation constants // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. 2007. N.51(4). P. 219–242.

РАЗРАБОТКА ПРОТОТИПА РЕФЕРЕНС-ОБРАЗЦА ДЛЯ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Гайдашев И.А., асп. 1 года обучения
Научный руководитель: **Сыроешкин А.В**., докт. био. наук., зав. каф
Российского Университета Дружбы Народов (РУДН), Медицинский институт РУДН
117198, Москва, Миклухо-Маклая, д. 8, Российская Федерация
E-mail: bam50@bk.ru

Методы анализа элементного состава лекарственного растительного сырья (ЛРС), – GZ-AAS, ICP-MS – являются материалоёмкими методами (цена одного элемент опредления – от 10 евро) с длительной пробоподготовкой и значительными трудозатератами (более 4 человеко-часов на 1 пробу с определением 3-5 элементов). Условия QA-QC контроля требуют высокой квалификации исполнителя, сами аналитические процедуры предполагают работу с концентрированными кислотами. Альтернативой этим методам является рентгено-флуоресцентный анализ (РФА), основанный на измерении интенсивности электромагнитного излучения, испускаемого элементами в результате облучения возбуждающим рентгеновским излучением.

РФА лишен недостатков вышеперечисленных методов, но имеет значительные ограничения при определении элементного состава в сложной органической матрице. Спектр флуоресценции критически зависит от рассеивающих свойств элемент-содержащего микроокружения.

Ключевые слова: *разработка референс-образца, микроэлементный анализ ЛРС, рентгено-флуоресцентный анализ.*

Целью данного исследования является разработка прототипа референс-образца.

Задачей данного исследования являлось:

Обеспечение надлежащей пробоподготовки, для соответствия референс-образца следующим показателям: однородность, влажность, дисперсный состав, стабильность.

В качестве образцов ЛРС были выбраны свежие побеги K. Daigremontiana, которые были срезаны непосредственно перед гомогенизацией.

Измельчение проводилось с помощью гомогенизатора роторного типа прямым ножевым ударом, в течение 15 минут до достижения однородности, масса измельченного сырья составила 169.07 г.

Далее, гомогенизированное сырье помещалось в пластиковые, герметично закрываемые контейнеры и помещалось в лиофилизатор.

Лиофильная сушка сырья проводилась на аппарате Benchtop Freeze Dryer, Labconco при -75°С до полного прекращения конденсации.

Масса высушенного образца 23.67 г

Измельчение высушенного образца проводилось с помощью метода прямого ножевого удара с помощью мельницы ЛМ-202 в течение 20 мин.

Просеивание материала осуществлялось с помощью нейлонового сита <63 мкм до полного отделения механических включений.

Было произведено разделение общей массы сырья на 6 разных образцов, разделенных по методу квартования.

Измерения производились на рентгено-флуоресцентном спектрометре Shimadzu-7000 с энергодисперсионным анализатором, диапазон энергий возбуждающего рентгеновского излучения от 1 до 30 keV.

В кюветы из нейтрального пластика были помещены следующие образцы: сухое сырье после гомогенизации, измельченное сырье, просеянное, 6 разных образцов после просеивания, разделенных по методу квартования, навеска составила 1.0000 г. Испытания на стабильность прототипа референс-образца проводились с помощью РФА в течение 30 дней, продемонстрировав менее, чем 5% отклонения от исходных значений.

Покровным материалом выступала майларовая пленка толщиной 6 мкм.

Также, в рамках испытания на однородность был проведен дисперсный анализ с помощью метода DLS.

Измерения проводились на приборе фирмы Malvern, модель Zetasizer.

Методика включала в себя приготовление серии из трех суспендированных образцов просеянного ЛРС в пробирках Eppendorf 1.5 мл, навеска составила 50 мг.

Образцы были подвергнуты центрифугированию при 2500 g в течение 20 мин.

После центрифугирования была взята аликвота 200 мкл, добавлена в пробирку и доведена дистиллированной водой полученной на установке Milli-Q до 1.5 мл.

Микроэлементный анализ методом РФА высушенного цельного сырья показал следующие значения: S (1,61%), Cl (11,39%), K (12,49%), Fe (0,198%), Zn (0,036%).

Для высушенного сырья измельченного, до просеивания: S (1,51%), Cl (11,04%) K (14,98%),Fe (0,308%), Zn (0,07 %).

В результате рентгено-флуоресцентного анализа был получен элементный профиль прототипа референс-образца согласно протоколам Shimadzu: S (1,76%), Cl (10,84%), K (13,82%), Fe (0,32%), Zn (0,07%).

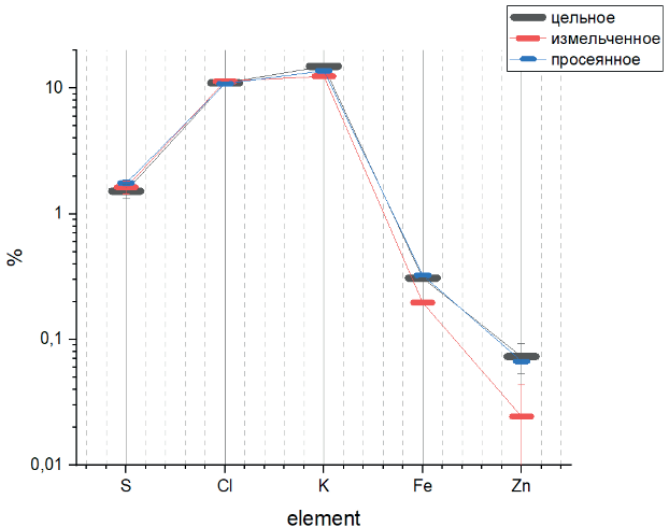


Рисунок 1. Графическое представление результатов микроэлементного анализа по методу РФА для цельного сухого, измельченного и просеянного измельченного ЛРС (прототип референс-образца)

Энергия возбуждающего излучения для каждого элемента составила 2,32; 2,63; 3,32; 3,69; 6,4; 8,64 keV соответственно.

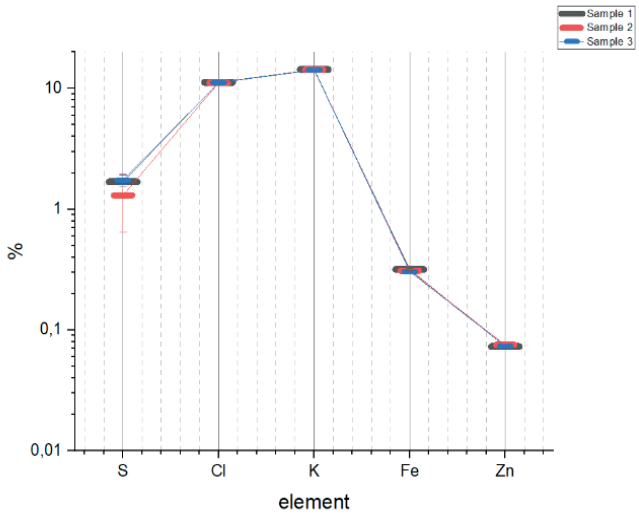


Рисунок 2. Графическое представление результатов микроэлементного анализа по методу РФА по 1-3 отдельным образцам, разделенные по методу квартования

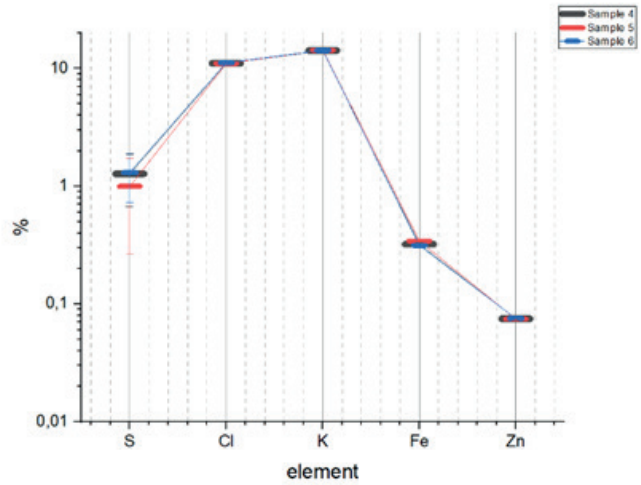


Рисунок 3. Графическое представление результатов микроэлементного анализа по методу РФА по 4-6 отдельным образцам, разделенные по методу квартования

Таблица1 – Приведены данные полученные в результате испытаний на однородность по 1-3 отдельным образцам, разделенные по методу квартования

Элемент/№ Образца/содержание;%	1	2	3
S	1,68	1,30	1,74
Cl	11,23	11,15	11,17
K	14,37	14,30	14,24
Fe	0,32	0,31	0,31
Zn	0,07	0,07	0,07

Таблица 2 – Приведены данные полученные в результате испытаний на однородность по 4-6 отдельным образцам, разделенные по методу квартования

Элемент/№Образца/содержание;%	4	5	6
S	1,27	1.03	1,30
Cl	11,07	11,05	11,17
K	14,22	14,31	14,29
Fe	0,32	0,34	0,31
Zn	0,07	0,07	0,07

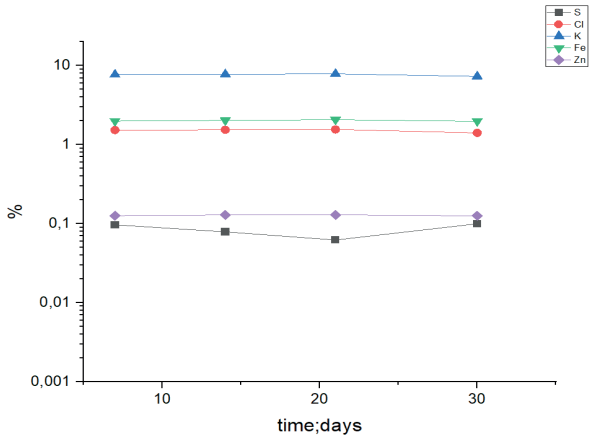


Рисунок 4. Графическое представление испытаний на стабильность прототипа референс-образца проводились с помощью РФА в течение 30 дней, продемонстрировав менее, чем 5% отклонения от исходных значений

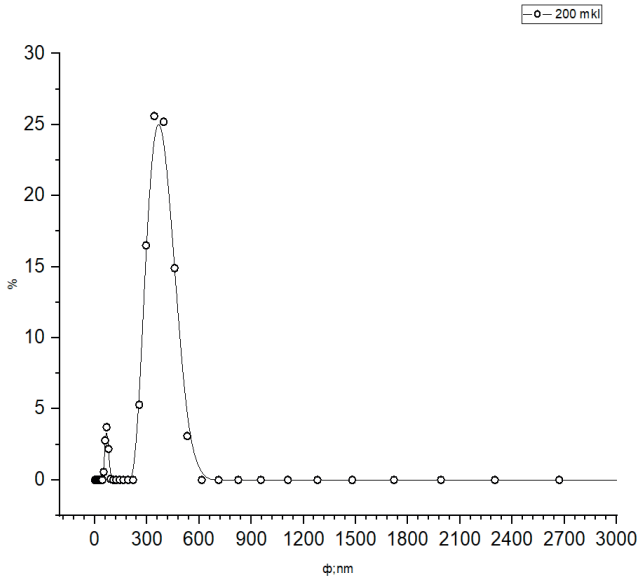


Рисунок 5-Графическое представление испытаний на стабильность

Также, в рамках испытания на однородность был проведен дисперсный анализ с помощью метода DLS, показывающий наличие основной фракций (по массовой доле) около 40 мкм и минорной фракции около 0,4 мкм.

Для метрологического обеспечения аналитического определения элементов с помощью РФА необходим референс-образец, созданный, по известной практике МАГАТЭ [1], в результате сличений и интеркалибраций.

В настоящей работе мы изготовили прототип рефренс-образца с применением следующих стадий: 1) гомогенизации свежесрезанных побегов *K. daigremontiana; 2)* лиофилизацией гомеганата; 3) измельчением лиофилизата методом прямого ножевого удара; 4) просеиванием через нейлоновое сито с диаметром ячеек <63 мкм. Просеивание существенно повышает однородность сырья, что было доказано с помощью измерений 6 разных образцов, разделенных по методу квартования.

Элементный профиль прототипа референс-образца по протоколу РФА фирмы Shimadzu: S (1,518%), Cl (11,048%), K (14,987%), Fe (0,308%), Zn (0,073%).

Также, в рамках испытания на однородность был проведен дисперсный анализ с помощью метода DLS, показывающий наличие основной фракций (по массово доле) около 40 мкм и минорной фракции около 0,4 мкм.

Испытания на стабильность прототипа референс-образца проводились с помощью РФА в течение 30 дней, продемонстрировав менее, чем 5% отклонения от исходных значений.

Полученные данные по элементному составу прототипа референс-образца и его дисперсным характеристикам позволяют рекомендовать его для проведения российских и международных сличений и интеркалибраций в рамках ведомтсвенных инициатив и практики работы TEU UNESCO.

ЛИТЕРАТУРА

1. Development Of Zinc-Enriched Medicinal And Food Plants / A. Syroeshkin [et al.] // Systematic Reviews in Pharmacy. 2020. Vol. 11(10). P.726-731 DOI:10.22159/ijap.2021v13i4.41818

SUMMARY

DEVELOPMENT OF A REFERENCE SAMPLE PROTOTYPE FOR EXPRESS ANALYSIS OF THE ELEMENTAL COMPOSITION OF MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS

Gaidashev I.A., 1nd year postgraduate student,
Academic advise: **Syroeshkin A.V.,** PhD. bio. sciences., head. Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry
Peoples' Friendship University of Russia (RUDN), RUDN Medical Institute
117198, Moscow, Miklukho-Maklaya, 8, Russian Federation
E-mail: bam50@bk.ru

Methods for analyzing the elemental composition of medicinal plant raw materials (LRS), – GZ-AAS, ICP-MS – are material-intensive methods (the price of one element of determination is from 10 euros) with long sample preparation and significant labor costs (more than 4 man-hours per 1 sample with the determination of 3-5 elements). The conditions of QA-QC control require high qualification of the performer, the analytical procedures themselves involve working with concentrated acids. An alternative to these methods is X-ray fluorescence analysis (XFA), based on measuring the intensity of electromagnetic radiation emitted by elements as a result of irradiation with exciting X-ray radiation. XFA lacks the disadvantages of the above methods but has significant limitations in determining the elemental composition in a complex organic matrix. The fluorescence spectrum critically depends on the scattering properties of the element-containing microenvironment.

REFERENCES

1. Development Of Zinc-Enriched Medicinal And Food Plants / A. Syroeshkin [et al.] // Systematic Reviews in Pharmacy. 2020. Vol. 11(10). P.726-731 DOI:10.22159/ijap.2021v13i4.41818

УДК 615.322

ВЫБОР МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ ДУШИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ, ОБОГАЩЕННЫХ ФЛАВОНОИДАМИ

Горбунова Е.А., студ. 4 курса **(**ORCID: 0000-0003-3801-4048)
Научный руководитель: **Басевич А.В.**, доц., к. фарм. н. (ORCID: 0000-0002-6864-6794)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ekaterina.gorbunova@spcpu.ru

Было изучено влияние метода экстрагирования флавоноидов из лекарственного растительного сырья травы душицы обыкновенной на выход целевого биологически активного вещества – лютеолина. Также, данные экспериментов были сравнены с существующими исследованиями на данную тему.

Ключевые слова: *Фитосубстанция, флавоноиды, экстрагирование, лютеолин, мацерация.*

Трава Душицы обыкновенной (Oríganum vulgáre) в настоящее время используется для изготовления лекарственных средств. В основном, препараты из травы душицы применяются при заболеваниях верхних дыхательных путей как отхаркивающее и противовоспалительное средство, однако химический состав травы душицы позволяет рассматривать ее как перспективный источник для выделения флавоноидов.

Качественный состав травы душицы включает в себя такие флавоноиды как апигенин, лютеолин и кверцетин [1]. Наибольший интерес для нас представляет именно лютеолин, потому что наличие этой добавки в рационе человека способствует профилактике сердечно-сосудистых заболеваний, осложнений от диабета. Препараты на основе этого флавоноида уже представлены на рынке как в качестве комплекса, так и в чистом виде.

Для стандартизации травы душицы Фармакопея России XIV издания предлагает исследование сырья по количественному показателю «эфирные масла», однако ввиду значительного содержания флавоноидов становится очевидным необходимость введения такого количественного показателя как «содержание суммы флавоноидов». Проект такой фармацевтической статьи был разработан крупным российским производителем ООО «Красногорсклексредства» [2].

Движущей силой процесса экстракции является разность концентраций, поэтому увеличить выход целевых биологически активных веществ возможно, создавая такие условия, при которых эта самая разность концентраций поддерживается высокой. В качестве перспективных в данном случае методов экстракции были выбраны мацерация с перемешиванием, перколяция и ремацерация с делением экстрагента на части.

Перколяция – динамический метод извлечения целевых соединений, то есть разность концентраций между растворителем и ЛРС (лекарственное растительное сырье) все время ведения процесса остаётся высокой, поэтому, используя максимально эффективный растворитель, можно добиться наибольшего выхода.

Мацерация же, напротив, метод, в котором растворитель постоянно насыщается веществами, что замедляет процесс извлечения. Такой метод без модификаций не является перспективным, но, используя термодинамические законы можно интенсифицировать процесс за счёт перемешивания или нагревания. Перемешивание, за счёт постоянного движения слоев сырья и растворителя помогает увеличивать разность концентраций, поэтому, подобрав эффективную скорость и время перемешивания можно добиться большего выхода.

Также, интенсифицировать высвобождение целевых веществ можно за счет деления экстрагента на части. Трехкратная мацерация должна обеспечить высокий выход экстрактивных веществ за счет постоянного поддержания высокой разности концентраций. Такой метод экстрагирования позволяет сократить время ведения процесса, соответственно сократить затраты и ограничить высвобождение балластных веществ.

Таким образом, трава душицы обыкновенной является перспективным сырьем для получения извлечений, обогащенных флавоноидами. Для выбора оптимальных параметров необходимо определиться с методом экстракции. Ранее было установлено, что оптимальным экстрагентом для извлечения суммы флавоноидов в пересчете на цианозид спирт этиловый 70%. Также, были исследованы в качестве методов экстрагирования ультразвуковая и вихревая экстракции, однако выход суммы флавоноидов в извлечении, в пересчете на лекарственное растительное сырье составлял не более 55%, что не позволяет использовать данные методы как рациональные [3].

Целью данной работы является разработка метода экстрагирования и очистки извлечений из травы душицы, максимально обогащенных суммой флавоноидов, в пересчете на цианозид.

Для реализации обозначенной цели в рамках данной статьи были сформированы следующие **задачи:**

• Изучение зависимости выхода флавоноидов от метода экстрагирования (мацерация, перколяция);

• Определить оптимальных параметров ведения процесса экстрагирования;

1. **Объект исследования**

Трава Душицы обыкновенной (лат. Origanum vulgare)- вид растений из семейства Яснотковых (Lamiaceae), род Душица в соответствие с ФС.2.5.0012.15 Душицы обыкновенной трава.

2. **Количественное определение суммы флавоноидов методом ультрафиолетовой дифференциальной спектрометрии**

Исследования по ультрафиолетовой спектрометрии проводили на спектрофотометре 56. 1 мл извлечения и раствора помещают в мерную колбу на 25 мл, добавляют 3 мл 2% спиртового раствора $AlCl_3$, доводят 70% этиловым спиртом до метки. Оптическую плотность раствора полученного раствора измеряют при длине волны 400 нм в кювете с шириной 10 мм.

Далее концентрацию веществ (X) в пересчете на цианозид находим по формуле:

$$X = \frac{D * V * 25 * 100}{345 * m}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

345 – удельный показатель поглощения комплекса цианозида с алюминия хлоридом при 400 нм;

V – объем извлечения в мерном цилиндре;

m – масса сырья в граммах.

3. **Получение извлечений методом Перколяция**

5.00 г измельченного сырья заливали небольшим количеством экстрагента послойно, оставляли под прессом каждый слой на 10 минут для набухания и эффективного удаления воздуха из пор сырья. Далее набухшее сырье загружали в перколятор, добавляя экстрагент для формирования над слоем сырья зеркала. После, осуществляли процесс экстрагирования со скоростью 0,3 мл в минуту. Соотношение экстрагента к сырью в вытяжке получается 1:15. Отбор проб производился через каждые 5 мл извлечения и анализировался методом дифференциальной спектрометрии [4].

4. **Получение извлечений методом Мацерация**

5.0 г измельченного сырья помещали в емкость для мацерации и заливали экстрагентов в соотношении 1:15. После, сырье экстрагировали при перемешивании со скорость 80 об/мин, делая отборы проб по 5 мл и анализировали методом дифференциальной спектрометрии.

5. **Ремацерация с делением экстрагента на части**

5.0 г измельченного сырья помещали в емкость для мацерации. В первичной ремацерации соотношение сырье: экстрагент относится как 1:20, вторичная и третичная как 1:15. Процесс ведется при перемешивании со скоростью 80 об/мин при комнатной температуре.

Этап 1: мацерация с перемешиванием. На данном этапе исследования проводилось изучение выхода суммы флавоноидов методом мацерации в зависимости от времени экстрагирования. На рисунке 1 представлены результаты исследования.

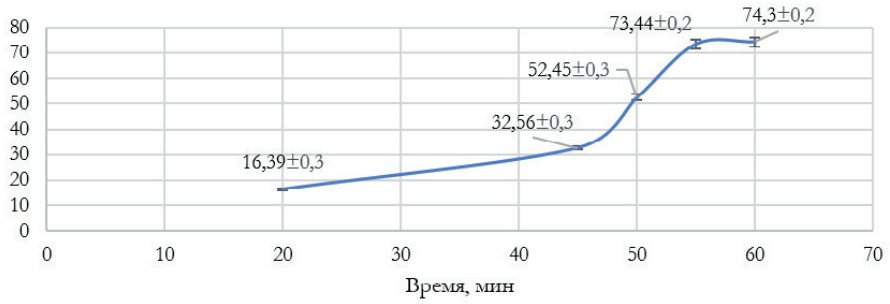


Рисунок 1. График зависимости выхода по сумме флавоноидов от времени при экстрагировании методом мацерации

В ходе исследования отбор проб осуществлялся в следующие временные промежутки: 20, 45, 50, 55 и 60 минут. По данным, представленным на рисунке 1, что после 4 точки, которая соответствует 55 минуте экстрагирования высвобождение флавоноидов становится незначительным, а это значит, что оптимальное время ведения процесса экстракции суммы флавоноидов методом мацерации при перемешивании на скорости 80 об/мин составляет именно 55 минут, при этом выход суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин составляет 74,3±0,2%

Этап 2: трехкратная ремацерация. Такой метод ведения процесса позволит высвободить большее количество флавоноидов за счет поддержания высокой разности концентраций, устанавливающейся делением экстрагента на части. Результаты опыта приведены на рисунке 2.

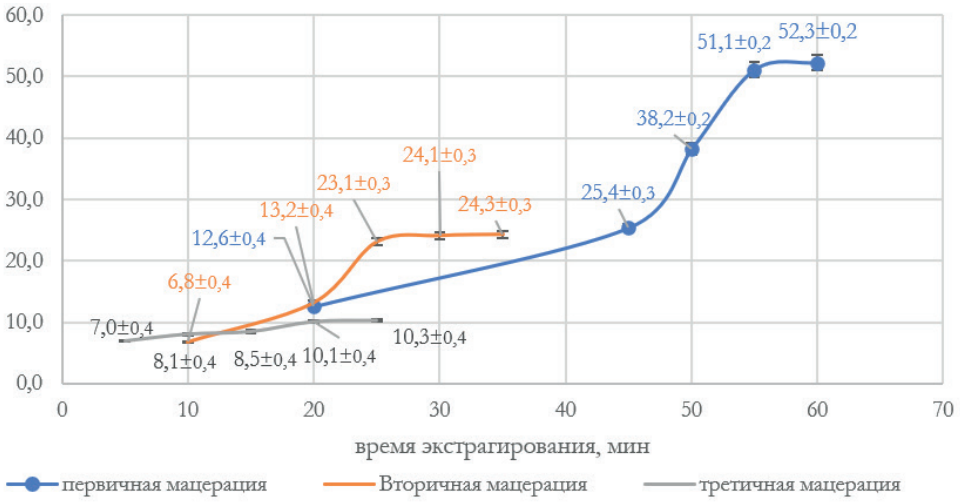


Рисунок 2. График зависимости выхода по сумме флавоноидов от времени при экстрагировании методом трехкратной ремацерации

Оптимальное время ведения процесса мацерации на каждой последующей стадии уменьшалось. Если наиболее обогащенное флавоноидами сырье было целесообразно экстрагировать до 55 минуты (ряд 1), то вторая и третья стадии переставали быть эффективными уже на 30 и 15 минуте соответственно.

Суммарный выход веществ данным способом при пересчете на сырье и объем извлечения получается 84,3 ±0,2%.

Таким образом, установлено, что суммарный выход суммы флавоноидов при экстрагировании методом трёхкратной ремацерации достигается 84,3%. Такой выход наблюдается при перемешивании со скоростью 80 об/мин при комнатной температуре.

Третий этап посвящён перколяции. Этот метод ведения процесса, в отличие от предыдущих, является динамическим: свежий экстрагент поступает в обогащенное сырье с такой же скоростью, с которой извлечение удаляется из аппарата. Результаты опыта представлены на рисунке 3.

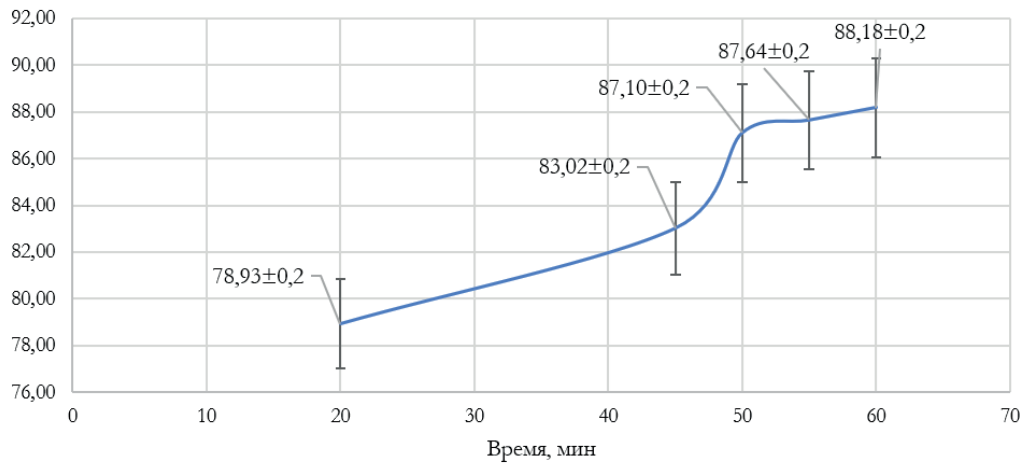


Рисунок 3. График зависимости выхода по сумме флавоноидов в пересчете на циранозид от времени при экстрагировании методом перколяции

В соответствие с полученными результатами можно сделать вывод о том, что наибольшей эффективности метод достигает на 50 минут ведения процесса, что делает этот метод наиболее быстрым из изученных.

Выбор оптимального метода экстрагирования флавоноидов в пересчете на циранозид из травы душицы обыкновенной. На данном этапе исследования необходимо сравнить полученные данные, представленные на рисунке 4 друг с другом.

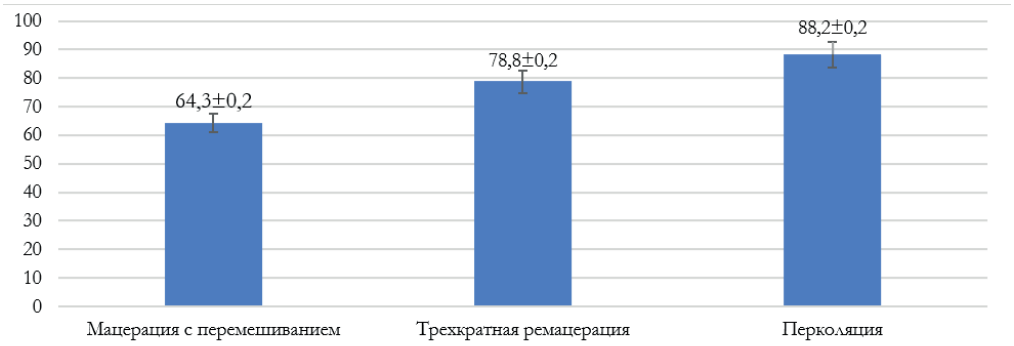


Рисунок 4. Выход суммы флавоноидов в пересчете на циранозид в зависимости от метода ведения процесса

Исходя из результатов экспериментов получается, что оптимальный метод экстрагирования – это перколяция.

Анализируя данные, представленные на рисунке 4 можно сделать вывод о том, что из всех изученных методов максимальное количество флавоноидов в пересчете на циранозид из травы происходит при использовании динамического метода: перколяции.

Заключение.

В ходе выполнения работы было изучено влияние метода экстрагирования на выход целевых экстрактивных веществ. В результате изучения были получены следующие результаты суммы флавоноидов в пересчете на циранозид из травы душицы обыкновенной: перколяция с выходом 88,18±0,2%, далее трехкратная ремацерация с выходом 84,34 ±0,2%, затем мацерация с перемешиванием с выходом 74,3±0,2%.

Для получения извлечений, обогащенных флавоноидами с дальнейшим получением сухого экстракта из травы душицы обыкновенной оптимальным методом экстрагирования, изученным в данной статье, является перколяция.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

61.45.36 Лекарственные средства из природного сырья

ЛИТЕРАТУРА

1. Protective role of terpenes and polyphenols from three species of oregano (Lippia graveolens, Lippia palmeri and Hedeoma patens) on the suppression of lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophage cells / N. Leyva-López [et al.] // J. Ethnopharmacol. 2016. Vol. 187. P. 302–312. doi: 10.1016/j.jep.2016.04.051.

2. ФСП 42–8012–06 «Душицы трава» ОАО «Красногорсклексредства» Введ. 16.10.2006. М., 2006. 23 с.

3. Кузнецов А.Г., Басевич А.В. Экстрагирование душицы обыкновенной методом ультразвуковой экстракции // IV Гаммермановские чтения: сборник научных трудов 30–31 января, 2019/2. М.: РУСАЙНС, 2018. С. 180-183.

4. Котова Э.Э., Тихоненко Н.И., Котов А.Г. Стандартизация травы душицы по количественному содержанию флавоноидов // Актуальні питання фармацевтичноі і медичноі науки та практики. 2011. Вып. XXIV. N 3. С. 38-42.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY AND COMPOSITION OF CLEANSER PEELING – ROLL FOR HANDS THAT DOES NOT REQUIRE TO BE WASHED AWAY

Gorbunova E.A., 4th year student (ORCID: 0000-0003-3801-4048)
Academic advise: **Basevich A.V.**, Associate Professor, Candidate of Pharm. Science
(ORCID: 0000-0002-6864-6794)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197022, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: ekaterina.gorbunova@spcpu.ru

The effect of the method of extracting flavonoids from medicinal plant raw materials of oregano grass on the yield of the target biologically active substance – luteolin was studied. Also, the experimental data were compared with existing studies on this topic.

Keywords: *Phytosubstantiation, flavonoids, extraction, luteolin, maceration.*

REFERENCES

1. Protective role of terpenes and polyphenols from three species of oregano (Lippia graveolens, Lippia palmeri and Hedeoma patens) on the suppression of lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophage cells / N. Leyva-López [et al.] // J. Ethnopharmacol. 2016. Vol. 187. P. 302–312. doi: 10.1016/j.jep.2016.04.051.
2. FSP 42-8012-06 «Oregano grass» JSC «Krasnogorskleksredstva» Intr. 16.10.2006. M., 2006. 23 p.
3. Kuznetsov A.G., Basevich A.V. Extraction of oregano by the method of ultrasonic extraction // IV Hammerman readings: a collection of scientific papers January 30–31, 2019/2. Moscow: RUSAINS, 2018. P. 180-183
4. Kotova E.E., Tikhonenko N.I., Kotov A.G. Standardization of oregano herb by quantitative content of flavonoids// Actual nutrition of pharmaceutical and medical sciences and practices. 2011. Vol. XXIV(3). P. 38-42.

УДК 615.074

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕРТРАЛИНА В КРОВИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Грицюк Е.А., бакалавр 4 года обучения
Научный руководитель: **Малахова А.Ю.**, ст.преп. каф. фармацевтической химии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: evgeniya.gricyuk@spcpu.ru

Разработана методика определения сертралина методом ВЭЖХ, осуществлен подбор условий. Образец сертралина проанализирован с помощью спектрального метода в УФ-области. Подобраны оптимальные условия изолирования вещества. Осуществлено тонкослойно-хроматографическое исследование извлечения.

Ключевые слова: *сертралин, биологические объекты, высокоэффективная жидкостная хроматография.*

Сертралин (торговое название «Золофт») был разработан компанией «Pfizer» более 30 лет назад. Антидепрессант, относящийся к группе ингибиторов обратного захвата серотонина зарекомендовал себя как наиболее безопасный с точки зрения фармакодинамических взаимодействий. Препарат ингибирует обратный захват серотонина (5-HT) в нейронах центральной нервной системы и превосходит в этом отношении амитриптилин в 100–200 раз, флувоксамин в 9 раз, флуоксетин в 5 раз и кломипрамин в 2 раза. В результате увеличивается содержание серотонина в синапсах, с чем связывают антидепрессивный и антитревожный эффект сертралина. При этом сертралин оказывает очень слабое действие на обратный захват норадреналина и дофамина. [1] Но несмотря на широкое применение в медицинской практике, возможны серьезные осложнения и летальный исход при совместном приеме препарата с ингибиторами моноаминооксидазы, трициклическими антидепрессантами, различными психоактивными веществами, в том числе алкоголем. Сертралин способен нарушать психические и физические реакции, необходимые для решение таких задач, как управление транспортными средствами и обслуживанием механического оборудования. Так же, не исключены случаи острых и хронических отравлений данным препаратом. Случаи смертельного исхода при передозировке сертралина были зарегистрированы и при монотерапии. Симптомы передозировки: сонливость, желудочно-кишечные нарушения (рвота, тошнота), тахикардия, тремор возбуждение и головокружение, кома. Специфических антидотов сертралина нет. В случае передозировки рекомендуют обеспечивать достаточный уровень оксигенации, проводить мониторинг сердеч-

ной деятельности (ЭКГ) и других основных показателей жизнедеятельности. [2]. Степень научной разработки методов анализа биологического материала на указанный антидепрессант достаточно низкая.

Целью настоящей работы является разработка методики изолирования и определения сертралина в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Задачи:

• Разработать методику изолирования сертралина из биологических жидкостей;

• Разработать методику тонкослойно-хроматографического исследования сертралина;

• Разработать условия определения сертралина методом ВЭЖХ для извлечения из биологических жидкостей.

Исследование проводилось с использованием следующих веществ и реактивов: субстанция сертралина гидрохлорида «Золофт», Pfizer, США; раствор аммиака концентрированный 25%, ГОСТ 3760-79 (СТ СЭВ 3858-82) Реактивы. Аммиак водный, АО «ВЕКТОН», Россия; серная кислота концентрированная, ГОСТ 4204-77 (СТ СЭВ 3856-82) Реактивы. Кислота серная, АО «ВЕКТОН», Россия; хлороформ ХЧ, ТУ 2631-066-44493179-2001 Трихлорметан стабилизированный, АО «ВЕКТОН», Россия; Натрий сернокислый, безводный 'ОСЧ 5-3', АО «ВЕКТОН», Россия; метанол ХЧ, Карбинол, АО «ВЕКТОН», Россия; фосфорная кислота орто 'ИМП', АО «ВЕКТОН», Россия; Ацетонитрил 'Ч', АО «ВЕКТОН», Россия.

Выполнение исследования осуществлялось с применением следующей аппаратуры: жидкостной хроматограф Shimadzu LC-20 Prominence (Япония), спектрофотометр UV/VIS UV-Mini-1240 Shimadzu.

Изолирование основания сертралина из раствора его соли проводили жидкость-жидкостной экстракцией органическим растворителем по следующей методике: фармацевтическую субстанцию растворяли в 10 мл воды очищенной, добавляли раствор серной кислоты до pH=3-4, для полного растворения соли сертралина в воде. Далее раствор обрабатывали 0,1М раствором аммиака до pH=11-12, перемешивали, затем помещали в делительную воронку и проводили экстракцию 10 мл хлороформа 2 раза. Хлороформное извлечение фильтровали через бумажный фильтр с безводным натрия сульфатом, упаривали досуха при комнатной температуре.

Тонкослойно-хроматографическое исследование осуществляли на хроматографических пластинках «Сорбфил-UV-254» и «Силуфол-UV-254». Для проведения ТСХ были выбраны следующие системы: 1- бензол: диоксан: аммиак 25% (60:35:5); 2- толуол: ацетон: аммиак 25%(25:25:0,5); 3-метанол; 4- метанол: аммиак 25% (100:1,5); 5- этилацетат: метанол: аммиак 25% (17:2:1); 6- метанол: этилацетат: аммиак 25% (17:2:1). Хроматограммы проявляли в УФ-свете при длине волны 254 нм, а затем обрабатывали реактивом Драгендорфа [3]. В Таблице 1 приведены параметры удерживания основания сертралина.

Таблица 1 – Параметры удерживания сертралина при исследовании методом тонкослойной хроматорафии

Значения Rf	Система 1	Система 2	Система 3	Система 4	Система 5	Система 6
Rf (Сорбфил)	0,87	0,90	0,44	0,32	0,72	0,68
Rf (Силуфол)	-	-	-	-	0,93	0,80

Ультрафиолетовый спектр записывали на спектрофотометре UV/VIS UV-Mini-1240 Shimadzu. Для определения показателя поглощения приготовили метанольный раствор с концентрацией сертралина 0,004 мг/мл, в качестве раствора сравнения – метанол. Максимумы поглощения наблюдались при длинах волн: 265 нм, 274 нм, 282 нм (рис. 1).

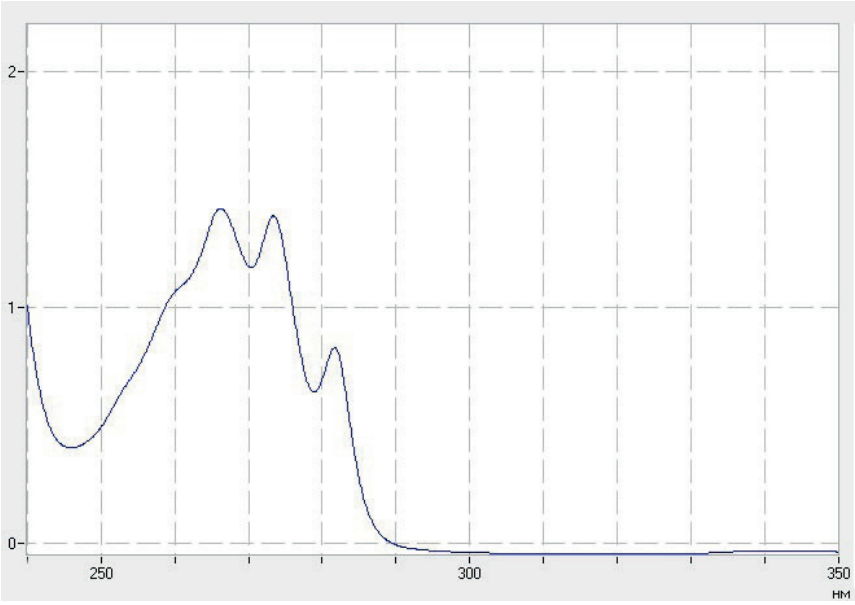


Рисунок 1. УФ-спектр 0,004 мг/мл сертралина в метаноле

Высокоэффективную жидкостную хроматографию проводили на приборе Shimadzu LC-20 Prominence с диодно-матричным детектором (Япония). Температура термостата колонки 35 °С; объем пробы 20 мкл. Регистрация поглощения осуществлялась при длине волны 210 нм. Управление прибором и обработку хроматограмм осуществляли с использова-

нием программы LabSolution. Скорость потока элюента для аналитической колонки 1,4 мл/мин. В качестве подвижной фазы использовали смесь 1% раствора ацетонитрила и концентрированной фосфорной кислоты с pH среды 3,46 (25:75).

Для приготовления испытуемого раствора сертралина 0,05 мг/мл, около 50,0 мг (точная навеска) субстанции помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в подвижной фазе, доводя объем раствора тем же растворителем до метки с последующим перемешиванием. Далее 1,0 мл полученного раствора (0,5 мг/мл) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводя объем раствора подвижной фазой до метки и снова перемешивали. Время удерживания составило 1,954 мин. (рис. 2).

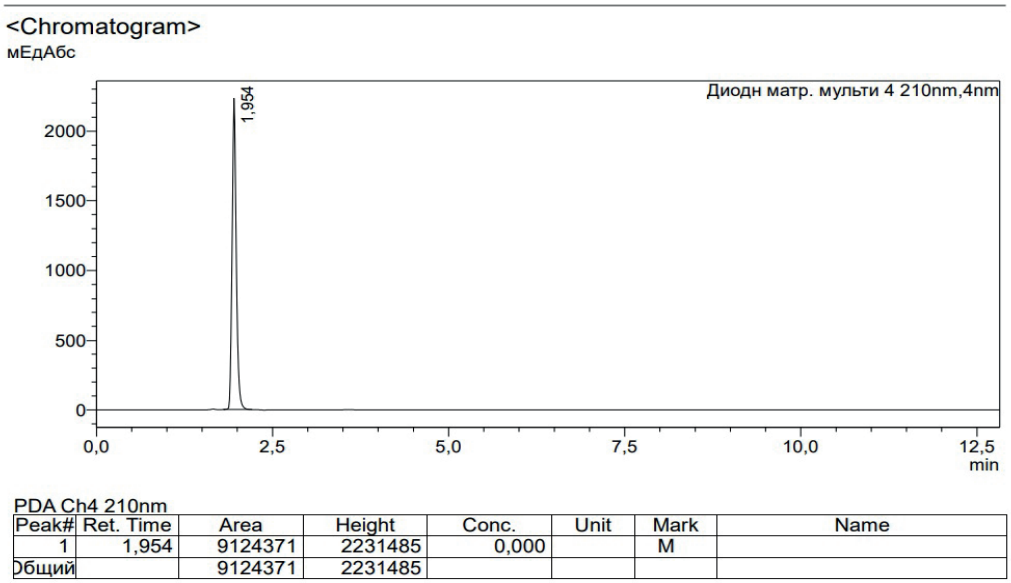


Рисунок 2. Хроматограмма сертралина

Таблица 2 – Результаты проверки пригодности хроматографической системы

№ опыта	Время удерживания пика сертралина (RT), мин	Площадь пика сертралина (A)	Эффективность (N)	Фактор ассиметрии (T)
1	1,954	9124371	4636	1,218
2	1,957	9121071		
3	1,956	9139484		
Среднее значение	1,955	9128308		
Стандартное отклонение (S)	0,0015	9817		
Относительное стандартное отклонение (Sr), %	0,08	0,11		

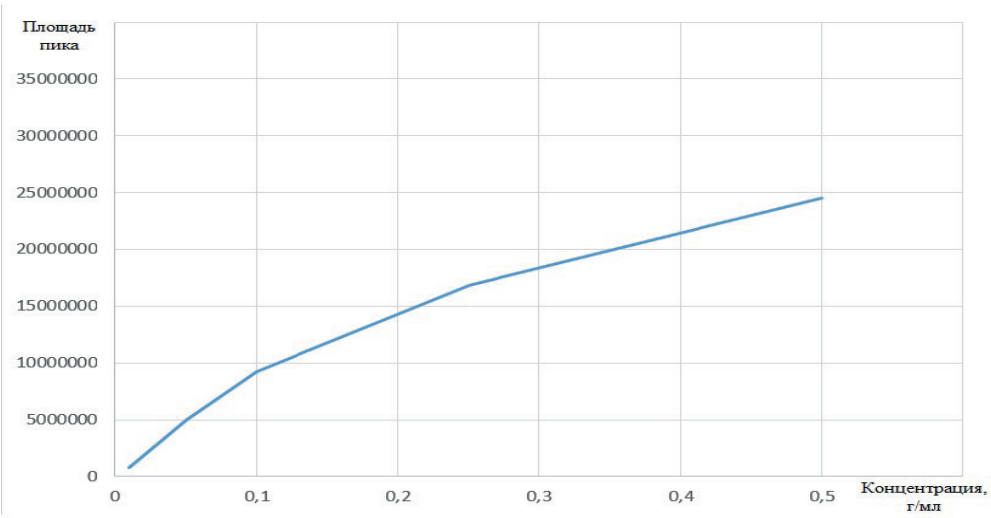


Рисунок 3. Зависимость площади пика хроматограммы от концентрации сертралина

Установлено, что для изолирования сертралина наиболее эффективной методикой является жидкость-жидкостная экстракция хлороформом при pH=11-12. Определена хроматографическая подвижность основания сертралина в тонком слое сорбента и установлено, что наиболее эффективными системами являются этилацетат: метанол: аммиак 25%

(17:2:1) и метанол: этилацетат: аммиак 25% (17:2:1) на пластинке «Сорбфил-UV-254». Система для ВЭЖХ является пригодной, относительное стандартное отклонение времени удерживания 0,08 %, площади 0,11 %.

Таким образом, разработана методика изолирования и определения сертралина в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.03.31 Медицинская биохимия

ЛИТЕРАТУРА:

1. Данилов Д.С. Антидепрессанты – селективные ингибиторы обратного нейронального захвата серотонина: 40-летняя история // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2015. N 1. С. 66.

2. Сертралин VIDAL. Справочник лекарственных средств [Электронный ресурс] URL: https://www.vidal.ru/drugs/molecule/952. (дата обращения: 14.12.2021).

3. Жалилов Ф.С. Определение сертралина из крови методом тонкослойной хроматографии. // Вестник науки и образования. 2019. N 23. С.108-109.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR THE DETERMINATION OF SERTRALINE IN BLOOD BY CHROMATOGRAPHIC METHODS

Gritsyuk E.A., stud. 4 courses
S Academic advise: **Malahova A.Yu**., Candidate of Pharmaceutical Sciences
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: evgeniya.gricyuk@spcpu.ru

A method of qualitative determination of sertraline by HPLC was developed and conditions were selected. A sample of sertraline was analyzed by UV spectral method. Optimal conditions for the substance isolation were selected. A thin layer chromatographic study of the extract was carried out.

Keywords: *sertraline, biological objects, high-performance liquid chromatography.*

REFERENCES

1. Danilov D.S. Antidepressants-selective serotonin reuptake inhibitors: a 40-year history. Neurology, neuropsychiatry, and psychosomatics. 2015. N 1. P. 66 (in Russian)

2. Sertraline VIDAL. Drug Directory [Internet]. URL: https://www.vidal.ru/drugs/molecule/952. (Accessed 12/14/2021).

3. Zhalilov F.S. Determination of sertraline from blood by thin-layer chromatography // Bulletin of science and education. 2019. N 23. P. 108-109 (in Russian)

УДК 61:615.4

ОБОГАЩЕННЫЙ СУХОЙ ЭКСТРАКТ НА ОСНОВЕ БАВ ЕЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ ХВОИ. ТЕХНОЛОГИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ

Данилова К.В., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Новикова Е.К.,** канд. фарм. наук, ст. преподаватель каф. ПТЛП
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: konsta-kseniya@yandex.ru

Разработана технология получения сухого экстракта на основе БАВ хвои ели обыкновенной. Проведена стандартизация полученного сухого экстракта по следующим показателям качества: описание, потеря в массе при высушивании, содержание тяжелых металлов, подлинность и количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин.

Ключевые слова: *ель обыкновенная, хвоя ели, сухой экстракт, стандартизация, флавоноиды, ТСХ.*

Для введения в мягкие лекарственные формы в качестве действующих субстанций целесообразно использовать извлечения из лекарственных растений, поскольку они обладают гипоаллергенностью, низкой токсичностью, комплексным действием и возможностью длительного применения без ощутимых побочных эффектов, практически не имеют противопоказаний.

Сухие экстракты имеют ряд преимуществ [1]:

+ содержат меньше балластных веществ;

+ более стабильны

+ транспортабельны

+ имеют высокую концентрацию биологически активных веществ

+ не содержат спирта

+ очень технологичны (легко отвешиваются, смешиваются, растворяются)

Сухой экстракт хвои ели регулирует обмен веществ, улучшает кроветворение, оказывает обезболивающее и бактерицидное действие, его также можно использовать при заболеваниях органов дыхания.

Стандартизировали сухой экстракт по сумме флавоноидов. В качестве флавоноидов в хвое обнаружены соединения, относящиеся к катехинам, флавонам, флаванонам, флавонолам.

Нарингенин проявляет противомикробное действие против грамположительных бактерий Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus и Staphylococcus epidermidis.

Кверцетин проявляет антибактериальную активность против M. luteus, B. subtilis, S. aureus, S. epidermidis, E. coli, P. Aeruginosa и H. pylori.

(+)-Катехин и (+)-эпикатехин оказывают противобактериальное действие против B. Subtilis и E. Coli [2].

Целью данного исследования является разработка технологии получения сухого экстракта на основе БАВ из хвои ели обыкновенной

Задачи исследования:

• разработать технологию получения сухого экстракта

• провести его стандартизацию

Реактивы:

• Вода очищенная

• Спирт этиловый 96 %

• Раствор свинца ацетата 10%

• Раствор хлорида железа (III) 10%

• Раствор гидроксида калия 10%

• Спиртовой раствор хлорида алюминия 2%

• Спиртовой раствор уксусной кислоты 30%

• Спиртовой раствор рутина 0,05%

Оборудование и средства измерения:

• Весы аналитические электронные CE612-C (САРТОГОСМ, Россия). Предел взвешивания 610 г. Класс точности по ГОСТ 53228-2008 I.

• Ультразвуковая ванна ПСБ-1335-05 (ПСБ-Галс, Россия). Рабочая частота – 35 кГц. Диапазон рабочих температур +25 … +75°С.

• Шкаф сушильный ШС-80-01 СПУ (Россия). Объем рабочей камеры 80л. Диапазон рабочих температур +50 … +200°С.

• Плитка электрическая (Россия).

• Спектрофотометр Shimadzu UV 1240 mini (Япония). Спектральный диапазон 190,0-1100,0 нм.

Методы анализа сухого экстракта

1. **Описание внешнего вида**

Описание внешнего вида сухого экстракта хвои проводится в соответствии с требованиями ГФ XIV издания ОФС.1.4.1.0021.15 «Экстракты» (Том II, стр.1980-1986).

2. **Потеря в массе при высушивании**

Испытание потери в массе при высушивании проводится в соответствии с ГФ XIV издания ОФС 1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании» (Том I, стр. 567-569).

3. **Определение содержания тяжелых металлов**

Методика определения тяжёлых металлов в сухом экстракте описана в ГФ XIV издания ОФС.1.2.2.2.0012.15 «Тяжелые металлы» (Том I, стр. 977-980).

4. **Количественный анализ**

Количественное определение суммы флавоноидов проводилось методом спектрофотометрии, основанным на способности флавоноидов поглощать свет в УФ-области спектра.

Данный метод описан в ГФ XIV издания ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в УФ и видимой области» (Том I, стр. 749-758).

Результаты проведенных испытаний представлены в таблице 1.

5. **Качественный анализ**

1.1. **Качественные реакции на флавоноиды**

1) К 1 мл извлечения прибавили 2 капли 10% раствора хлорида железа (III). Ожидаемый результат: темно-зеленое окрашивание.

2) К 1 мл извлечения прибавили несколько капель 10% раствора гидроксида калия. Ожидаемый результат: желтое окрашивание.

3) К 1 мл извлечения прибавили несколько капель 10% раствора ацетата свинца. Ожидаемый результат: осадок с желтыми хлопьями в растворе.

Результаты качественных реакций представлены в таблице 2.

1.2. **Тонкослойная хроматография**

Для качественного исследования применяли метод восходящей тонкослойной хроматографии (ТСХ) в камерах, предварительно насыщенных парами растворителей бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5), образующих подвижную фазу. Хроматографирование проводили на пластинках Sorbfil (ПТСХ-АФ-А, ПТСХ-П-А-УФ) размером 10х10 см с алюминиевой подложкой. Объем пробы – 2,0 мкл. Детектирование проводили в УФ-свете. Хроматограмма приведена на рисунке.

Технология получения сухого экстракта

Для получения сухого экстракта хвои ели обыкновенной брали навеску сырья, массой 5 г и помещали в колбу. Далее сырье заливали спиртом этиловым с концентрацией 70% в соотношении 1:10. Экстракцию проводили в ультразвуковой ванне при частоте 35 кГц и температуре 70°С в течение 30 минут. Полученное извлечение отфильтровывали и концентрировали при атмосферном давлении до получения густого состояния. Сгущенную вытяжку сушили в сушильном шкафу при температуре 50°С до сухого состояния. Полученный сухой экстракт измельчали до размера частиц 0,5-1,0 мм.

Стандартизация

Стандартизация сухого экстракта хвои ели обыкновенной проводится в соответствии с ГФ XIV издания ОФС.1.4.1.0021.15 «Экстракты» (Том II, стр. 1980-1986). Методики определения приведены выше.

Стандартизацию проводили по следующим параметрам: описание, потеря в массе при высушивании, тяжелые металлы, качественный и количественный анализ.

Таблица 1 – Показатели качества сухого экстракта

№	Показатели качества	ОФС.1.4.1.0021.15	Экспериментальные данные
1	Описание	Сыпучая порошкообразная масса коричневого цвета	Соответствует
2	Потеря в массе при высушивании	Не более 5%	1,890 ± 0,030 %
3	Тяжелые металлы	Не более 0,01%	Соответствует
4	Количественное определение (сумма флавоноидов в пересчете на рутин)	-	1,521 ± 0,003%
5	Подлинность	-	ТСХ (кверцетин, катехин, нарингенин)

Таблица 2 – Качественные реакции на флавоноиды

№	Качественная реакция	Результат	Водно-спиртовой раствор
1	С 10% раствором хлорида железа (III)	Темно-зеленое окрашивание	+
2	С 10% раствором гидроксида калия	Желтое окрашивание	+
3	С 10% раствором ацетата свинца	Желтый хлопьевидный осадок	+

Качественное определение веществ проводилось методом ТСХ. На пластинке обнаружены 3 желтых пятна. Вещества идентифицировались по параметрам удерживания: R_f=0,83 – кверцетин, R_f=0,73 – (+)-катехин, R_f=0,63 – нарингенин).

Рисунок. Хроматограмма флавоноидов в сухом экстракте хвои ели (R_f=0,83 – кверцетин, R_f=0,73 – (+)-катехин, R_f=0,63 – нарингенин)

Разработана технология получения сухого экстракта на основе БАВ из хвои ели обыкновенной. Приведена стандартизация полученного сухого экстракта по показателям качества: описание внешнего вида, потеря в массе при высушивании, содержание тяжелых металлов, качественный и количественный анализ.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Самбукова Т.В. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2017. N 2. С.56-63.

2. Metsamuuronen, S. Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: a review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce // Phytochem Rev. 2019. N 18. P. 623–664

3. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14. (Дата обращения 01.03.2022)

4. Определение катехинов методами ТСХ и УФ спектрофотометрии / Н.А. Беланова [и др.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2011. Т. 77. N 12. С.21-23.

SUMMARY

ENRICHED DRY EXTRACT BASED ON BAS OF SPRUCE NEEDLES. TECHNOLOGY AND STANDARDIZATION

Danilova K.V., 2-year master's degree

Academic advice: **Novikova E.K.,** Candidate of Pharmaceutical sciences, senior lecturer of the Faculty of PTLP

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: konsta-kseniya@yandex.ru

A technology for obtaining a dry extract based on BAS of spruce needles has been developed. The obtained dry extract was standardized according to the following quality indicators: description, weight loss during drying, heavy metal content, identity and quantitative content of the sum of flavonoids in terms of rutin.

Keywords: *Norway spruce, spruce needles, dry extract, standardization, flavonoids, TLC.*

REFERENCES

1. Sambukova T.V. Prospects for the use of phytopreparations in modern pharmacology // Reviews on clinical pharmacology and drug therapy. 2017. N.2. P.56-63 (in Russian)

2. Metsamuuronen, S. Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: a review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce // Phytochem Rev. 2019. N 18. P. 623–664

3. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14. (Accessed 03/01/2022) (in Russian)

4. Determination of catechins by TLC and UV spectrophotometry methods / N.A. Belanova [et al.] // Factory laboratory. Diagnostics of materials. 2011. Vol. 77(12). P.21-23. (in Russian)

УДК 544.08

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТАБЛЕТОК ИБУПРОФЕНА РАЗНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Демина Е.В., студ. 3 курса (ORCID: ID: 0000-0003-3172-7272),

Коледенко Д.В., студ. 3 курса

Научный руководитель: **Кучук В.И.,** доцент каф. физической и коллоидной химии

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,

197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация

E-mail: ekaterina.demina@spcpu.ru

Произведена сравнительная оценка методов количественного определения ибупрофена. Проведен количественный анализ таблеток ибупрофена разных производителей с использованием метода спектрофотометрии, а также рассмотрено влияние соотношения энантиомеров ибупрофена на результаты спектрофотометрического анализа таблеток.

Ключевые слова: *ибупрофен, спектрофотометрия, энантиомеры, количественное определение, зотек, адвил.*

Ибупрофен – производное пропионовой кислоты из группы нестероидных противовоспалительных средств (НПВС). Его довольно часто применяют в настоящее время в качестве жаропонижающего, противовоспалительного и обезболивающего средства [1].

Ибупрофен представляет собой рацемическую смесь двух оптических лево- и правовращающих изомеров – энантиомеров S-(+) и R-(-). Рейнсфорд К.Д. показал, что клиническая эффективность ибупрофена обусловлена в основном действием формы S-(+), однако наличием изомера R-(-) объясняют некоторые противовоспалительные свойства ибупрофена. [2]. Морозова Т.Е при сравнении частоты нежелательных реакций желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) отмечала, что для ибупрофена характерна высокая безопасность, обусловленная наличием малоактивного энантиомера R-(-), который является конкурентом для активной формы S-(+) за активный центр ЦОГ-1, отвечающий за синтез PG, которые обеспечивают защиту слизистой оболочки ЖКТ [3]. В настоящее время существуют препараты, представляющие собой как рацемическую смесь, так и один S-(+)-энантиомер.

Цель работы – исследовать возможность количественного определения S-(+) изомера ибупрофена (дексибупрофена) по методикам, разработанным для рацемата.

Задачами исследования являются определение содержания ибупрофена в таблетках разных производителей спектрофотометрическим методом, интерпретация и сравнение полученных результатов.

Ибупрофен в форме таблеток широко представлен продукцией различных производителей. По мере совершенствования технологии меняется как производство, так и методы качественного и количественного анализа вещества в конечном продукте.

Определять содержание ибупрофена можно различными методами: ВЭЖХ, титриметрическим методом и спектрофотометрией. Каждый из указанных методов имеет как преимущества, так и недостатки [4, 5].

Титриметрический метод заключается в титровании растворенного ибупрофена в спирте этиловом 95% раствором 0,1 М гидроксида натрия. Индикатором является фенолфталеин (ФС 42-2823-92 «Ибупрофен», с.3). Этот метод определения является трудоемким, у него сравнительно невысокая чувствительность (предел обнаружения 10^{-2}-10^{-3} моль/л), погрешность определения от 0,2% до 1,0%.

В методе ВЭЖХ используется жидкостный хроматограф, размер частиц у колонки которого равен 5 мкм, детектор используется масс-*спектрометрический, что в совокупности повышает чувствительность (предел обнаружения 0,1 мкг/л) и позволяет уменьшить объем пробы до 20 мкл. Однако для использования метода ВЭЖХ требуется дорогостоящее оборудование, что является несомненным минусом данного метода.*

Погрешность определения в спектрофотометрии 1-3%, т.е. больше, чем в титриметрии и ВЭЖХ, однако данный метод имеет ряд преимуществ: он менее дорогой, чем ВЭЖХ, многие аналитические лаборатории оснащены спектрофотометрами; у него более высокая чувствительность (предел обнаружения 10^{-5}-10^{-8} моль/л) по сравнению с титриметрией. Кроме того, на некоторых спектрофотометрах можно анализировать несколько проб одновременно (например, на спектрофотометре СФ-2000), что упрощает и ускоряет процесс по сравнению с титриметрией и ВЭЖХ. Большая стоимость спектрофотометрического метода обычно связана с использованием дорогостоящих стандартных образцов лекарственных препаратов, которые применяются только в фармацевтическом анализе. На ибупрофен отсутствуют государственные стандартные образцы, что затрудняет анализ спектрофотометрическим методом. Однако Сыроватский И.П., Артасюк Е.М. и Илларионова Е.А. – авторы патента «Способ количественного определения ибупрофена» – разработали методику, в которой стандартным рабочим образцом служит раствор феррицианида калия, а растворителем – 0,1М раствор гидроксида натрия, что позволяет повысить воспроизводимость результатов определения и чувствительность анализа. [6]

Несмотря на то, что метод спектрофотометрии пока не включен в фармакопею, его использование представляется перспективным. Для дальнейшего сравнения образцов таблеток ибупрофена и дексибупрофена был выбран метод спектрофотометрии в ультрафиолетовом диапазоне длин волн.

Образец №1. Субстанция ибупрофена, в соответствии с фармакопеей, характеризуется следующими свойствами: Белый или почти белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы, легко растворим в ацетоне, метаноле, метиленхлориде, практически нерастворим в воде. В ультрафиолетовых спектрах поглощения 0,05 % растворов субстанции и стандартного образца ибупрофена в 0,1 М растворе натрия гидроксида в области от 240 до 300 нм максимумы и плечо наблюдаются при одних и тех же длинах волн (соответственно, 264 ± 2 нм, 272 ± 2 нм и 258 ± 2 нм). Угол вращения. От – 0,05 до + 0,05 º (2,5 % раствор субстанции в метаноле, ОФС «Поляриметрия»).

Образец №2. Таблетки «Ибупрофен» Велфарм.

Международное непатентованное наименование: Ибупрофен.

Лекарственная форма: таблетки, покрытые пленочной оболочкой.

Состав на одну таблетку: действующее вещество: ибупрофен – 400 мг; вспомогательные вещества: повидон-К90 (коллидон 90 F), целлюлоза микрокристаллическая, тальк, кросповидон (коллидон ЦЛ, коллидон CL-M), кальция стеарат, кремния диоксид коллоидный (аэросил), крахмал кукурузный; оболочка: опадрай белый 03F180011(гипромеллоза, титана диоксид, макрогол).

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «Велфарм» (ООО «Велфарм»), Россия

Образец №3. Таблетки «Зотек»

Состав и форма выпуска: овальные двояковыпуклые таблетки, сверху покрытые белой пленочной оболочкой с чертой для разделения с одной стороны.

Одна таблетка Зотека содержит дексибупрофена 300 мг, вспомогательными веществами в составе препарата являются микрокристаллическая целлюлоза, диоксид кремния коллоидный безводный, тальк, кальция кроскармелоза, гипромелоза, диоксид титана (Е 171).

Производитель: Эвертоджен Лайф Саенсиз, Индия.

Образец №4. Таблетки «Адвил».

Международное непатентованное наименование: ибупрофен.

Лекарственная форма: таблетки, покрытые пленочной оболочкой.

Состав на 1 таблетку: активное вещество: ибупрофен 400 мг; вспомогательные вещества: кукурузный крахмал, прежелатинизированный крахмал, кроскармелоза натрия, кремния диоксид коллоидный, кислота стеариновая, натрия лаурилсульфат, гипромеллоза Е 15, макрогол 6000, титана диоксид Е 171, оксид железа красный Е 172, тальк, опакод черный S-1-27794 (промышленный метилированный спирт 740Р, шеллак, железа оксид черный Е172, Н-бутил спирт, очищенная вода, пропиленгликоль, изопропиловый спирт).

Производитель: Вайет Ледерле С.п.А., Италия.

Владелец РУ«Пфайзер Корпорэйшн Австрия.

Для количественного определения субстанции ибупрофена взяли точную навеску порошка, поместили в мерную колбу вместимостью 200 мл и растворили в 20 мл 0,1 М раствора гидроксида натрия, затем довели объем до метки тем же раствором. После тщательного перемешивания раствор и проводили измерение оптической плотности относительно 0,1 М раствора гидроксида натрия.

Для количественного определения ибупрофена в таблетках по 0,2 г взяли точную навеску порошка растертых таблеток, поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл и растворили в 20 мл этанола, затем довели объем до метки. После тщательного перемешивания раствор отфильтровали и аликвоту фильтрата объёмом 5 мл поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл. Объем раствора довели 0,1 М раствором гидроксида натрия до метки, перемешали и спектрофотометрировали относительно 0,1 М раствора гидроксида натрия.

Параллельно был приготовлен стандартный раствор феррицианида калия. Выбор данного вещества обуславливается тем, что Герасимчук Т.В. была установлена зависимость, которая показывает, что в качестве образцов сравнения можно применять вещества, у которых интервал между аналитической длиной волны и максимумом (или минимумом поглощения) этого образца сравнения не превышает половины полуширины его полосы поглощения. [5] Оптимальная область поглощения, в которой можно использовать феррицианид калия 255-267 нм. Кроме того, феррицианид калия выпускается промышленным методом, относится к категории «чистый для анализа» (ЧДА) и имеет ГОСТ 4206-75, который регламентирует его качество, а раствор, состоящий из 0,1 М раствора гидроксида натрия и растворенного в нем феррицианида калия устойчив длительное время. Таким образом, использование в качестве образца сравнения феррицианид калия повышает воспроизводимость результатов и уменьшает погрешность.

Точную массу феррицианида калия (0,0600 г) поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл 0,1 М раствора гидроксида натрия, доводели объем раствора этим же растворителем до метки и перемешали. Аликвоту 5 мл поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл, довели объем до метки 0,1 М раствором гидроксида натрия и перемешали. Далее спектрофотометрировали относительно 0,1 М раствора гидроксида натрия. [6]

Для осуществления спектрофотометрических измерений был использован спектрофотометр СФ-2000 с диодной матрицей. В нем используются оптические элементы с кварцевым покрытием для получения характеристик пропускания с минимальным светорассеянием. Спектральная ширина щели 1 нм позволяет фиксировать практически любой спектр без искажений, связанных с размытием оптической плотности в узких спектральных полосах. Программное обеспечение позволяет проводить измерение оптической плотности (или пропускания) в выбранном диапазоне длин волн.

Были получены спектры поглощения образцов №1-4 в диапазоне длин волн 200-500 нм. Для всех образцов в 0,1 М растворе натрия гидроксида в области от 240 до 300 нм максимумы и плечо наблюдаются при одних и тех же длинах волн (соответственно, 264 ± 2 нм, 272 ± 2 нм и 258 ± 2 нм). Следовательно, качественный анализ показывает присутствие именно ибупрофена во всех образцах.

Количественный анализ проводили в соответствии с методикой расчета в патенте [6].

Полагают, что сначала измеряют оптическую плотность раствора феррицианида калия (далее соль) определенной концентрации, а затем приготовленного раствора. Исходят из условия, что стандартная концентрация соли (из навески 0,06 г с последующим определенным разведением) и стандартная концентрация ибупрофена (из навески 0,05г с последующим определенным разведением) дают на 259 нм с раствором сравнения щелочи 0,1М одинаковую оптическую плотность. Поэтому соотношение для стандартов стремится к единице, а для произвольных растворов зависит от количества ибупрофена в «пробе» (точнее от массовой доли w, которую можно умножить на % и получить в %).

Пользуются законом Бугера-Ламберта-Бера, не в молярных, а в удельных величинах, поэтому не привычный молярный коэффициент поглощения (ε), а удельный (Е), после чего учитывают молярную и массовую концентрации:

$$D_0 = E_0 m_0 l\,;\, D_x = E_x m_x l,$$

где индекс «*0*» относится к феррицианиду калия, «x» – к ибупрофену.

Тогда соотношение приобретает вид:

$$w = \frac{D_x E_{0m_0}}{D_0 E_x m_x} = \frac{D_x K m_0}{D_0 m_x}$$

Далее необходимо связать массовую концентрацию с величиной навески (a_0; a_x) и разведением в каждом конкретном случае, а также отметить, что $K=E_0/Ex=2{,}279$.

Содержания ибупрофена в субстанции (образец №1) составило 99,9%, в таблетках (образцы №2-4) отклонение не превышало 5% считая на среднюю массу одной таблетки, что отражено в таблице.

Таблица – Результаты измерения содержания ибупрофена в образцах 2-4

Показатель	Образец №2	Образец №3	Образец №4
Масса ибупрофена в таблетке (теоретическая), мг	400,0	300,0	200,0
Масса ибупрофена в таблетке (экспериментальная), мг	398,2	313,7	208,4
X,%	1,8	4,6	4,2

Заключение

В ходе исследования рацемата ибупрофена: субстанции (образец №1), таблеток (образцы №2 и №4) и S (+)-энантиомера ибупрофена – дексибупрофена (образец №3) было установлено, что отклонение во всех случаях не превышает 5%. Таким образом, количественный анализ дексибупрофена в таблетках можно проводить по методикам, разработанным для рацемата (ибупрофена).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ayres J.G. Ibuprofen. The American Society of Health-System Pharmacists // The Lancet: journal. 1987. Vol. 1(8541). P. 1082. doi:10.1016/S0140-6736(87)90499-5.

2. Rainsford K.D. Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety / Inflammopharmacology 2009. N. 6. P. 275-342

3. Морозова Т.Е., Андрущишина Т.Б., Антипова Е.К. Ибупрофен: безопасность и эффективность применения в широкой клинической практике / Терапевтический архив. 2013. N3. С. 118-124.

4. Артасюк Е.М., Илларионова Е.А., Сыроватский И.П. Способ определения ибупрофена /Медицинский вестник Башкортостана. 2006. N 1. С. 187-189.

5. Герасимчук Т.В. Спектрофотометрическое определение ибупрофена в таблеточной массе и таблетках, покрытых оболочкой // Научные труды «Современные методы анализа фармацевтических препаратов». 1988. Т. XXYI. С. 39-42.

6. Пат. RU2333490C2 Российская Федерация, МПК G01N 33/15, A61K 31/192. Способ количественного определения ибупрофена / Артасюк Е.М., Илларионова Е.А., Сыроватский И.П.; заявитель и патентообладатель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Иркутский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию № 2006131641/15. Заявл. 01.09.2006. Опубл. 10.09.2008. Бюл. № 25.

SUMMARY

COMPARATIVE SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS OF IBUPROFEN TABLETS FROM DIFFERENT MANUFACTURERS

Demina E.V., 3rd year student (ORCID: ID: 0000-0003-3172-7272)
Koledenko D.V., 3rd year student
Research supervisor: **Kuchuk V. I.**, Associate Professor of the Department of Physical and Colloidal Chemistry
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: ekaterina.demina@spcpu.ru

A comparative evaluation of the methods of quantitative determination of ibuprofen was made. Quantitative analysis of ibuprofen tablets from different manufacturers using the spectrophotometry method was carried out, and the effect of the ratio of ibuprofen enantiomers on the results of spectrophotometric analysis of tablets was also considered.

Keywords: *ibuprofen, spectrophotometry, enantiomers, quantitative determination, zotek, advil.*

REFERENCES

1. Ayres J.G. Ibuprofen. The American Society of Health-System Pharmacists // The Lancet: journal. 1987. Vol. 1(8541). P. 1082. doi:10.1016/S0140-6736(87)90499-5.

2. Rainsford K.D. Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety / Inflammopharmacology 2009. N. 6. P. 275-342

3. Morozova T.E., Andrushchishina T.B., Antipova E.K. Ibuprofen: safety and effectiveness of use in broad clinical practice / Therapeutic Archive. 2013. N3. P. 118-124. (in Russian).

4. Artasyuk E.M., Illarionova E.A., Syrovatsky I.P. Method of ibuprofen determination /Medical Bulletin of Bashkortostan. 2006. N 1. P. 187-189 (in Russian).

5. Gerasimchuk T.V. Spectrophotometric determination of ibuprofen in tablet mass and coated tablets. Scientific papers «Modern methods of analysis of pharmaceutical preparations». 1988. Vol. XXYI. P. 39-42 (in Russian).

6. Pat. RU2333490C2 Russian Federation, IPC G01N 33/15, A61K 31/192. Method of quantitative determination of ibuprofen / Artasyuk E. M., Illarionova E. A., Syrovatsky I. P.; applicant and patent holder State Educational Institution of Higher Professional Education Irkutsk State Medical University of the Federal Agency for Health and Social Development No. 2006131641/15. Application 01.09.2006. Publ. 10.09.2008, Bul. No. 25 (in Russian).

УДК 61:615.07

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИСФЕНОЛА А В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ С ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫМ ВЫДЕЛЕНИЕМ В СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ РАСТВОРИТЕЛИ НА ОСНОВЕ ПЕРВИЧНЫХ АМИНОВ

Жаворонок М.Ф.И., студ. 2 курса
Руководитель: **Вах К.С.**, кандидат хим. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный университет
199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7–9, Российская Федерация
E-mail: marcuszhavoronok@gmail.com

Разработана автоматизированная схема микроэкстракционного выделения бисфенова А в *in situ* генерируемую фазу супрамолекулярного растворителя на основе первичного амина для последующего определения аналита в биологических жидкостях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием.

Ключевые слова: *супрамолекулярные растворители, биологические жидкости, первичные амины, монотерпеновые вещества, микроэкстракция.*

Бисфенол А (рис. 1) – химическое вещество, широко используемое в производстве прозрачной жесткой пластмассы для изготовления различных товаров, в том числе многоразовых бутылок для воды, контейнеров для пищевых продуктов. Остатки BPA могут находиться в продуктах и напитках, упакованных в пластмассовые упаковки, в результате чего небольшое количество BPA может попасть в организм потребителей. BPA относится к эндокринным разрушителям – веществам, негативно влияющим на эндокринную систему организма.

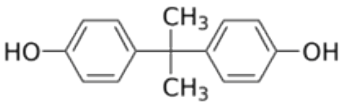


Рисунок 1. Структурная формула бисфенола А

В настоящей работе для определения бисфенола А в биологических жидкостях была разработана новая схема анализа, основанная на использовании супрамолекулярного растворителя для последующего определения аналита методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием (ВЭЖХ-ФЛ).

Сложный химический состав биологических жидкостей делает их прямой инструментальный анализ невозможным, поэтому необходимо включение стадии пробоподготовки, нацеленной на устранение матричных эффектов и концентрирование аналитов. В настоящее время актуальным направлением в аналитической химии является миниатюризация химического анализа, которая подразумевает сокращение количества используемых реагентов с целью уменьшения негативного влияния на окружающую среду. В частности, к таким методам относится жидкостная микроэкстракция, которая позволяет обеспечить эффективное разделение и концентрирование целевых компонентов и уменьшить объемы применяемых экстрагентов до уровня микролитров. В качестве прекурсоров создания супрамолекулярного растворителя использовали гексиламин и природный монотерпеноид ментол.

Целью данной работы поставлена разработка новой схемы разделения и концентрирования бисфенола А из биологических жидкостей, основанного на использовании супрамолекулярных растворителей для последующего определения аналита методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием. Для достижения поставленной цели требовалось решить следующие задачи: 1) оценить возможность применения первичных аминов в качестве экстрагентов для извлечения бисфенола А; 2) выявить условия выделения супрамолекулярной фазы амина; 3) оптимизировать условия проведения микроэкстракции; 4) разработать схему анализа, апробировать ее на реальных образцах и проверить правильность полученных результатов референтным методом.

Супрамолекулярные растворители представляют собой наноструктурированные ансамбли, образующиеся в коллоидных растворах амфифильных соединений в результате таких явлений как самоорганизация и коацервация. В гомогенном растворе амфифильного вещества протекает процесс самоорганизации, при котором изолированные молекулы амфифила объединяются в мицеллы. При этом концентрация амфифила должна быть выше критической концентрации мицеллообразования. Далее протекает процесс коацервации. Мицеллы, соединяясь в более крупные частицы, отделяются от коллоидного раствора и образуют новую несмешивающуюся с водой фазу, которую называют супрамолекулярным растворителем. Разделение фаз происходит под действием триггера, в роли которого может выступать сильный электролит, полярный растворитель, изменение температуры или pH.

Рисунок 2. Процессы при синтезе супрамолекулярных растворителей

Определение бисфенола А проводилось в автоматизированном режиме (рис. 3). На первом этапе готовили экстракционную смесь ментол:гексиламин в соотношении 10:1. В такой смеси первичный амин выступал амфифилом, а ментол – агентом, вызывающим процесс коацервации. Раствор пробы и экстракционную смесь с помощью перистальтического насоса и крана-переключателя подавали в экстракционную ячейку для осуществления микроэкстракционного извлечения ВРА. Перемешивание смеси осуществляли потоком газовой фазы. После завершения микроэкстракции выделившуюся в верхней части ячейки фазу супрамолекулярного растворителя направляли на ВЭЖХ-ФЛ анализ предварительно разбавив фазу смесью метанол:ацетонитрил в объемном соотношении 1:1

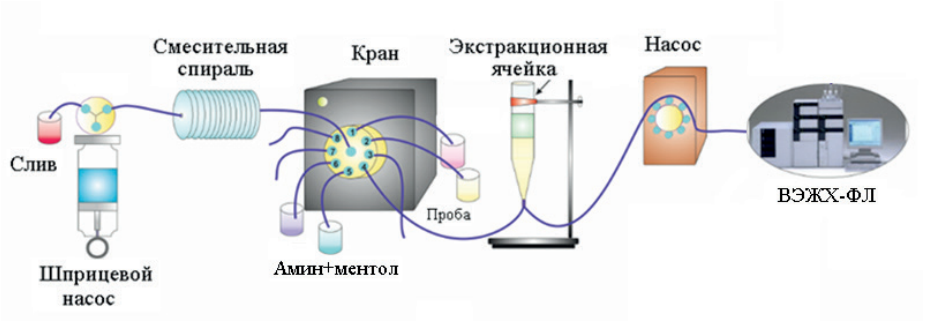
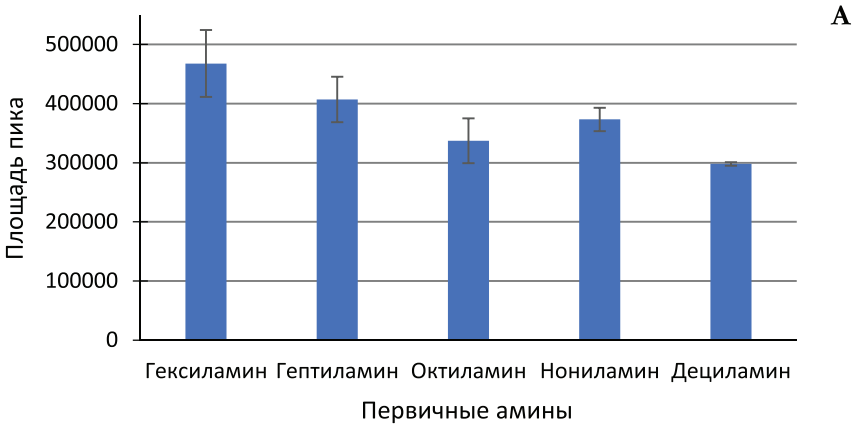


Рисунок 3. Автоматизированная схема определения бисфенола А

В ходе исследования были изучены параметры, влияющие на извлечение аналитов. Было установлено, что для генерирования фазы супрамолекулярного растворителя и выделения бисфенола А оптимальной является смесь прекурсоров ментол:гексиламин (рис. 4А) в мольном соотношении 10:1. При этом для извлечения аналитов достаточно всего 200 мкл смеси (рис. 4Б).



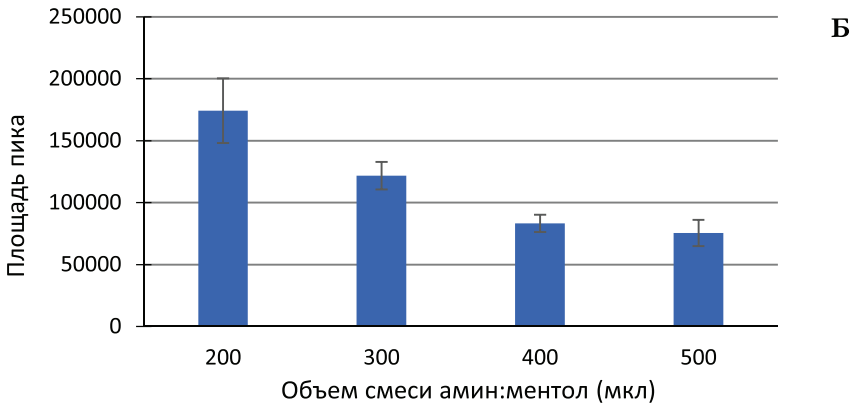


Рисунок 4. Выбор первичного амина (А) и объема экстракционной смеси (Б) (С(аналита) = 0,1 мг/л)

Также в автоматизированных условиях был оптимизирован объем пробы. Объем пробы варьировали в диапазоне от 500 до 4000 мкл. Установлено, что аналитический сигнал возрастает с увеличением объёма пробы, однако для дальнейших исследований был выбран объем 3 мл, поскольку значение среднеквадратичного отклонения для 3 мл было минимальным (рис. 5).

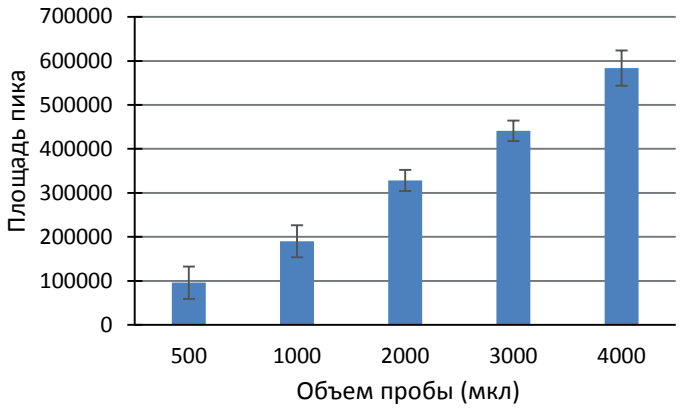


Рисунок 5. Выбор объема пробы (С(аналита) = 0,1 мг/л)

В таблице 1 указаны аналитические характеристики разработанного способа определения BPA после оптимизации условий извлечения. Предел обнаружения составил 200 нг/л, при этом СКО не превышает 10%.

Таблица 1 – Аналитические характеристики разработанной методики

Параметр	Аналит
	Бисфенол А
Диапазон определяемых концентраций, мг/л	0,0005-5
Предел обнаружения, нг/л	200
ОСКО, %	10
Степень извлечения, % (n=3)	90
Коэффициент концентрирования	10

Данная работа была направлена на разработку новой, экспрессной и эффективной схемы определения содержания бисфенола А в биологических жидкостях с применением супрамолекулярных растворителей.
Разработанная схема апробирована на реальных образцах биологических жидкостей.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00. Медицина и здравоохранение
76.01.00. Общие вопросы медицины и здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Bisphenol A and Metabolites in Meat and Meat Products: Occurrence, Toxicity, and Recent Development in Analytical Methods / M.A.B. Siddique [et al.] // Foods. 2021. Vol. 10(4). P. 714. doi: 10.3390/foods10040714.

2. Caballo C., Sicilia M.D., Rubio S. Supramolecular Solvents for Green Chemistry // The Application of Green Solvents in Separation Processes. 2017. P. 111–137. DOI: 10.1016/B978-0-12-805297-6.00005-X

3. Ballesteros-Gomez A., Sicilia M.D., Rubio S. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds, A review // Anal. Chim. Acta. 2010. Vol. 677. P. 108–130. DOI: 10.1016/j.aca.2010.07.027.

4. Naotaka Kuroda [et al.] Measurement of bisphenol A levels in human blood serum and ascitic fluid by HPLC using a fluorescent labeling reagent // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2003. Vol. 30(6). P. 1743–1749. doi:10.1016/s0731-7085(02)00516-2

SUMMARY

CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF BISPHENOL A IN BIOLOGICAL FLUIDS USING SUPRAMOLECULAR SYSTEMS BASED ON PRIMARY AMINES

Zhavoronok M.F.I., 2th year student
Academic advice: **Vakh K.S.**, Candidate of Chemical Sciences
St. Petersburg State University
7/9, Universitetskaya Emb., St. Petersburg, 199034, Russian Federation
E-mail: marcuszhavoronok@gmail.com

This work was aimed at developing a new, accelerated and refined determination of the content of bisphenol A in biological fluids using supramolecular solvents.

The effectiveness of the developed result will be carried out by experimental analysis of biological fluids with preliminary isolation of bisphenol A in a supramolecular solvent and its subsequent HPLC method with fluorescent detection. The correctness of income was confirmed by the reference method.

Keywords: *bisphenol A, supramolecular solvents, microextraction, biological fluids, primary amines, monoterpenoids.*

REFERENCES

1. Bisphenol A and Metabolites in Meat and Meat Products: Occurrence, Toxicity, and Recent Development in Analytical Methods / M.A.B. Siddique [et al.] // Foods. 2021. Vol. 10(4). P. 714. doi: 10.3390/foods10040714.

2. Caballo C., Sicilia M.D., Rubio S. Supramolecular Solvents for Green Chemistry // The Application of Green Solvents in Separation Processes. 2017. P. 111–137. DOI: 10.1016/B978-0-12-805297-6.00005-X

3. Ballesteros-Gomez A., Sicilia M.D., Rubio S. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds, A review // Anal. Chim. Acta. 2010. Vol. 677. P. 108–130. DOI: 10.1016/j.aca.2010.07.027.

4. Naotaka Kuroda [et al.] Measurement of bisphenol A levels in human blood serum and ascitic fluid by HPLC using a fluorescent labeling reagent // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2003. Vol. 30(6). P. 1743–1749. doi:10.1016/s0731-7085(02)00516-2

УДК 615.453.6

ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИКАЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК РЕКОМЕНДОВАННОГО ПРЕПАРАТА «БИСКОР»

Жалолиддинова М.Ш., соискатель
Руководитель: **Юнусова Х.М.,** докт. фарм. наук, проф.
Илхамова Н.Б., докт. фарм. наук.
Ташкентский фармацевтический институт,
100015, Ташкент, ул. Айбека, д.45, Республика Узбекистан
E-mail: samina1809@mail.ru

Приведен результаты изучения спецификационных характеристик рекомендованных таблеток «Бискор». Изучен растворимость, посторонные примеси и количественное содержание действующих веществ.

Ключевые слова: *растворимость, количественное определение, посторонные примеси, ВЭЖХ*

Создание лекарственных средств нового поколения актуально для обеспечения потребности отечественного здравоохранения в стратегически важных лекарственных препаратах с целью не только импортозамещения, но и обеспечения национальной безопасности в сфере лекарственной политики. Внедрение перспективных научных разработок позволит обеспечить устойчивое производство эффективных лекарственных препаратов и инициировать создание инновационной фармацевтической продукции мирового уровня, способной конкурировать с иностранными производителями как на отечественном, так и на зарубежных рынках [1,2].

В настоящее время антагонисты кальция считаются препаратами второго ряда у больных стенокардией напряжения вслед за β-блокаторами. В качестве монотерапии антагонисты кальция позволяют добиться столь же выраженного антиангинального эффекта, как и β-блокаторы. Однако безусловным преимуществом β-блокаторов перед антагонистами кальция является способность первых снижать смертность у больных, перенесших инфаркт миокарда. Исследования по применению антагонистов кальция после инфаркта миокарда показали, что наибольший положительный эффект достигается у лиц без выраженной дисфункции левого желудочка, страдающих артериальной гипертонией, перенесших инфаркт миокарда без зубца Q [3,6]

Несомненным достоинством всей группы антагонистов кальция является широкий спектр их фармакологических эффектов, направленных на устранение проявлений коронарной недостаточности: антиангинальный, гипотензивный, антиаритмический [5]. Благоприятно сказывается терапия этими препаратами и на течении атеросклероза.

Работа соответствует задачам программы «Фарма 2020» в части формирования инновационного потенциала фармацевтической медицинской промышленности, развития производства инновационных лекарственных средств и медицинских изделии[4,5].

Цель исследования: разработка методики количественного определения, растворимости и посторонних примесей таблеток «Бискор».

Объектом исследования являются рекомендуемые таблетки «Бискор». Таблетки «Бискор» – круглые, белого или почти белого цвета, которые по внешнему виду соответствуют требованиям ГФ XI, вып,2, с.154. Средняя масса таблеток должна быть 148,15 мг ± 15% (от 125,928 мг до 170,373 мг). Отклонения в массе отдельных таблеток от средней массы допускаются в пределах ±15% (для не более 2 таблеток из двадцати). Распадаемость 10 мин в воде (ГФ XI, вып. 2, с. 158).

Бисопроол фумарат – селективный бета$_1$-адреноблокатор без внутренней симпатомиметической активности, не обладает мембраностабилизирующей активностью. Снижает активность ренина плазмы, уменьшает потребность миокарда в кислороде, уменьшает ЧСС (в покое и при нагрузке) и сердечный выброс, при этом ударный объем существенно не уменьшается. Угнетает AV-проводимость. Оказывает антиангинальное и гипотензивное действие.

В высоких дозах (200 мг и более) может вызывать блокаду и β_2-адренорецепторов главным образом в бронхах и в гладких мышцах сосудов. Гипотензивный эффект связан с уменьшением минутного объема крови, симпатической стимуляцией периферических сосудов, снижением активности ренин-ангиотензиновой системы (имеет большее значение для больных с исходной гиперсекрецией ренина), восстановлением чувствительности в ответ на снижение АД и влиянием на ЦНС [4].

Антиангинальный эффект обусловлен уменьшением потребности миокарда в кислороде в результате урежения ЧСС и снижения сократимости, удлинением диастолы, улучшением перфузии миокарда. Антиаритмический эффект обусловлен устранением аритмогенных факторов (тахикардии, повышенной активности симпатической нервной системы, увеличенного содержания цАМФ, артериальной гипертензии), уменьшением скорости спонтанного возбуждения синусного и эктопического водителей ритма и замедлением AV-проводимости (преимущественно в антеградном и, в меньшей степени, в ретроградном направлениях через AV-узел) и по дополнительным путям [4].

Исследование растворения в экспериментах методом in vitro сравнительно просты в применении и представляет собой важный инструмент для характеристики биофармацевтического качества лекарственных препаратов. Определение растворимости проводили в соответствии с требованиями ГФ XI, вып. 2, с. 154, используя прибор типа «Лопастная мешалка». Среда растворения – фосфатный буферный раствор pH 6,8. Объем среды растворения – 900 мл. Скорость вращения лопастной мешалки – 50 об/мин. Температура (37±0,5)°С. В сосуд для растворения помешали 1 таблетку. Через 30 минут отбирали около 50 мл из центра сосуда для растворения и фильтровали через бумажный фильтр «Синяя лента», или «Миллипор», отбрасывая первые порции фильтрата.

Оптическую плотность измеряли раствора РСО бисопролола фумарата и испытуемого раствора на УФ-спектрофотометре при длине волны 240 нм ±1 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя среду растворения в качестве раствора сравнения.

Количество РСО бисопролола фумарата, перешедшее в раствор из таблетки, в процентах (*X*), вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot m_0 \cdot 900 \cdot 1 \cdot P \cdot 100}{D_0 \cdot L \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{D_1 \cdot m_0 \cdot 0{,}09 \cdot 1 \cdot P}{D_0 \cdot L},$$

где D_1 – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора РСО РСО бисопролола фумарата;

m_0 – масса навески РСО РСО бисопролола фумарата, в мг;

L – заявленное количество РСО бисопролола фумарата в одной таблетке, указанное в разделе «Состав на одну таблетку», в мг;

Р – содержание РСО бисопролола фумарата в РСО РСО бисопролола фумарата, в %.

Как известно, на скорость высвобождения активного вещества влияют некоторые показатели: вспомогательные вещества, объем и pH растворяющей среды, скорость вращения корзинки. Для подбора оптимального значения pH растворяющей среды были использованы следующие растворяющие среды: нейтральная – вода очищенная, кислая – 0,1 н раствор хлористоводородной кислоты и щелочная – 0,1 н раствор гидроксида натрия. В экспериментах объем растворяющей среды был выбран, учитывая чувствительность разработанного метода количественного определения действующих веществ – 1000 мл.

На основании результатов проводимых экспериментов по изучению влияния pH среды на скорость растворения рекомендуемых таблеток для дальнейших исследований нами рекомендовано использование нейтральной среды – воды очищенной.

При разработке теста «Растворение» исследование по установлению оптимальной скорости вращения корзинки проводили при 50, 100, 150 и 200 об/мин. Из данных исследования определяли, что высвобождение активного вещества из рекомендуемых таблеток при различных скоростях вращения корзинки происходит интенсивно. Следует отметить, что при скорости вращения корзинки 100 об/мин концентрация действующих веществ, перешедших в раствор за 45 минут, составляет более 75%, что отвечает требованиям ГФ XIII. В подобных условиях наблюдается кинетика высвобождения активной субстанции по уравнению первого порядка. Исходя из вышеизложенного, для дальнейшего исследования качества готовой продукции с биофармацевтической точки зрения рекомендуется скорость вращения корзинки 100 об/мин.

Посторонние примеси изучали методом ВЭЖХ. Для этого тестовым раствором растворили 25 мг исследуемого вещества в подвижной фазе А и доводили водой до 25,0 мл с подвижной фазой А. При этом эталонный раствор (а) разбавили 1,0 мл испытуемого раствора до 100,0 мл подвижной фазой А. Дальше разбавили 1,0 мл этого раствора до 10,0 мл подвижной фазой А. Эталонный раствор (б) растворили содержимое флакона с бисопрололом для соответствия системе. (метод А CRS (содержащий примеси А, В и Е) в 1,0 мл подвижной фазы А.колонку приготовили следующем образом: Колонка: – размер: l = 0,25 м, Ø = 4,6 мм; – неподвижная фаза: октадецилсилилсиликагель для хроматографии R (5 мкм); – температура: 30 ° С. Мобильная фаза: – подвижная фаза А: смешивают 10 объемов ацетонитрила R1 и 90 объемов раствора.содержащий 0,4 мл / л триэтиламина R1 и 3,12 г / л натрия дигидрофосфата R, предварительно доведенный до pH 4,2 разбавленной фосфорной кислотой R; – подвижная фаза В: смешивают 25 объемов раствора, содержащего 0,4 мл / л триэтиламина R1 и 3,12 г/л натрия дигидрофосфата Р, предварительно доведенного до pH 4,2 разбавленным фосфорная кислота R и 75 объемов ацетонитрила R1. Скорость потока 1,0 мл/мин. Детектирующий спектрофотометр при 225 нм Для инъекций 10 мкл. Для идентификации примесей использовали хроматограмму, поставляемую с бисопрололом для системы.метод пригодности А CRS и хроматограмма раствора сравнения (b) для определили пики, связанные с фумаровой кислотой и примесями А, В и Е. Применительно к бисопрололу (время удерживания = около 14,5 мин): примесь А = около 0,25; примесь G = около 1,05; примесь В = около 1,1; примесь Е = около 1,3.

Б. Примеси А и G. Жидкостная хроматография (2.2.29). Смесь растворителей ацетонитрил R1, вода для хроматографии R (20:80 об / об). Раствор для испытаний растворили 25 мг исследуемого. Для идентификации примесей использовали хроматограмму, поставляемую с бисопрололом для системы.

Однородность дозирования тоже проводили по методу *ВЭЖХ*. Провели испытание в соответствии со следующим методом: тест на однородность контента приготовили следующем образом: 1 таблетку бисопролола фумарата в таблетках, разложили добавив 8 мл воды, и добавили воды, чтобы получилось ровно 10 мл, а затем фильтровали через мембранный фильтр с порами не более 0,45 мм. Отлив первые 3 мл фильтрата, набрали пипеткой 5 мл последующего фильтрата, добавили воду до метки, чтобы каждый мл содержал около 62,5 мг бисопролола фумарата и использовали этот раствор в качестве образца раствора. Отдельно точно взвесили около 20 мг бисопролола фумарата для анализа, предварительно сушили при пониженном давлении при 80 ° С в течение 5 часов, используя оксид фосфора (V) в качестве осушителя и растворяели в воде до ровно 200 мл. Отобрали пипеткой 15 мл этого раствора, добавили воды, чтобы получилось ровно 25 мл, и использовали этот раствор в качестве стандартное. Определяли оптическую плотность АТ и AS при 271,5 нм раствора образца и стандартного раствора как направлено в соответствии со спектрофотометрией в ультрафиолетовой и видимой области.

Количественное определение действующего вещества определяли по методу ВЭЖХ.

Результаты и их обсуждение. Вышеприведенные методики спецификации рекомендуемого препарата – таблеток «Бискор»- ВЭЖХ с УФ-детекцией показало, что выбранная технология и методы определения качества рекомендуемых таблеток отвечает требованиям. Так, как выбран обращеннофазный вариант хроматографии в изократическом режиме. Разработана и предложена следующая методика количественного определения.

Около 118,0 мг (точная навеска) порошка 20 растертых таблеток, что эквивалентно 4 мг бисопролола фумарата, помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50-60 мл метанола, встряхивали в течение 30 минут, подвергали обработке на УЗ- бане в течение 3 мин, доводили объем раствора метанолом до метки, перемешивали. Фильтровали через бумажный фильтр или мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Приготовление испытуемого раствора заключалось в следующем. Приготовление раствора рабочего стандартного образца (РСО) бисопролола фумарата *заключалось в следующем:* Около 40 мг (точная навеска) РСО бисопролола фумарата помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 50-60 мл метанола, встряхивали и подвергали обработке на УЗ – бане около 3 минут, объем раствора доводили до метки метанолом, перемешивали.

5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, объем раствора доводили до метки подвижной фазой, перемешивали. Фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Условия хроматографирования следующая:

- колонка: Shim-Pack, CLC-ODS (C 18) 4,6 мм x 2,5 см, размер частиц 0,5 мкм или эквивалентная;
- УФ-детектирование при длине волны. 247 нм;
- скорость потока подвижной фазы: 1,0 мл/мин;
- объем вводимой пробы: 10 мкл;
- температура: 40°С±1°С.

По 10 мкл испытуемого раствора и раствора РСО бисопролола фумарата попеременно хроматографировали на жидкостном хроматографе, получая не менее 5 хроматограмм для каждого из растворов.

Содержание бисопролола фумарата (X, мг) в одной таблетке вычисляли по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 5 \cdot P \cdot b}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot b}{S_0 \cdot m_1 \cdot 1000},$$

где S_1 – среднее значение площадей пиков бисопролола фумарата, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора;

S_0 – среднее значение площадей пиков бисопролола фумарата, вычисленное из хроматограмм раствора РСО бисопролола фумарата;

m_0 – масса навески РСО бисопролола фумарата в миллиграммах;

m_1 – масса навески испытуемого препарата в миллиграммах;

P – содержание бисопролола фумарата в РСО бисопролола фумарата, в миллиграммах;

b – средняя масса таблеток в миллиграммах.

Таким образом, разработаны условия теста растворения, определение посторонных примесей и количественного определения для рекомендуемых таблеток «Бискор». Разработанная методика валидирована и соответствует требованиям ГФ – ГФ XIII.

ЛИТЕРАТУРА

1. Илхамова Н.Б., Джалилов Х.К., Юнусова Х.М. //«Ибуасктамол», «Ниме-S» ва «Ибупрофен-S» таблеткаларини сифат кўрсаткичларини ўрганиш// Фармацевтика журнали. Ташкент. 2016. N 4. Б. 52-57.

2. Жалолиддинова М.Ш., Юнусова Х.М. Нам донадорлаб олинган «Ортоф-S» таблеткалари сифат кўрсаткичларини ўрганиш натижалари // «Фармацевтика соҳасининг бугунги ҳолати: муаммолар ва истиқболлар» (Ҳалқаро олимлар иштирокидаги республика илмий-амалий анжумани материаллари). Тошкент. 2019. N 3. Б. 302-304.

3. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of «Ortof-S» tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288.

4. Шодиева Н.Б., Юнусова Х.М., Ахмедова Д.Т. Стандартизация таблеток «Пирацетам по 0,2 и 0,4г» // Инфекция, Иммунитет и Фармакология. Ташкент. 2016 N 6. Б. 499-502.

5. Жалолиддинова М.Ш., Юнусова Х.М. Изучение физико-химических и технологических свойств субстанций бисопролола фумарата// Материалы V Международной научно-практичной конференции «Ликі –людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів» 2021. С.346-347

6. Abdijalilova Z.Kh., Yunusova Kh.M., Ilkhamova N.B. Pre-clinical study of expectorant properties of «Ambrol» tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(4). P. 2349-2354.

SUMMARY

STUDY OF THE SPECIFICATION CHARACTERISTICS OF THE RECOMMENDED PREPARATION «BISKOR»

Jaloliddinova M.Sh., applicant
Academic advisor: **Yunusova Kh.M.,** doctor. pharm. sciences, prof.
Ilkhamova N.B., doctor. pharm. sciences.
Tashkent Pharmaceutical Institute,
45 Aybek str., Tashkent, 100015, Republic of Uzbekistan
E-mail: samina1809@mail.ru

The results of studying the specification characteristics of the recommended «Biskor» tablets are presented. The solubility, foreign impurities and the quantitative content of active substances were studied.

Keywords: *solubility, quantitative determination, foreign impurities, HPLC.*

REFERENCES

1. Ilkhamova N.B., Dzhalilov H.K., Yunusova H.M. //“Ibuasktamol”, “Nime-S” and “Ibuprofen-S” tabletkalarini sifat kўrsatkichlarini ўrganish// Pharmaceutical Journal. Tashkent. 2016. N 4. P. 52-57.

2. Zhaloliddinova M.Sh., Yunusova Kh.M. Nam donadorlab olingan “Ortof-S” tabletkalari sifat kўrsatkichlarini ўrganish natijalari // “Pharmaceuticals sohasining bugungi holati: muammolar va istiqbollar” (galkaro olimlar ishtirokidagi republic ilmiy-amaliy anzhumani materiallari). Tashkent. 2019. N 3. P. 302-2019.

3. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of “Ortof-S” tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288.

4. Chodieva N.B., Yunusova Kh.M., Akhmedova D.T. Standardization of tablets «Piracetam 0.2 and 0.4 g» // Infection, Immunity and Pharmacology. Tashkent. 2016. N6. P. 499-502.

5. Zhaloliddinova M.Sh., Yunusova Kh.M. Study of the physicochemical and technological properties of bisoprolol fumarate substances// Proceedings of the V International Scientific and Practical Conference “Faces – people. Current problems of pharmacotherapy and recognition of medicinal benefits”. 2021. P. 346-347

6. Abdijalilova Z.Kh., Yunusova Kh.M., Ilkhamova N.B. Pre-clinical study of expectorant properties of «Ambrol» tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(4). P. 2349-2354.

УДК 61:615.072

ПОДХОДЫ К СИНТЕЗУ И КОЛИЧЕСТВЕННОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ ГЕНИСТЕИНА КАК СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА

Жигалина А.А., аспирант 2 года обучения (ORCID: 0000-0002-2881-8707),
Соловьева П.А., студ. 4 курса (ORCID: 0000-0001-5724-360X)
Научные руководители: **Стрелова О.Ю.,** канд. хим. наук, доцент, заведующий каф.фарм. химии (ORCID: 0000-0001-6737-1023),
Дударев В.Г., канд. хим. наук, доцент (ORCID: 0000-0002-8003-3173)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А.
E-mail: zhigalina.anna@spcpu.ru

Актуальным вопросом является создание реестра стандартных образцов Государственной фармакопеи. Применение стандартных образцов (СО) подтверждает результаты анализов легитимными. Перспективной субстанцией для аттестации в качестве СО является изофлавон генистеин, который обладает радиозащитными свойствами. Проведен синтез данной субстанции, как наиболее эффективного пути получения данного вещества. Определены направления для его количественного определения и даны первичные данные, выбраны абсолютные и альтернативные методы его оценки.

Ключевые слова. *Стандартный образец, генистеин, изофлавон, аттестация СО, неводное титрование.*

Применение стандартных образцов обеспечивает метрологическую сопоставимость и сходимость результатов анализа, выполненных в разных лабораториях, разными аналитиками, в разное время. Современный уровень развития фармацевтического анализа предполагает использование высокотехнологичного оборудования, а действующие методики работы на нем часто предполагают наличие и применение стандартного образца анализируемой субстанции. Именно поэтому можно утверждать, что разработка новых стандартных образцов – это основная задача для обеспечения безопасности лекарственных препаратов (ЛП), контроля их качества и своевременном обнаружении фальсифицированных лекарственных средств (ЛС) [1].

Основной проблемой в РФ является отсутствие фармакопейных СО. В последнее время данный вопрос стал особенно острым. Если раньше проблемы применения импортных СО ограничивались такими недостатками как, малые количества, высокая стоимость и длительность доставки, то с большой долей вероятности СО фармакопей США и Европы перестанут поставляться в Россию. Использование данных СО на отечественных предприятиях играет ключевую роль при проведении контроля качества ЛС. Критическая нагрузка по ревалидации, разработки новых методик, проведение аттестации СО предприятий коснется всех лабораторий и центров контроля качества ЛС. Таким образом, актуальной задачей является воссоздание отечественных фармакопейных СО для надлежащего функционирования системы контроля качества [1].

Генистеин – природный изофлавон, в значительном количестве представленный в растениях семейства *Бобовые (Fabaceae)*. В проведенных исследованиях были обнаружены радиозащитные свойства, которые проявляются максимально при его введении до облучения. Показана возможность создания на его основе лекарственного препарата для сопровождения лучевой терапии опухолей. Также генистеин оказывает положительный эффект при профилактике и терапии сердечно-сосудистых заболеваний и остеопороза у женщин в период менопаузы, проявляет гипохолестеринемическое и антидиабетическое действие [2]. Препараты на основе сои содержат в своем составе комплекс изофлавонов, на этикетках некоторых биологически активных добавок (БАД) не указывают, какие изофлавоны включены, а только указывается суммарное количество. Таким образом, проводить стандартизацию не представляется возможным.

Генистеин получают метод экстрагирования из лекарственного растительного сырья. В связи с тем, что выход данного метода небольшой, около 40%, необходимы значительные количества лекарственного растительного сырья. Однако сырьевая база производства сои на территории Российской Федерации ограничена. Осложняется ситуация еще и тем, что выращенная соя используется в основном в пищевой промышленности и в качестве кормовой культуры в сельском хозяйстве. Данный метод трудоемок в плане очистки и получении индивидуального вещества. При исследовании природного генистеина была обнаружена примесь его родственного изофлавона – дайдзеина. Таким образом, экстрагирование не позволяет получить индивидуальное вещество и использовать этот метод для аттестации генистеина как СО [2].

Целью нашего данного исследования было совершенствование схемы синтеза и разработка методик количественного определения генистеина.

Задачи:

1. Усовершенствовать схему синтеза генистеина;
2. Разработать методики очистки генистеина;

3. Разработать методики количественного определения генистеина;
4. Валидировать и провести сравнительный анализ предлагаемых методик.

В работе использовали генистеин, полученный органическим синтезом и изучаемый на кафедрах фармацевтической химии и химической технологии лекарственных веществ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Схема синтеза была предоставлена разработчиками научно-производственный центр «Фармзащита» Федеральное медико-биологическое агентство России, (к.х.н. В.Ю. Ковтуном и к.х.н. И.Е. Чикуновым) и усовершенствованная на кафедре Химической технологии лекарственных веществ (ХТЛВ) [3].

Синтез проходит по 3 стадиям:

1 Стадия. Получение дезоксибензоина

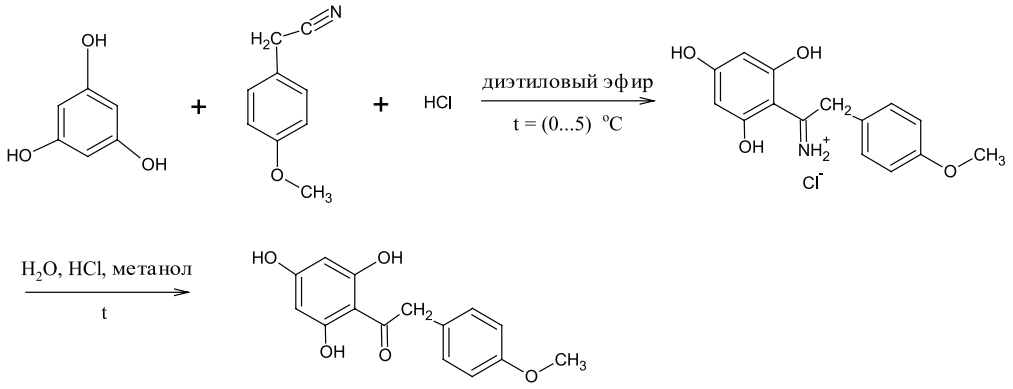


Рисунок 1. Получение дезоксибензоина

2 стадия. Циклизация дезоксибензоина в изофлавон

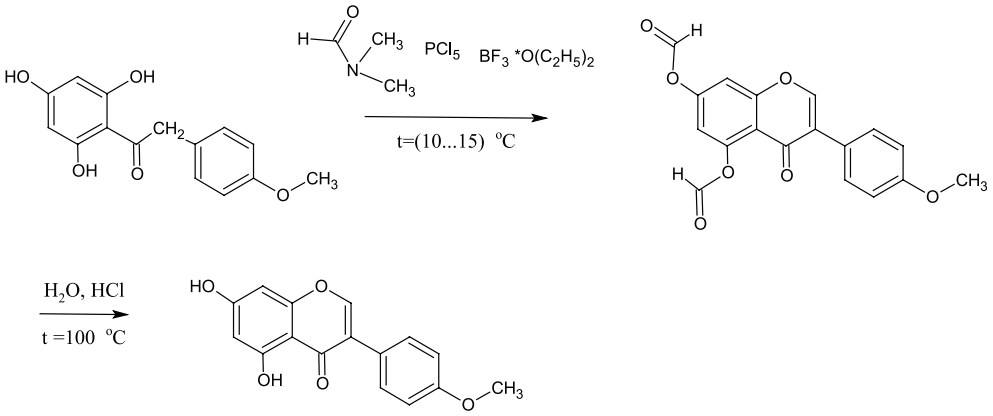


Рисунок 2. Циклизация дезоксибензоина в изофлавон (Получение 4'-О-метилгенистеина)

3 стадия. Снятие «метильной защиты» с изофлавона (получение генистеина)

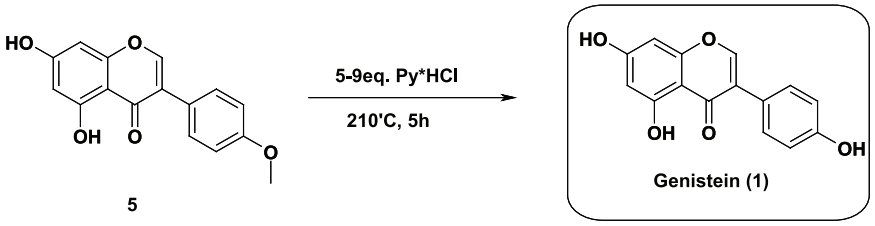
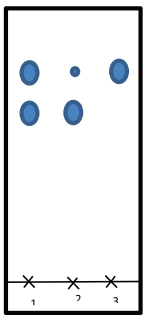


Рисунок 3. Снятие «метильной защиты» с изофлавона

На последней стадии нами был использован пиридина гидробромид, так как его температура плавления меньше, чем у пиридина гидрохлорида.

На каждой стадии и в процессе синтеза была проведена тонкослойная хроматография для подтверждения и оценки изменений (рис. 4).

Была использована следующая система: бутилацетат: четыреххлористый углерод: муравьиная кислота (2:5:1). Детекция в ультрафиолетовом свете.



1 – образец реакционной массы после 1 часа кипячения
2 – образец реакционной массы после 2 часа кипячения
3 – 4'-О-метилгенистеин

Рисунок 4. Схема тонкослойной хроматографии в процессе последней стадии

Для очистки синтезированного генистеина использовали несколько методов. Была проведена перекристаллизация из изопропилового спирта, этилацетата, кипячением генистеина в ацетоне с углем, колоночная хроматография с силикагелем (подвижная фаза – этилацетат) [3]. Однако эти методы не позволяют до конца получить чистый продукт. Была предложена твердофазная экстракция как альтернативный метод очистки генистеина. Данные ТСХ показали, что каждый образец дает одно пятно в сравнении с генистеином, синтезированным разработчиками.

Такие методы количественного определения как высокоэффективная жидкостная хроматография, спектрофотометрия не могут быть применены для определения содержания вещества в СО, т.к. являются относительными. Необходимо разработать абсолютные методики, каковыми являются титриметрические.

В Общей фармакопейной статье (ОФС) 1.1.0007.18 Стандартные образцы для оценки количественного содержания СО предложен метод материального баланса. Значение рассчитывают исходя из результатов определения примесей, то есть органических и неорганических соединений, воды и остаточных растворителей. Сумма всех составляющих с основным веществом должна составлять 100% [4].

В литературе описаны разные методы количественного определения генистеина и родственных с ним флавоноидов. Так как генистеин обладает антиоксидантной активность, то для количественного определения может применяться метод кулонометрического титрования. Генистеин полифенольное соединение, он реагирует с бромом, приводя к обесцвечиванию. Эта реакция может применяться при проведении кулонометрии. На одном из электродов образуется электрогенерированный бром (титрант) из раствора 0.2 М калия бромида, который реагирует с веществом. Конечную точку кулонометрического титрования определяли амперометрически или потенциометрически. По закону Фарадея можно рассчитать количество генистеина. Предположительно, фактор эквивалентности будет 1/8 [5].

Основными минусами этого метода является зависимость метода от внешних факторов, сложность в воспроизведении, а значит в дальнейшим его валидации.

Генистеин является слабой кислотой и не растворим в воде, поэтому приоритетным методом является неводное титрование в среде основного растворителя. Этот метод для флавоноидов проводится, в основном, в среде безводного диметилформамида. Титрантами могут служить разные соединения. В ОФС.1.2.3.0014.15 Кислотно-основное титрование в неводных средах приведена таблица, в которой обозначены растворители, индикаторы и титранты (табл.1) [6].

Таблица 1 – Растворители, индикаторы и титранты, рекомендуемые при кислотно-основном титровании в неводных средах

Растворители	Индикаторы	Титранты
Основные Диметилформамид, пиридин, этилендиамин	Тимоловый синий, бромтимоловый синий, нафтолбензеин, нитроанилин	Растворы гидроксидов натрия и калия, натрия метилата, лития метилата, гидроксиды тетраэтил- и тетрабутиламмония в спирте метиловом или в его смеси с бензолом или толуолом

Для рутозида в Государственной Фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ) 14 был предложен 0.1 М раствор тетрабутиламмония гидроксида с потенциометрической индикацией [7].

Наиболее часто в среде диметилформамида (ДМФА) используется индикатор тимоловой синий.

Первичные данные количественного определения генистеина представлены в таблицах 2,3,4.

Таблица 2 – Алкалиметрическое определение генистеина в неводной среде с гидроксидом натрия 0,07482 М

Навеска генистеина	Объем титранта	
	Переход окраски в зеленый	Переход окраски в синий
0,0494	2,5	5,0
0,0520	2,6	5,1
0,0492	2,5	5,0
Фактор эквивалентности	1	1/2

Таблица 3 – Алкалиметрическое определение генистеина в неводной среде с гидроксидом натрия 0,09342 М

Навеска генистеина	Объем титранта	
	Переход окраски в зеленый	Переход окраски в синий
0,0510	2,1	4,1
0,0502	2,1	4,2
0,0484	2,0	4,0
Фактор эквивалентности	1	1/2

Таблица 4 – Алкалиметрическое определение генистеина в неводной среде с 0.1М тетрабутиламмония гидроксида (К=0,971)

Навеска генистеина	Объем титранта (переход окраски в зеленый)
0,0985	4,0
0,1005	4,2
0,0992	4,0
Фактор эквивалентности	1

Основным минусом неводного титрования является неустойчивость титрантов основного характера. Предлагается устанавливать титр каждый раз перед применением титранта. Рекомендовано проводить титрование в условиях, защищенных от влаги и углекислого газа, поэтому предлагается использовать среду инертного газа (азота). Также ДМФА быстро вбирается в себя влагу из воздуха, поэтому необходимо следить за хранением растворителя. При необходимости проводить перегонку ДМФА, чтобы удалить воду из растворителя.

1. Усовершенствована схема синтеза генистеина;
2. Разработана методика очистки генистеина ТФЭ на патронах;
3. Разработана методика количественного определения генистеина;
4. Валидировать и провести сравнительный анализ предлагаемых методик планируется до конца семестра.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. Леонтьев Д.А., Подпружников Ю.В., Воловик Н.В. Роль стандартных образцов в обеспечении качества лекарственных средств: регуляторные и метрологические аспекты // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. N 3(16). С. 180-188.

2. Оценка показателей качества перспективной фармацевтической субстанции на основе синтетического генистеина / О.Ю. Стрелова [и др.] // Бутлеровские сообщения. 2016. № 48(12). С. 94-101.

3. Чикунов И.Е. Отчет о научно-исследовательской работе по теме Генистеин // Химки: ФМБА НПЦ «ФАРМЗАЩИТА». 2012. 22 с.

4. ОФС.1.1.0007.18 «Стандартные образцы» // Государственная фармакопея РФ. XIV изд. Т. 1. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/185/ (дата обращения: 02.03.2022)

5. Зиятдинова Г.К., Гильметдинова Д.М., Офицеров Е.Н. Электрохимическое определение производных дигидрокверцетина и ионола // Ученые записки Казанского государственного университета. 2006. N 148. С. 30-41.

6. ОФС.1.2.3.0014.15 «Кислотно-основное титрование в неводных средах»// Государственная фармакопея РФ. XIV изд. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/ (дата обращения: 02.03.2022)

7. ФС. 2.1.0175.18 «Рутозид тригидрат» // Государственная фармакопея РФ. XIV изд. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/ (дата обращения: 02.03.2022)

SUMMARY

APPROACHES TO THE SYNTHESIS AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF GENISTEIN AS A CERTIFIED REFERENCE MATERIAL

Zhigalina A.A., 2th year graduate student, **Soloveva P.A.**, 4th year student
Scientific directors: **Strelova O.Y.**, Candidate of Chemical Sciences, docent, head of the Department of Pharmaceutical Chemistry, **Dudarev V.G.**, Candidate of Chemical Sciences, docent
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: zhigalina.anna@spcpu.ru

An urgent issue is the creation of a register of reference materials (RM) of the State Pharmacopoeia. The use of RM confirms the results of the analyzes are legitimate. A promising substance for certification as a RM is the isoflavone genistein, which has

radioprotective properties. The synthesis of this substance was carried out as the most effective way to obtain this substance. Directions for its quantitative determination are determined, absolute and alternative methods of its assessment are selected.

Keywords: *Reference material, genistein, isoflavone, certified reference material, non-aqueous titration.*

REFERENCES

1. Leont'ev D.A., Podpruzhnikov Ju.V., Volovik N.V. Rol' standartnyh obrazcov v obespechenii kachestva lekarstvennyh sredstv: reguljatornye i metrologicheskie aspekty // Razrabotka i registracija lekarstvennyh sredstv. 2016. N 3(16). P. 180-188 (in Russian).

2. Ocenka pokazatelej kachestva perspektivnoj farmacevticheskoj substancii na osnove sinteticheskogo genisteina / O.Ju. Strelova [et al.] // Butlerovskie soobshhenija. 2016. N 48(12). P. 94-101 (in Russian).

3. Chikunov I.E. Otchet o nauchno-issledovatel'skoj rabote po teme Genistein // Himki: FMBA NPC «FARMZAShhITA». 2012. 22 p. (in Russian).

4. OFS.1.1.0007.18 «Standartnye obrazcy» // Gosudarstvennaja farmakopeja RF. XIV ed. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/185/ (Accessed: 02.03.2022) (in Russian).

5. Zijatdinova G.K., Gil'metdinova D.M., Oficerov E.N. Jelektrohimicheskoe opredelenie proizvodnyh digidrokvercetina i ionola // Uchenye zapiski Kazanskogo gosudarstvennogo universiteta. 2006. N 148. P. 30–41 (in Russian).

6. OFS.1.2.3.0014.15 «Kislotno-osnovnoe titrovanie v nevodnyh sredah» // Gosudarstvennaja farmakopeja RF. XIV ed. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/ (Accessed: 02.03.2022) (in Russian).

7. FS. 2.1.0175.18 «Rutozid trigidrat» // Gosudarstvennaja farmakopeja RF. XIV ed. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/ (Accessed: 02.03.2022) (in Russian).

УДК 581.48

ПЕРСПЕКТИВА ПРИМЕНЕНИЯ РАПСА (BRASSICA NAPUS) В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Жидебаева Ж.К., студ. 3 курса, **Тилеуберди Н.Н.**, докторант 1 года обучения
Руководитель: **Тургумбаева А.А.**, PhD, доцент
Казахский Национальный Университет имени аль-Фараби
050040, г. Алматы, пр. аль-Фараби 71, Республика Казахстан
E-mail: zhanarzhidebayeva@gmail.com

Проведен обзор на химический состав рапса (Brassica napus) в целях изучения его биологической активности. Рапс – важная масличная культура, занимающая третье место в мире по производству растительного масла. В большинстве случаев рапс выращивают для получения пищевого масла. В связи с этим, нами были исследованы перспективы его применения в медицине и фармацевтике.

Цель и задачи: Целью исследования является изучение компонентного состава рапса. Задачи исследования включают в себя изучение минерального и жирно-кислотного состава семян рапса.

Ключевые слова: *рапсовое масло, жирнокислотный состав, токоферолы, каротиноиды, семена рапса, олеиновая кислота*

Рапс (Brassica napus), является ярко-желтым цветущим представителем семейства Brassicaceae (семейство горчичных или капустных), выращиваемый главным образом из-за его богатых маслом семян, которые содержат значительное количество жирных кислот. Существуют две разновидности растения, которые имеют форму озимого и ярового рапса. Он является третьим по величине источником растительного масла и вторым по величине источником белка в мире. Рапс – это один из культивируемых лекарственных растений в Центральной Азии, Северной Африке и Западной Европе. Он ценится для использования в качестве пищи для людей и животных. По оценке фармакологической и биологической активности рапса основанной на традиционном и народном опыте, его рекомендуют к использованию в медицинской практике. В Иранской традиционной медицине корни данного растения использовались в терапевтических целях в качестве диуретика, при лечении цинги и воспалительных процессов мочевого пузыря. Кроме того, семена рапса применялись в лечении заболеваний печени и почек [1].

Семена рапса имеют своеобразный химический состав, который отличает их от семян большинства других масличных культур. Этот необычный химический состав в основном касается двух свойств – присутствия серосодержащих глюкозидов в белковой части семян, а также присутствия мирозиназы, фермента, способного расщеплять тиоглюкозиды. В таблице 1 представлен минеральный состав семян рапса [2].

Таблица 1 – Витаминно-минеральный состав семян рапса

Нутриент	Содержание в 100 г
Жиры	37,6 мг
Белки	30,8 мг

Нутриент	Содержание в 100 г
Углеводы	7,2 мг
Витамин PP (никотинамид)	15,9 мг
Витамин Е (альфа токоферол)	7,4 мг
Витамин В2 (рибофлавин)	0,25 мг
β-каротин	960 мг
Калий	979 мг
Фосфор	840 мг
Кальций	454 мг
Магний	311 мг

Витамин В2 участвует в окислительно-восстановительных реакциях, способствует повышению цветочувствительности зрительного анализатора и адаптации к темноте. Недостаточное поступление витамина В2 сопровождается нарушением состояния кожи, слизистых оболочек, нарушением светового и сумеречного зрения [3].

Витамин Е обладает антиоксидантными свойствами, необходим для функционирования половых желез, сердечной мышцы, является универсальным стабилизатором клеточных мембран. Дефицит витамина Е наблюдается при гемолизе эритроцитов, неврологических расстройствах. Наиболее важными биологически активными соединениями, относящимися к группе витамина Е, являются токоферолы и токотриенолы. Токоферол является не только антиоксидантом, но и антигипоксиантом, что объясняется его способностью стабилизировать митохондриальную мембрану и экономить потребление кислорода клетками. Из всех клеточных органелл митохондрии наиболее чувствительны к повреждениям, поскольку они содержат наиболее легко окисляемые ненасыщенные липиды. Благодаря мембраностабилизирующему действию витамина Е в митохондриях усиливается конъюгация окислительного фосфорилирования, образование АТФ и креатинфосфата. Витамин контролирует биосинтез убихинона, компонента дыхательной цепи и основного антиоксиданта митохондрий. Токотриенолы проявляют сильные нейропротекторные, антиоксидантные свойства, снижают риск развития рака. Микромолярные количества токотриенолов снижают активность 3-гидрокси-3-метилглутарилкофермент А редуктазы, ответственной за синтез холестерина, тем самым снижая его уровень в организме. Витамин Е является эффективным иммуномодулятором, который помогает укрепить иммунную защиту организма [4].

К 2012 году было описано около 600 различных каротиноидов. В рационе человека содержится около 50 каротиноидов, из которых только 10 присутствуют в плазме крови в ощутимых количествах. Каротиноиды выполняют функции антиоксидантов в организме человека. Каротиноиды – это провитамины А, метаболические предшественники витамина А; наиболее важным среди них является β-каротин. Витамин А и бета-каротин, являясь мощными антиоксидантами, являются средствами профилактики и лечения рака, в частности, предотвращения рецидива опухолей после операции. И витамин А, и бета-каротин защищают мембраны клеток головного мозга от разрушительного воздействия свободных радикалов, в то время как бета-каротин нейтрализует наиболее опасные типы свободных радикалов: радикалы полиненасыщенных кислот и радикалы кислорода. Антиоксидантное действие бета-каротина играет важную роль в профилактике заболеваний сердца и артерий, он оказывает защитное действие у пациентов со стенокардией, а также повышает содержание «полезного» холестерина в крови. Лютеин и зеаксантин являются основными каротиноидами, которые защищают наши глаза: они способствуют профилактике катаракты, а также снижают риск дегенерации желтого пятна (важнейшего органа зрения), которое в каждом третьем случае является причиной слепоты. Другой каротиноид – ликопин (содержится в основном в помидорах) защищает от атеросклероза, предотвращая окисление и накопление холестерина низкой плотности на стенках артерий. Кроме того, данный каротиноид защищает от рака, особенно рака молочной железы, эндометрия и предстательной железы.

Витамин Р участвует в окислительно-восстановительных реакциях энергетического обмена. Недостаточное потребление витаминов сопровождается нарушением нормального состояния кожи, желудочно-кишечного тракта и нервной системы.

Калий является основным внутриклеточным ионом, участвующим в регуляции водного, кислотного и электролитного баланса, участвует в процессах передачи нервных импульсов, регуляции давления.

Кальций является основным компонентом наших костей, действует как регулятор нервной системы, участвует в сокращении мышц. Дефицит кальция приводит к деминерализации позвоночника, костей таза и нижних конечностей, повышает риск развития остеопороза.

Магний участвует в энергетическом обмене, синтезе белков, нуклеиновых кислот, оказывает стабилизирующее действие на мембраны, необходим для поддержания гомеостаза кальция, калия и натрия. Недостаток магния приводит к гипомагниемии, повышенному риску гипертонии, сердечных заболеваний.

Фосфор участвует во многих физиологических процессах, в том числе в энергетическом обмене, регулирует кислотно-щелочной баланс, входит в состав фосфолипидов, нуклеотидов и нуклеиновых кислот, необходим для минерализации костей и зубов. Дефицит приводит к анорексии, анемии, рахиту.

Железо входит в состав белков различных функций, включая ферменты. Участвует в транспорте электронов, кислорода, обеспечивает протекание окислительно-восстановительных реакций и активацию перекисного окисления. Недостаточное потребление приводит к гипохромной анемии, дефициту миоглобина, атонии скелетных мышц, повышенной утомляемости, миокардиопатии, атрофическому гастриту.

Рапс также широко известен как богатый источник масла с низким содержанием насыщенных жирных кислот и высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот, в том числе омега-6 и омега-3 кислот. Функциональная и питательная ценность рапсового масла из семян и листьев зависит от природы содержащихся в составе жирных кислот, фитостеринов, таких как брассикастерол (относящийся к брассиностероидам), кампестерол, стигмастерол, β-ситостерол и авенастерол и сфинголипидов, как например церамиды, цереброзиды.

Кроме того, брассиностероиды, принадлежащие к стероидным растительным гормонам содержатся во многих растениях семейства Brassica, и играют важную регулирующую роль в различных физиологических процессах, включая рост организма и дифференцировку клеток. Они были обнаружены и извлечены из семян, плодов и листьев растений семейства Капустных. В последние годы, интерес к данным фитогормонам растет из-за постепенно обнаруживаемых полезных для здоровья свойств [5].

В последние годы, в мировой практике уделяют особое внимание разработкам из рапса (Brassica napus). Из семян рапса получают высококачественное масло с полезными свойствами. Рапсовое масло является одним из лучших масел содержащих омега-3, омега-6 жирных кислот. Жирно-кислотный состав рапсового масла (процент к сумме жирных кислот) из семян с низким и высоким содержанием эруковой кислоты представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Жирно-кислотный состав рапсового масла

Наименование жирной кислоты	Массовая доля жирных кислот в маслах, %	
	с массовой долей эруковой кислоты до 5 %	с массовой долей эруковой кислоты более 5 %
$C_{14:0}$ Тетрадекановая (миристиновая)	До 0,3	0
$C_{16:0}$ Гексадекановая (пальмитиновая)	2,5 – 6,5	1 – 6,5
$C_{16:1}$ Гексадеценовая (пальмитолеиновая)	До 0,6	До 2,5
$C_{18:0}$ Октадекановая (стеариновая)	0,8 – 2,5	До 2,5
$C_{18:1}$ Октадеценовая (олеиновая)	50,0 – 65,0	7,5 – 60,0
$C_{18:2}$ Октадекадиеновая (линолевая)	15,0 – 25,0	11,0 – 23,0
$C_{18:3}$ Октадекатриеновая (линоленовая)	7,0 – 15,0	5,0 – 12,5
$C_{20:0}$ Эйкозановая (арахиновая)	0,1 – 2,5	До 3,0
$C_{20:1}$ Эйкозеновая (гондоиновая)	0,1 – 4,0	3,5 – 6,0
$C_{20:2}$ Эйкозадиеновая	До 1,0	0,5 – 1,0
$C_{22:0}$ Докозановая (бегеновая)	До 1,0	0,6 – 2,5
$C_{22:1}$ Докозеновая (эруковая)	До 5,0	Св. 5,0 – 60,0
$C_{22:2}$ Докозадиеновая	До 0,5	0,6 – 2,5
$C_{24:0}$ Тетракозановая (лигноцериновая)	До 0,2	До 2,0
$C_{24:1}$ Тетракозеновая (селахолеиновая)	До 0,5	До 3,5

Рапс считается одним из полезных пищевых масел, в котором соотношение линолевой и линоленовой кислот хорошо сбалансировано по сравнению с соевым маслом. Олеиновая кислота считается самой важной из встречающихся в природе мононенасыщенных жирных кислот. Она присутствует во многих растительных маслах, в некоторых из них, например в оливковом и рапсовом масле является одной из основных жирных кислот.

Содержание масла в семенах рапса колеблется от 30 до 45 %, в зависимости от вида, сорта и климатических условий в котором его выращивают. Среднее содержание жирных кислот в рапсовом масле составляет 43,3 – 46,1%. Содержание насыщенных жирных кислот в масле варьирует от 3,47% до 5,2%. По изучению жирнокислотного состава выяснилось, что ненасыщенных жирных кислот в семенах рапса содержатся больше чем насыщенных [6].

Таким образом, рапсовое масло характеризуется содержанием следующих биологически активных веществ:

• низкий уровень насыщенных жирных кислот;

• большое количество мононенасыщенных и полиненасыщенных жирных кислот, включаяолеиновой кислоты, линолевой кислоты и альфа-линоленовой кислоты;

• растительные стерины;

• витамины А, В, РР и К;

• токоферолы.

Рапсовое масло широко используется во всем мире. Он известен своей доступностью и универсальностью в качестве растительного масла. Рапсовое масло содержит малое количество насыщенных жиров и большое количество ненасыщенных жиров, что очень полезно для здоровья. Он также широко используется в терапевтических целях в качестве диуретика, при лечении цинги и воспалительных процессов мочевого пузыря.

Рапсовое масло также является отличным источником жиров омега-3, известных как альфа-линоленовая кислота, которые обеспечивают многочисленные преимущества для здоровья сердца, такие как снижение кровяного давления и снижение вероятности сердечного приступа. Большое содержание омега-6 жирных кислот также может поддерживать общее состояние здоровья.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gulden R.H., Warwick S.I., Thomas A.G. The biology of Canadian weeds. 137. Brassica napus L. and B. rapa L. // Can J Plant Sci. 2008. N 88. P.951-996.
2. El-Beltagi H, Mohamed AA. Variations in fatty acid composition, glucosinolate profile and some phytochemical contents in selected oil seed rape (Brassica napus L.) cultivars. // Grasas Y Aceites. 2010. N 61(2). P.143-150.
3. Bertazzini M. Forlani G. «Intraspecific Variability of Floral Nectar Volume and Composition in Rapeseed (Brassica napus L. var. oleifera)» // Frontiers in Plant Science. 2016. N 7. P.288.
4. Chester C., Golebiowski T., Leong A.S. The role of tocopherols in canola seed // In:12th Australian Research Assembly on Brassicas; ARAB; Australia. 2001. P. 200-202.
5. Anticancer and antiproliferative activity of natural brassinosteroids / J. Malíková [et al.] // Phytochemistry. 2008. N 69. P.418-426.
6. Baux A., Hebeisen T., Pellet D. Effects of minimal temperatures on low-linolenic rapeseed oil fatty-acid composition. // European Journal of Agronomy. 2008. N 29. P.102-107.

SUMMARY

THE PROSPECT OF USING RAPESEED (BRASSICA NAPUS) AS A SOURCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Zhidebaeva Zh.K., 3rd year student, **Tileuberdi N.N.**, 1st year doctoral student
Head: **Turgumbaeva A.A.**, PhD, Associate Professor
Al-Farabi Kazakh National University
050040, Almaty, Al-Farabi Ave. 71, Republic of Kazakhstan
E-mail: zhanarzhidebayeva@gmail.com

A review of the chemical composition of rapeseed (Brassica napus) was carried out in order to study its biological activity. Rapeseed is an important oilseed crop, ranking third in the world in vegetable oil production. In most cases, rapeseed is grown for edible oil. In this regard, we have investigated the prospects for its use in medicine and pharmacy.

Purpose and objectives: The purpose of the study is to study the component composition of rapeseed. The objectives of the study include the study of the mineral and fatty acid composition of rape seeds.

Keywords: *rapeseed oil, fatty acid composition, tocopherols, carotenoids, rape seeds, oleic acid.*

REFERENCES

1. Gulden R.H., Warwick S.I., Thomas A.G. The biology of Canadian weeds. 137. Brassica napus L. and B. rapa L. // Can J Plant Sci. 2008. N 88. P.951-996.
2. El-Beltagi H, Mohamed AA. Variations in fatty acid composition, glucosinolate profile and some phytochemical contents in selected oil seed rape (Brassica napus L.) cultivars. // Grasas Y Aceites. 2010. N 61(2). P.143-150.
3. Bertazzini M. Forlani G. «Intraspecific Variability of Floral Nectar Volume and Composition in Rapeseed (Brassica napus L. var. oleifera)» // Frontiers in Plant Science. 2016. N 7. P.288.
4. Chester C., Golebiowski T., Leong A.S. The role of tocopherols in canola seed // In:12th Australian Research Assembly on Brassicas; ARAB; Australia. 2001. P. 200-202.
5. Anticancer and antiproliferative activity of natural brassinosteroids / J. Malíková [et al.] // Phytochemistry. 2008. N 69. P.418-426.
6. Baux A., Hebeisen T., Pellet D. Effects of minimal temperatures on low-linolenic rapeseed oil fatty-acid composition. // European Journal of Agronomy. 2008. N 29. P.102-107.

УДК 543.641

ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ ЭНАНТИОСЕЛЕКТИВНОЙ БУФЕРНОЙ СИСТЕМЫ Cu^{2+} – L-His ДЛЯ АНАЛИЗА АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЗОНАЛЬНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Жиляков М.М., студ. 4 курса
Научный руководитель: **Никитина Т.Г.**, канд. хим. наук, доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: mihail.zhilyakov@spcpu.ru

Проведено исследование по оценке пригодности анализа оптических D-/L- изомеров ароматических аминокислот триптофана, фенилаланина и тирозина на энантиоселективной лигандообменной водной буферной системе Cu^{2+} – L-His с помощью метода капиллярного зонального электрофореза. В ходе исследования в рамках определенных базовых

параметров электрофоретической системы при буферном pH=4,25 обнаружено полное разделение оптических изомеров для индивидуальных проб с приемлемыми характеристиками эффективности для качественного и количественного определения в пробах простого состава.

Ключевые слова: *лигандообменный капиллярный электрофорез, ароматические аминокислоты, комплекс медь – L-гистидин, энантиомеры, хиральность.*

Ароматические аминокислоты (ААК): триптофан (Trp), тирозин (Tyr), фенилаланин (Phe) – нашли широкое применение в виде сырья для производства лекарственных средств и биологически активных добавок (БАД) в качестве основного действующего вещества и базовых реактивов для химического и микробиологического синтеза. Широкая распространенность во всех живых организмах в составе белков, пептидов и иных биологических веществ, а также в индивидуальном виде и вовлеченность во множество физиологических процессов, в том числе и патологических, в совокупности с индустриальным значением для сельского хозяйства и фармацевтической промышленности определяют необходимость их качественного и количественного исследования для нормативного контроля сырья, готовой продукции и биологических объектов. [1]

ААК являются оптически активными природными соединениями, существующими в природе в виде D-/L- энантиомеров. Положительная биологическая активность для L – изомеров аминокислот в живых организмах, в частности для человека, подтверждена множеством биологических исследований метаболизма аминокислот, однако для D – изомеров отмечается предельно низкая, отсутствующая, а для человека – отрицательная биологическая активность, способствующая развитию патологических процессов. Качественный и количественный контроль D – изомеров в лекарственной продукции, содержащей ААК, является необходимым этапом для обеспечения безопасности производимых лекарственных средств. [2]

ААК являются цвиттер-ионными водорастворимыми соединениями. Для более полной диссоциации аминокислот буферные водные системы, используемые для их анализа, должны обладать pH, отличным от их изоэлектрической точки (pI), представленной на рисунке 1.

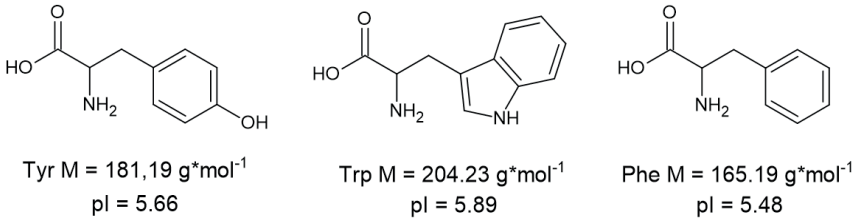


Рисунок 1. Структура ароматических аминокислот, молярные массы и значение изоэлектрической точки

Для целей контроля качества лекарственных средств и сырья, содержащих ААК, в настоящее время широко используются многочисленные гибридные методы высокоэффективной жидкостной хроматографии, регламентированные в Государственной фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ). Данные методы отличаются высокой стоимостью единичного анализа и оборудования для его проведения, трудоёмкостью и многоэтапностью пробоподготовки в рамках постколоночной дериватизации, приводящей к высокому риску допущения случайной и систематической ошибки в рамках рутинного анализа и скрининга аналитов, а также низкой экологичностью ввиду широко распространенной работы с токсичными органическими растворителями. [3]

Одной из перспективных быстроразвивающихся высокоэффективных групп гибридных методов является капиллярный электрофорез (КЭ), способный нивелировать вышеперечисленные недостатки группы методов ВЭЖХ для узкоспециализированных аналитических лабораторий. Метод КЭ на сегодняшний день позволяет работать с полярными молекулами, обладает уникальной эффективностью и селективностью, подходит для анализа сложных по составу смесей веществ, экономичен и прост в аппаратурном оформлении, практически не требует органических растворителей. [4]

Исследование оптических изомеров аминокислот в рамках настоящего исследования проводилось с использованием метода лигандообменного капиллярного электрофореза.

Лигандообменный капиллярный электрофорез (ЛОКЭ) – подвид наиболее распространенного метода капиллярного зонального электрофореза (КЗЭ), основанный на образовании лабильных координационных связей между лигандами и катионом металла с возникновением координационных соединений или комплексов в буферной системе. В данном методе используются лиганды с ионами металлов в качестве единственного хирального селектора. Разделение двух энантиомеров происходит вследствие различной энантиоселективности образования их тройных разнолигандных комплексов с ионом металла-комплексообразователя и хиральным расщепляющим лигандом, который добавлен в подвижную фазу. [2]

Так, буферная водная система, содержащая в своем составе ионы меди Cu^{2+} в качестве комплексообразователя и анионную форму L-гистидина (далее L-His) в качестве расщепляющего лиганда при использовании в аминокислотном анализе, показала высокую разделяющую способность и приемлемую эффективность при соблюдении требований к линейности измерений [1].

Целью данной работы является определение пригодности энантиоселективной буферной системы Cu^{2+} – L-His для анализа ароматических аминокислот в микромолярных концентрациях в рамках дальнейшей перспективы её использования для разработки аналитических методик анализа ААК в биотехнологическом сырье и полупродуктах.

На основании приведенной цели строятся следующие задачи работы:

1. Подготовка буферного раствора Cu^{2+}- L-His оптимальной концентрации составляющих компонентов с подтвержденной эффективностью разделения и стандартных растворов аминокислот;

2. Проведение лигандообменного электрофореза на индивидуальных стандартных растворах ААК;

3. Обработка данных: оценка эффективности разделения энантиомеров ААК.

Для приготовления растворов использовались следующие реактивы: Натрий фосфорнокислый двузамещенный (Химмед®) – для приготовления матрицы фонового электролита и первичных проб; D,L -Триптофан ХЧ, Тирозин ХЧ, Фенилаланин ХЧ (АО «Вектон®») – для приготовления растворов стандартных образцов; Пентагидрат сульфата меди (Sigma-Aldrich®), L-His (Panreac®) – для приготовления фонового электролита.

Растворы стандартных образцов готовились по точной навеске до концентраций аналита 0,001 М. с использованием в качестве матрицы раствор Na_2HPO_4 концентрации 5 мМ; далее аликвоты исходного раствора разбавлялись водой очищенной до следующих концентраций: для фенилаланина – 100, 150, 200, 250 и 300 мкМ, для триптофана и тирозина – 20, 40, 60, 80, 100 мкМ. Серия концентраций готовилась для предварительной оценки линейности показателей площади пиков энантиомеров ААК от концентрации рацемата в пробе, а также для выяснения тенденций к изменению характеристик разделения и эффективности при увеличении концентрации аналитов.

Буферный раствор готовился по точной навеске компонентов со следующими концентрациями: для $CuSO_4*5H_2O$ – 10 мМ, для L-His – 13 мМ, с растворением в водном растворе Na_2HPO_4 концентрации 5 мМ. pH буферного раствора при температуре помещения 20 °С составило 4,25.

КЭ выполнялся с использованием системы Капель® 105 М (Люмэкс®, Россия), оснащенной диодно-матричным детектором с УФ-детектированием при длине волны 254 нм. Прибор работал при напряжении 20 кВ. Капилляр термостатировался при температуре 25 °С, пробы термостатированию не подвергались. Температура в помещении установки прибора и приготовлении образцов в разные дни варьировалась от 18 до 22 °С.

В системе КЭ применялся капилляр из плавленого кварца с полиимидным покрытием общей длиной 60 см (эффективная длина 50 см) и внутренним диаметром 75 мкм.

Перед очередным использованием системы капилляр ежедневно промывался последовательно согласно схеме: вода очищенная => 0,1 М раствор гидроксида натрия => вода очищенная => 0,1 М раствор соляной кислоты => вода очищенная => фоновый электролит; каждый этап промывки длился 5 мин. После каждого анализа проводилась промежуточная промывка. Ввод проб осуществлялся давлением в 30 мбар в течение 7 с.

В процессе анализа пробирки типа Эппендорф, куда были опущены электроды, заполнялись до 1 мл буферным раствором. Замена буферного раствора проводилась после 5 циклов исследований на один образец – далее отработанный буферный электролит заменялся на свежий.

Для осуществления работы с системой капиллярного электрофореза Капель® 105 М, обработки данных электрофореграмм (ЭФГ), предоставления результатов анализа использовалось ПО «Эльфоран®». Расчет результатов анализа производился автоматически. Для обработки результатов анализа и построения графиков использовалась программа MO Excel®.

Установление принадлежности пиков к определенному оптическому изомеру не проводилось.

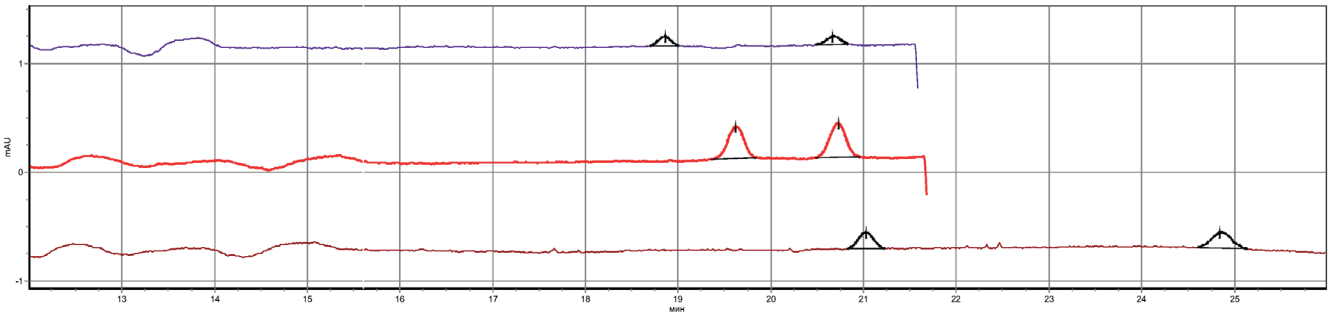


Рисунок 2. Участки электрофореграмм, отображающих пики энантиомеров аминокислот для индивидуальных проб рацемата концентрацией 100 мкМ. Сверху вниз: Phe, Trp, Tyr

В ходе проведения анализа обнаружено, что оптические изомеры ААК обладают приемлемыми характеристиками электрофоретического разделения. Типичное визуальное отображение электрофореграмм на рисунке 2 показывает, что пики разделяются полностью.

Разрешение Rn между пиками для каждой точки серии концентраций (рисунок 3) превышает значение 1,5. С увеличением концентрации калибровочных растворов разрешение между пиками значительно уменьшается. Так, наибольшая концентрация Phe, при которой будет наблюдаться приемлемое разрешение между пиками энантиомеров, составляет 300 мкМ.

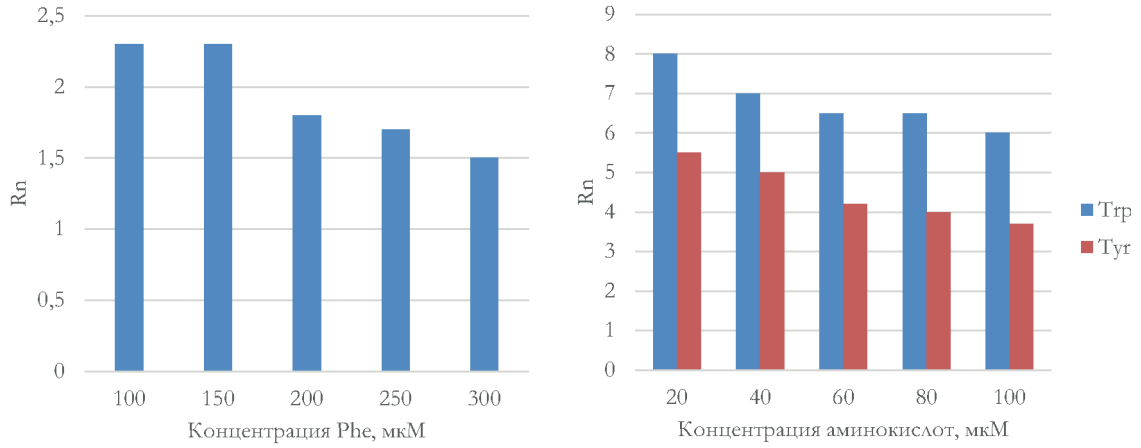


Рисунок 3. Разрешение между пиками энантиомеров ААК при различных концентрациях в калибровочных растворах

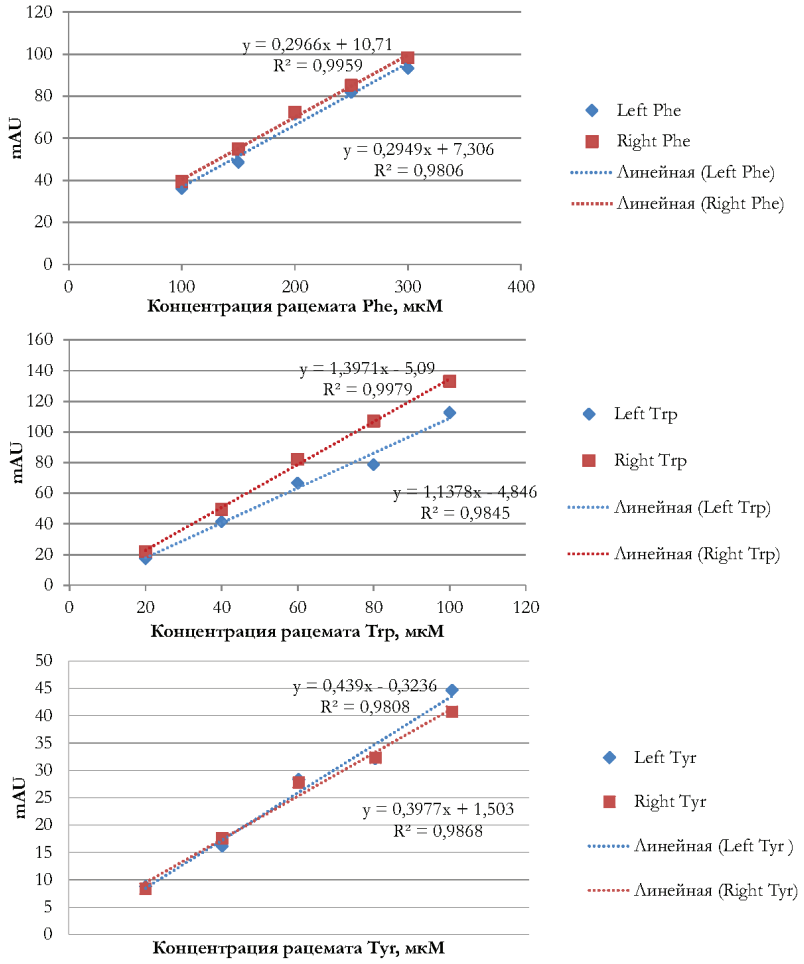


Рисунок 4. Калибровочные графики зависимости площадей пиков энантиомеров соответствующих ААК от концентрации рацемата в пробе

Эффективность электрофоретического разделения, выраженное числом теоретических тарелок, находится на высоком уровне в диапазоне 50-100 тыс. ТТ, приближаясь к правому его пределу.

Оценочный анализ линейности площади пиков в зависимости от концентрации рацемата в пробе в графическом представлении на рисунке 4, проводившийся по одной постановке для каждой концентрационной точки калибровочной кривой, показал, что коэффициенты линейной корреляции R значительно различаются для каждого энантиомера. Так, для фенилаланина коэффициенты R для D- и L- формы различаются на 0,015. Требования к линейности в случае применения метода внешнего стандарта со значением коэффициента R не менее 0,995 не соблюдены, однако ввиду отсутствия выборки по точкам анализа и оценочной роли проведенного этапа расчета его статистическая интерпретация не представляется возможной. [5]

В результате проведения оценочного исследования пригодности медно-гистидиновой буферной системы для анализа ароматических аминокислот методом лигандообменного капиллярного электрофореза обнаружена её высокая се-

лективность к энантиомерам ароматических аминокислот при низких концентрациях анализируемых рацематов, выражаемая в высоком разрешении между пиками и приемлемой эффективности. Для проверки соблюдения требований к линейности лигандообменной системы необходимо провести дополнительные исследования, увеличив выборку для контрольных точек калибровочной зависимости до 5.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.19.29 Анализ органических соединений

62.13.37 Биотехнологическое получение аминокислот

ЛИТЕРАТУРА

1. Combined Use of Cu(II)-L-Histidine Complex and β-Cyclodextrin for the Enantioseparation of Three Amino Acids by CE and a Study of the Synergistic Effect / Z. Xu [et al.] // Journal of Chromatographic Science. 2020. Vol. 58(10). P. 969–975. doi:10.1093/chromsci/bmaa058

2. Даванков В.А., Навратил Дж., Уолтон Х. Лигандообменная хроматография. М.: Мир, 1990. 294 с.

3. ОФС.1.2.1.0022.15 «Капиллярный электрофорез» // Государственная фармакопея РФ. XIV изд. Т. 1. [Электронное ресурс]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/

4. Применение капиллярного электрофореза в анализе лекарственных средств: монография / Г.М. Алексеева [и др.]. М. : КНОРУС, 2019. 176 с.

5. ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» // Государственная фармакопея РФ. XIV изд. Т. 1. [Электронное ресурс]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/

SUMMARY

ASSESSMENT OF THE EVALUATION OF THE ENANTIOSELECTIVE BUFFER SYSTEM Cu^{2+} – L-His FOR THE ANALYSIS OF AROMATIC AMINO ACIDS BY CAPILLARY ZONAL ELECTROPHORESIS

Zhilyakov M.M., 4th year student

Academic advice: **Nikitina T.G.**, Candidate of Chemical Sciences, senior lecturer

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation.

E-mail: mihail.zhilyakov@spcpu.ru

A study was carried out to assess the suitability of the analysis of optical D-/L- isomers of aromatic amino acids tryptophan, phenylalanine and tyrosine on an enantioselective ligand-exchange water buffer system Cu^{2+} – L-His using the method of capillary zonal electrophoresis. During the study, within certain basic parameters of the electrophoretic system at buffer pH=4.25, the separation of optical isomers for individual samples was found to be acceptable separation and efficiency characteristics for qualitative and quantitative determination in samples of simple composition.

Keywords: *ligand-exchange capillary electrophoresis, aromatic amino acids, copper-L-histidine complex, enantiomers, chirality.*

REFERENCES

1. Combined Use of Cu(II)-L-Histidine Complex and β-Cyclodextrin for the Enantioseparation of Three Amino Acids by CE and a Study of the Synergistic Effect / Z. Xu [et al.] // Journal of Chromatographic Science. 2020. Vol. 58(10). P. 969–975. doi:10.1093/chromsci/bmaa058

2. Davankov V.A., Navratil J. Walton H. Ligand exchange chromatography. M.: Mir, 1990. 294 p. (in Russian)

3. GPM.1.2.1.0022.15 «Capillary electrophoresis» // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. Vol. 1. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/ (in Russian)

4. Application of capillary electrophoresis in drug analysis: monograph / G.M. Alekseeva [et al.]. M.: KNORUS, 2019. 176 p. (in Russian)

5. GPM.1.1.0012.15 «Validation of method responses» // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. Vol. 1. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/ (in Russian)

УДК 615.099.07

ТРУДНОСТИ ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И ПУТИ ИХ РЕШЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ ФЕНИЛЭФРИНА

Журавлева А.С., студ. 5 курса
Руководитель: **Стрелова О.Ю.**, к.х.н., доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: zhuravleva.anastasiya@pharminnotech.com

На сегодняшний день количество ложноположительных результатов, возникающих при проведении иммунохроматографического анализа, продолжает расти. С целью поиска путей предотвращения получения недостоверных результатов при проведении предварительного исследования на наличие психоактивных веществ в биологических жидкостях были рассмотрены варианты проведения анализа с использованием других биологических материалов. Для дальнейшего их изучения разработана методика хроматографического анализа раствора фенилэфрина гидрохлорида методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Ключевые слова: *иммунохроматографический анализ, ложноположительные результаты, кросс-реакции, тест-полоски, фенилэфрин, амфетамин.*

В Российской Федерации проведение диагностика употребления наркотических средств (НС) и психоактивных веществ (ПВ) является обязательной для ряда специалистов. С этой целью проводят анализ биологического материала (мочи). Согласно Приказу Минздрава России от 18.12.2015 №933н исследование биологического объекта выполняется в две стадии: на первом этапе проводят исследования с использованием иммунохимических методов, а на втором – подтверждающие исследования методами газовой и (или) жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием [1].

Иммунохроматографический анализ (ИХА) часто используется в качестве предварительного метода анализа и для его проведения используют специальные тест-полоски. Считается, что эти полоски способны определить содержание в моче НС и ПВ с высокой точностью (до 99%) за короткое время (5-10 мин), они достаточно дешевы и просты в использовании, а также их можно применить в «полевых» условиях, т.е. не требуется дополнительное оборудование и специально обученный специалист. Несмотря на высокую чувствительность и селективность данного метода, существенным недостатком является возможность возникновения ложноположительных результатов (10-15%). Они могут быть вызваны в следствии использования некачественных тест-полосок, фальсификации материала исследования, неправильного применения тест-систем, однако, наиболее часто появление ложноположительных результатов исследования происходит из-за перекрестных реакций с лекарственными препаратами [2].

Список лекарственных препаратов, которые могут давать ложноположительный результат, достаточно большой – около 50 наименований, и с каждым годом это число увеличивается [1]. В этот список входят как рецептурные, так и безрецептурные препараты, следовательно, любой человек может столкнуться с проблемой получения ложноположительного результата совершенно случайно. По данным литературы, кросс-реакции могут происходить в следствии схожести структуры лекарственного вещества и психоактивного вещества или схожести в метаболитах[2]. Одним из таких лекарственных веществ, которое имеет схожее строение с амфетамином, является фенилэфрин. При рассмотрении структурных формул данных веществ можно отметить схожесть строения, что и обуславливает возникновение положительного результата при использовании тест-полосок для обнаружения в пробах мочи амфетамина (рис. 1) [4].

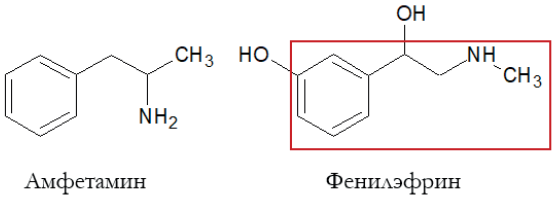


Рисунок 1. Сравнение формул амфетамина и фенилэфрина

Фенилэфрин входит в состав порошков, таблеток и сиропов, применяемых при простудных заболеваниях, а также назальных спреев и капель, ректальных свечей, глазных капель, и растворов для инъекций, что показывает его широкое использование людьми для разных целей. Большинство из этих лекарственных препаратов отпускается без рецепта, следовательно, человек приобретает лекарственный препарат, который в последующем может вызвать проблемы при проведении анализа на наркотическое опьянение. Также данные препараты могут использоваться с целью фальсификации данных. При предварительном ИХА методе на тест-полосках выявляют положительный результат на амфетамин, однако, при исследовании методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, данное вещество не будет найдено. Для предотвращения таких ситуаций требуется найти подход к выявлению случаев, при которых человек может попытаться скрыть факт употребления НС и ПВ.

В связи со всем вышесказанным была поставлена цель разработать подход получения достоверных результатов анализа на примере лекарственных средств с фенилэфрином.

Для реализации данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить различные биологические материалы в качестве объектов исследования;

2. Смоделировать накопление фенилэфрина в биологических материалах лабораторных животных для дальнейшего изучения с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ);

3. Разработать условия анализа методом ВЭЖХ фенилэфрина для дальнейших исследований биологических жидкостей (моча и кровь).

Для разработки методики анализа фенилэфрина в биологических объектах использовали субстанцию фенилэфрина гидрохлорида, соответствующей всем требованиям государственной фармакопеи, в концентрации 0,1 мг/мл. Субстанцию весом 10 мг растворяли с 100 мл смеси ацетонитрила (UV-IR-HPLC-gradient), для ВЭЖХ и 0,1% фосфорной кислоты в соотношении 85:15. 0,1% раствор фосфорной кислоты готовили путем разведения концентрированной фосфорной кислоты Fisher Scientific, для ВЭЖХ в воде для ВЭЖХ. Данный раствор анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на микроколоночном жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence (Япония) с диодноматричным детектором SPD-M20A. Также проводили анализ растворов с концентрациями 0,05 мг/мл, 0,25 мг/мл, 0,5 мг/мл, приготовленные с использованием того же растворителя. Для этого каждую навеску субстанции фенилэфрина, массой 5 мг, 25 мг, 50 мг растворяли в 100 мл смеси ацетонитрила для ВЭЖХ и 0,1% фосфорной кислоты для ВЭЖХ в соотношении 85:15. Далее проводили анализ с помощью ВЭЖХ.

Кроме того, был приготовлен водный раствор фенилэфрина в концентрации 0,5 мг/мл, который вводили лабораторным животным (крысам) в течение 30 дней для моделирования хронического употребления человеком данного лекарственного вещества. В последующем, собирали биологический материал (кровь, мочу, волосы) для дальнейшего исследования.

В качестве объекта исследования при методе ИХА берут мочу пациента, однако наличие или отсутствие психоактивного вещества достоверно можно подтвердить лишь в течение 24 часов с момента последнего приема препарата. Также образцы с мочой требуют особых условий хранений, такие как хранение в холоде, специальная тара, герметичность, соблюдение сроков годности. Поскольку на втором этапе биологический материал исследуют методами газовой и (или) жидкостной хроматографии, есть риск того, что при исследовании того же материала может не обнаружится искомое вещество, что затрудняет работу по выявлению факта употребления психоактивных веществ. По данным литературы, в качестве других объектов исследования можно взять смыв с кожи, с поверхности, а также волосы. В представленных объектах возможно обнаружение НС и ПВ в течении более продолжительного периода. Среди данных объектов волосы обладают наилучшими качествами для использования их как объекта анализа. Они не требуют специальных условий для хранения, в них длительное время сохраняется вещество, они не требует специальных условий для отбора, а также можно найти вещество даже в следовых количествах. [5]

Для того, чтобы в дальнейшем провести сравнительную оценку различных биологических материалов, было смоделировано употребление человеком фенилэфрина на лабораторных животных. В течение месяца крысам вводили водный раствор, содержащий данное лекарственное вещество, и в последующем в течение трех дней собирали мочу и кровь, а также получили образцы волос двух цветов: белых и коричневых. Поскольку для определения содержания фенилэфрина в биологическом материале требуется разработать методику анализа, с помощью которой можно будет обнаружить искомое вещество, предварительно были подобраны условия хроматографирования на примере раствора фенилэфрина гидрохлорида. Так как известно, что на втором этапе изучения биологического материала при проведении освидетельствования на наркотическое опьянение проводят подтверждающие исследования методами газовой и (или) жидкостной хроматографии, для подбора условий хроматографирования фенилэфрина использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В качестве подвижной фазы использовалась смесь ацетонитрила и 0,1% фосфорной кислоты в соотношении 85:15. Температура термостата колонки 40 °С. Объем пробы 20 мкл. Скорость потока подвижной фазы – 1,0 мл/мин. Длина волны детектирования – 273 нм. При проведении анализа в данных условиях была получена хроматограмма, на которой отображается пик фенилэфрина с характерным для него спектром (рис. 2). Время удерживания составило 3,7 минуты.

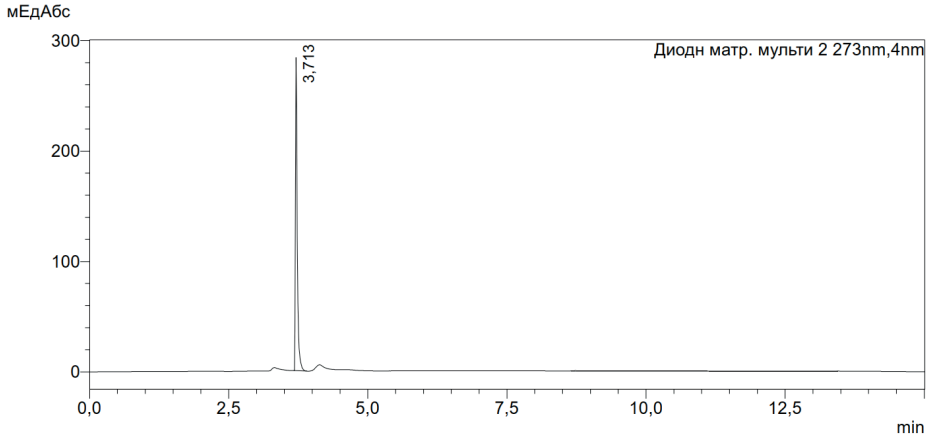


Рисунок 2. Хроматограмма фенилэфрина

Для оценки пригодности подобранной методик был изучен раствор фенилэфрина с концентрацией 0,1 мг/мл.

Таблица 1 – Результаты оценки пригодности хроматографического метода анализа

№ опыта	Время удерживания пика фенилэфрина (RT), мин	Площадь пика фенилэфрина (A)	Эффективность (N)	Фактор асимметрии (T)
1	3,713	650838	3264	1,36
2	3,718	651005		
3	3,705	649798		
Среднее значение	3,712	650547		
Относительное стандартное отклонение (Sr), %	0,18	0,10		

Эта же методика применялась для анализа субстанции в других концентрациях. По результатам хроматографирования время удерживания вещества фенилэфрина при разных концентрациях оставалось прежним (рисунки 3- 5).

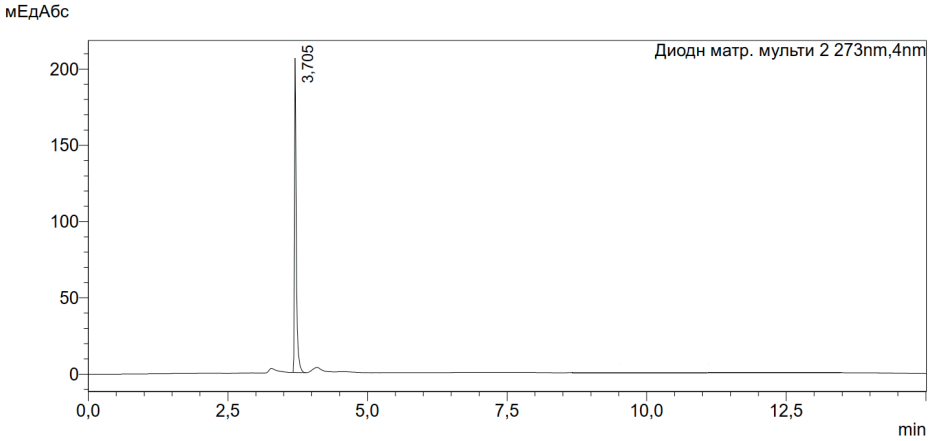


Рисунок 3. Хроматограмма фенилэфрина с концентрацией 0,05 мг/мл

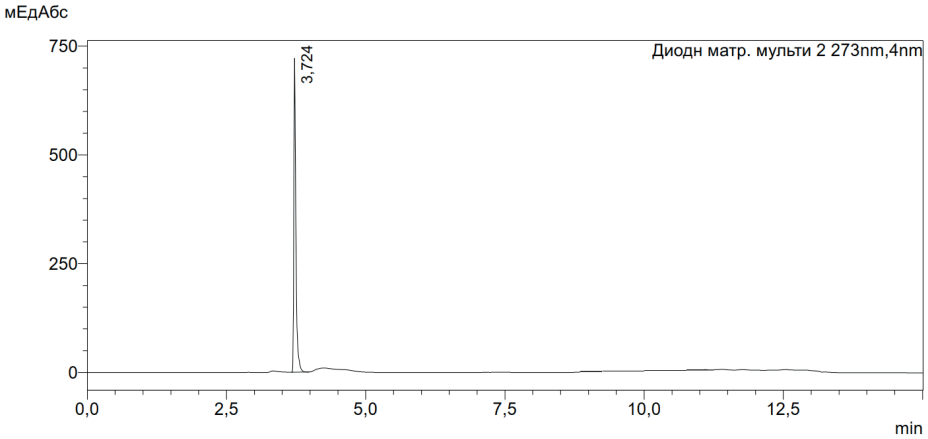


Рисунок 4. Хроматограмма фенилэфрина с концентрацией 0,25 мг/мл

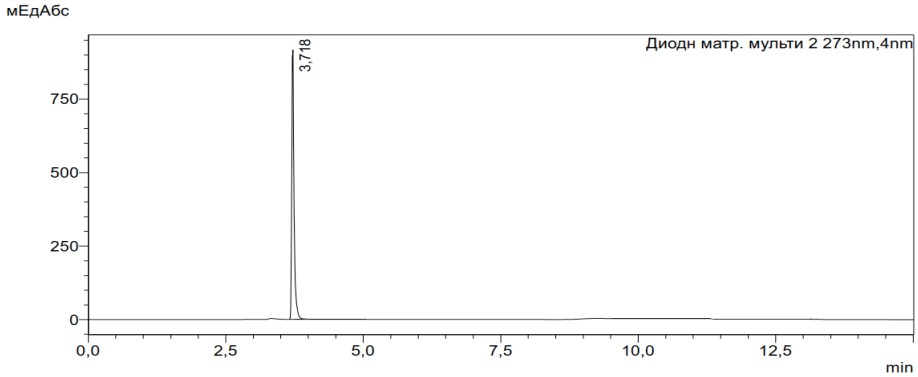


Рисунок 5. Хроматограмма фенилэфрина с концентрацией 0,5 мг/мл

Исходя из результатов, приведенных в таблице, видно, что подобранная методика может быть использована для изучения биологического материала, содержащего фенилэфрин, поскольку показатели при оценке пригодности входят в требуемый диапазон: относительное стандартное отклонение времени удерживания и площади пика фенилэфрина составило не больше 5,0% (n≥3); фактор асимметрии в пределах от 0,8 до 1,5; эффективность хроматографической колонки составила не менее 1000 теоретических тарелок. В дальнейшем планируется провести валидацию подобранной методики для получения достоверных результатов.

Согласно данным литературы, моча обладает рядом недостатков, из-за которых могут возникнуть трудности при анализе факта употребления человеком НС и ПВ, в качестве одного из пути предотвращения получения недостоверных результатов анализа в виду перекрестных реакций с лекарственными веществами, является использование в качестве объекта исследования волос. Данный биологический материал обладает рядом преимуществ, одни из которых является длительное содержание веществ, употребленных человеком, в структуре волос. Предполагается, что использование данного биологического материала на втором подтверждающем этапе исследования сможет исключить получение недостоверных результатов анализа, а также исключит возможность фальсифицирования данных. Планируется провести исследование волос на возможность достоверного определения наличия или отсутствия НС и ПВ в организме человека с учетом возможных перекрестных реакций, вызванных лекарственными препаратами.

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. Теоретически изучены различные биологические материалы в качестве объектов исследования;
2. Смоделировано накопление фенилэфрина в биологических материалах лабораторных животных для дальнейшего изучения с помощью ВЭЖХ;
3. Разработаны условия анализа методом ВЭЖХ фенилэфрина для дальнейшего изучения биологических жидкостей (моча и кровь).

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.35.43 Судебная медицина

ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ Минздрава России от 18.12.2015 N 933н (ред. от 25.03.2019) «О порядке проведения медицинского освидетельствования на состояние опьянения (алкогольного, наркотического или иного токсического)» (Зарегистрировано в Минюсте России 11.03.2016 N 41390). [Электронный ресурс]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_195274 (Дата обращения 04.03.2022)
2. Влияние лекарственных средств на результаты лабораторных исследований на наркотические и психотропные вещества / Сорокина Ю. А. [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. 2019. N 12-2 (90).
3. Saitman A., Park H.-D., Fitzgerald R.L. False-Positive Interferences of Common Urine Drug Screen Immunoassays: A Review // Journal of Analytical Toxicology. 2014. Vol. 38(7). P. 387–396
4. Woelfel J.A. Drug abuse urine tests: false-positive results // Pharmacist's Letter & Prescriber's Letter. 2005. Vol. 21(3). P. 1.
5. Морозова В.С., Другова Е.Д., Мягкова М.А. Разработка иммунохроматографического анализа психоактивных веществ в биологических объектах // Open Scientific Bulletin. 2014. N 4. С. 4-4.

SUMMARY

DIFFICULTIES IN INTERPRETATION OF THE RESULTS OF IMMUNOCHROMATOGRAPHIC ANALYSIS AND THE WAYS TO SOLUTION THEM ON THE EXAMPLE OF PHENYLEPHRINE

Zhuravleva A.S., stud. 5 courses
Supervisor: **Strelova O.Yu**., Ph.D., docent
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: zhuravleva.anastasiya@pharminnotech.com

To date, the number of false positive results arising from immunochromatographic analysis continues to grow. In order to find ways to prevent obtaining unreliable results when conducting a preliminary study for the presence of psychoactive substances in biological fluids, options for conducting analysis using other biological materials were considered. For their further study, a technique was developed for the chromatographic analysis of a solution of phenylephrine hydrochloride by high-performance liquid chromatography.

Keywords: *immunochromatographic analysis, false positive results, cross-reactions, test strips, phenylephrine, amphetamine.*

REFERENCES

1. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 18.12.2015 N 933n (ed. dated 25.03.2019) «On the procedure for conducting a medical examination for intoxication (alcoholic, narcotic or other toxic)» (Registered with the Ministry of Justice of the Russian Federation on 11.03.2016 N 41390). [Internet]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_195274 (Accessed 04.03.2022). (In Russian).

2. Influence of drugs on the results of laboratory studies on narcotic and psychotropic substances / Yu.A. Sorokina [et al.] // International Scientific Research Journal. 2019. N. 12-2(90). (In Russian)

3.Saitman A., Park H.-D., Fitzgerald R.L. False-Positive Interferences of Common Urine Drug Screen Immunoassays: A Review // Journal of Analytical Toxicology. 2014. Vol. 38(7). P. 387–396

4.Woelfel J.A. Drug abuse urine tests: false-positive results // Pharmacist's Letter & Prescriber's Letter. 2005. Vol. 21(3). P. 1.

5. Morozova V.S., Drugova E.D., Myagkova M. . Development of immunochromatographic analysis of psychoactive substances in biological objects // Open Scientific Bulletin. 2014. N. 4. P. 4-4. (In Russian)

УДК 615.12

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ОБОСНОВАНИЮ УВЕЛИЧЕНИЯ СРОКОВ ГОДНОСТИ МИКСТУРЫ ОТХАРКИВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ ДЕТЕЙ

Жучек Ю.И., студ. 5 курса

Научные руководители: **Синева Т.Д.**, канд. фарм. наук, доцент каф.технологии лекарственных форм;

Жохова Е.В., канд. фарм. наук, доцент, и.о. заведующего каф. фармакогнозии (ORCID: 0000-0002-9763-096X);

Криштанова Н.А., канд. фарм. наук, доцент каф. фармацевтической химии,

(ORCID: 0000-0002-4761-2077)

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

197022, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.14, Российская Федерация

E-mail: zhuchek.yuliya@pharminnotech.com

С целью изучения возможности продления сроков годности микстуры экстемпорального изготовления отхаркивающего действия для детей проведено исследование методик контроля ее качества. Использованы, как классические аналитические подходы: титриметрический анализ солей (натрия гидрокарбоната и натрия бензоата), так и физико-химические методы (спектральное и хроматографическое определение компонентов растительного происхождения: алтея корней экстракта сухого, нашатырно-анисовых капель, грудного эликсира).

Ключевые слова: *микстура отхаркивающего действия для детей, алтея корней экстракт сухой, нашатырно-анисовые капли, грудной эликсир, натрия бензоат, натрия гидрокарбонат.*

Значительную часть ассортимента экстемпоральных лекарственных средств, изготовляемых в российских аптеках, составляют лекарственные препараты для детей. Лекарственные формы аптечного изготовления пользуются спросом у населения так как их цена значительно ниже, чем их промышленных аналогов. А также они не содержат вспомогательных веществ (консервантов, стабилизаторов, красителей) нежелательных для детского организма.

Микстура отхаркивающего действия, содержащая алтея корней экстракт сухой, нашатырно-анисовые капли, грудной эликсир и соли (натрия гидрокарбонат и натрия бензоат) широко применяется для детей младшего возраста при заболеваниях верхних дыхательных путей. Несмотря на то, что в ассортименте аптек имеется микстура от кашля для детей сухая (в виде дозированного порошка для приготовления раствора), производственные аптеки изготавливают микстуру аналогичного состава как внутриаптечную заготовку (ВАЗ). Микстура экстемпорального изготовления указанного состава пользуется спросом у населения. Однако, в соответствии с действующей нормативной документацией, микстуры имеют ограниченный срок годности (не более 10 суток), что влечёт за собой убыточность их изготовления в случае не реализации в установленное время [1,2].

Целью выполненного исследования является подбор методик контроля качества микстуры отхаркивающего действия для детей. По разработанным методикам анализа будет проведена оценка качества микстуры при хранении с целью обоснования увеличения срока ее годности.

Задачами данного исследования являлись:

1. Оптимизация технологии по изготовлению микстуры в виде ВАЗ, предназначенной для детей младшего возраста.

2. Обзор подходов к анализу солей (натрия гидрокарбонат и натрия бензоат) и растительных компонентов (алтея корней экстракт сухой, нашатырно-анисовые капли, грудной эликсир) в литературных источниках.

3. Разработка методик анализа для количественной оценки всех компонентов прописи.

Стандартная технология микстуры указанного состава в условиях рецептурно-производственных отделов производственных аптек состоит в растворении солей и алтея корней экстракта сухого в воде очищенной, очистке полученного раствора от механических включений и последовательном добавлении грудного эликсира и нашатырно-анисовых капель. Так как микстура предназначена для применения детям младшего возраста, с целью снижения микробной контаминации лекарственного препарата на определённых этапах изготовления предлагается использование термической стерилизации или бактериальной фильтрации, а также соблюдение асептических условий при вскрытии флаконов с полупродуктами.

Определение подлинности солей в лекарственной форме проводят по реакциям, описанным в ГФ РФ 14 издания ОФС.1.2.2.0001.15 «Общие реакции на подлинность», а именно на гидрокарбонаты – выделение пузырьков угольного ангидрида при подкислении хлористоводородной кислотой разведённой, на бензоаты – образование розовато-жёлтого осадка при добавлении раствора железа (III) хлорида. Для количественного анализа смеси неорганических солей в микстуре традиционно используется титриметрический метод анализа. Он может быть осуществлён двумя способами с применением органического растворителя для экстракции выделяющейся бензойной кислоты. Первый метод – метод ступенчатого титрования ацидиметрия – по первой ступени титруется натрия гидрокарбонат (индикатор метиловый красный), по второй ступени – натрия бензоат (индикатор метиловый оранжевый). Второй метод – метод, основанный на суммарном ацидиметрическом титровании солей (индикатор метиловый оранжевый), экстракции выделяющейся бензойной кислоты в органическую фазу с последующим её определением алкалиметрически (индикатор – фенолфталеин).

С целью стандартизации содержания растительных компонентов в лекарственном препарате были изучены физико-химические методы анализа (спектральные и хроматографические) сначала на отдельных компонентах, а затем подобраны условия для микстуры указанного состава.

Для алтея корней экстракта сухого, основной группой действующих веществ которого являются полисахариды, проводят определение содержания суммы восстанавливающих моносахаридов в пересчёте на глюкозу после кислотного гидролиза. Образовавшиеся моносахариды дают с пикриновой кислотой окрашенные продукты при нагревании. В ходе реакции пикриновая кислота восстанавливается до пикраминовой, имеющей оранжевое окрашивание. После чего измеряют оптическую плотность исследуемого образца относительно раствора сравнения (воды), а также оптическую плотность раствора стандартного образца (РСО) глюкозы, с которыми проводят те же операции, что и с исследуемым образцом [3].

Основным биологически активным компонентом грудного эликсира является глицирризиновая кислота. По химическому строению она относится к группе тритерпеновых сапонинов и является гликозидом, имеющим два остатка глюкуроной кислоты. Для определения её в грудном эликсире и в микстуре осуществляют гидролиз с применением ацетонового раствора трихлоруксусной кислоты. В результате гидролиза происходит отщепление двух остатков глюкуроной кислоты от гликозида и образование осадка сопутствующих веществ. После гидролизат фильтруют и подщелачивают фильтрат раствором аммиака концентрированным, в результате чего образуется глицирризинат аммония, не растворимый в ацетоне. Его количественно собирают на фильтровальной бумаге «белая лента». Фильтр с осадком помещают в воронку, обрабатывают водой, добиваясь растворения осадка, и количественно переносят в мерную колбу. После чего измеряют оптическую плотность исследуемого образца относительно раствора сравнения (воды) [4]. Снятие спектров и измерение оптической плотности проводили с использованием спектрофотометра СФ-2000.

Нашатырно-анисовые капли (НАК) оказывают своё фармакологическое действие за счёт эфирного масла аниса. Основным компонентом анисового масла является анетол. С целью определения его содержания в микстуре был выбран метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ). Эффективность разделения компонентов сложной смеси в данном методе увеличивается за счет уменьшения диаметра частиц сорбента, а также благодаря большей однородности размеров этих частиц. ВЭТСХ анализ выполнялся на приборе CAMAG (Швейцария), с использованием пластин MERCK HPTLC silicagel 60 F_{254}, 20x10 см.

При анализе солей – натрия бензоата и натрия гидрокарбоната – в микстуре с использованием разных методов было установлено, что первый метод – ступенчатая ацидиметрия – является более точным, т.к. не требует разделения двух взаимно не смешивающихся фаз в процессе титрования, что необходимо при выполнении анализа вторым методом. Поэтому метод ступенчатого титрования был выбран в качестве основного для дальнейшего применения.

При анализе сухого экстракта алтея фотоколориметрическим методом максимум светопоглощения был установлен при длине волны равной 465 нм, при которой и измерялась оптическая плотность. Методика была адаптирована под лекарственную форму.

При анализе грудного эликсира спектрофотометрическим методом максимум светопоглощения был установлен при длине волны равной 258 нм, при которой и измерялась оптическая плотность. Методика также была адаптирована под лекарственную форму.

При анализе нашатырно-анисовых капель (НАК) методом ВЭТСХ подобраны условия для микстуры на основе методики для анисового масла, предложенной HPTLC Association. В качестве подвижной фазы использовали смесь толуол:этилацетат (93:7). В качестве веществ-свидетелей использовали анетол. Проводили УФ-детектирование при 254 нм. Rf анетола составило 0,71. Положение пятна анетола в стандартном образце, нашатырно-анисовых каплях и микстуре совпало. Дальнейшее определение количественного содержания анетола осуществляется с помощью сканирующей хроматоденситометрии.

Таким образом, в ходе выполненного исследования с использованием химических (титриметрия) и физико-химических (спектрофотометрия и хроматография) методов анализа микстуры отхаркивающего действия для детей младшего возраста, были подобраны методики контроля качества компонентов, которые будут использованы для экспериментального обоснования увеличения сроков ее годности.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. Современные проблемы экстемпоральной рецептуры / Д.В. Евсикова [и др.] // Инновации в здоровье нации: Сборник материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 08–09 ноября 2017 года. СПб.: СПХФУ, 2017. С. 152-154.
2. Контроль качества лекарственных средств аптечного изготовления – современное состояние и перспективы развития / М.П. Блинова [и др.] // Инновации в здоровье нации : сборник материалов III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 10–11 ноября 2015 года. СПб.: СПХФУ, 2015. С. 12-15.
3. Полисахариды в листьях и настое крапивы двудомной / Т.А. Скалозубова [и др.] // Фармация. 2012. № 2. С. 5-7.
4. Зилфикаров И.Н. Природные лекарственные препараты: химический анализ и стандартизация // Справочное и научно-практическое издание. М.: Издательство «СЛОН ПО». 2021. 712 с.

SUMMARY

ANALYTICAL APPROACHES TO THE EXPERIMENTAL JUSTIFICATION FOR INCREASING THE SHELF LIFE OF AN EXPECTORANT MEDICINE FOR CHILDREN

Zhuchek Yu.I.,5th year student
Academic advisers: **Sineva T.D**., Candidate of Pharmaceutical Sciences,
docent of the Department of Technology of Dosage Forms;
Zhokhova E.V., Candidate of Pharmaceutical Sciences, docent, Acting Head of the Department of Pharmacognosy,
(ORCID: 0000-0002-9763-096X);
Krishtanova N.A., Candidate of Pharmaceutical Sciences, docent of the Department of Pharmaceutical Chemistry,
(ORCID: 0000-0002-4761-2077)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197022, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail*:* zhuchek.yuliya@pharminnotech.com

In order to study the possibility of extending the shelf life of an extemporaneous expectorant medicine for children, a study was made of methods for controlling its quality. Both classical analytical approaches were used: titrimetric analysis of salts (sodium bicarbonate and sodium benzoate), as well as physic-chemical methods (spectral and chromatographic determination of components of plant origin: marshmallow roots, dry extract, ammonia-anise drops, breast elixir).

Keywords: *expectorant medicine for children, dry marshmallow root extract, ammonia-anise drops, breast elixir, sodium benzoate, sodium bicarbonate.*

REFERENCES

1. Smekhova Sovremennye problemy ekstemporal'noi retseptury / D.V. Evsikova [et al.] // Innovatsii v zdorov'e natsii: Sbornik materialov V Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, Sankt-Peterburg, 08–09 noyabrya 2017 goda. Sankt-Peterburg: SPCPU, 2017. P. 152-154. (In Russian).
2. Kontrol' kachestva lekarstvennykh sredstv aptechnogo izgotovleniya – sovremennoe sostoyanie i perspektivy razvitiya / M.P. Blinova [et al.] // Innovatsii v zdorov'e natsii : sbornik materialov III Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, Sankt-Peterburg, 10–11 noyabrya 2015 goda. Sankt-Peterburg: SPCPU, 2015. P. 12-15. (In Russian).
3. Polisakharidy v list'yakh i nastoe krapivy dvudomnoi / T.A. Skalozubova [et al.] // Farmatsiya. 2012. N 2. P. 5-7. (In Russian).
4. Zilfikarov I.N. Prirodnye lekarstvennye preparaty: khimicheskii analiz i standartizatsiya // Spravochnoe i nauchno-prakticheskoe izdanie. Moskva: Izdatel'stvo «SLON PO». 2021. 712 p. [In Russian].

УДК 544.165

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ В ПРОГНОЗЕ ПРОФИЛЕЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ГОССИПОЛА

Заборкина П.А., магистр 2 года обучения
Научный руководитель: **Успенская Е.В.**, профессор, доктор фарм. наук, доцент
Российский университет дружбы народов,
117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6, Россия
E-mail: ipilya95@gmail.com

В данной работе приведены результаты *in silico* оценки специфической «рецепторной» биологической активности фармацевтической субстанции госсипол-уксусной кислоты и ее виртуальных производных родственной химической структуры. Методами математического моделирования структура-свойство/активность (QSPR/QSAR) продемонстриро-

вана взаимосвязь между локальными молекулярными характеристиками структуры производных госсипола с противовирусной, противоопухолевой активностью и способностью ингибировать тестостерон. Применение дескрипторов одновременно с анализом физико-химических параметров молекулярных структур позволило оценить характер лиганд-рецепторного взаимодействия [1]. Данный подход обеспечиваете высокую прогнозирующую способность предложенных моделей [2].

Ключевые слова: *госсипол, профили биологической активности, корреляция «структура-активность», in silico методы, PASS, ChemDescript.*

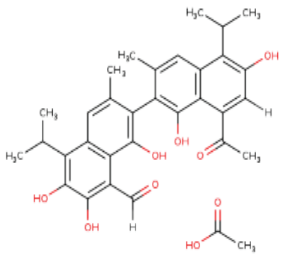
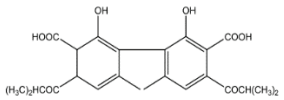
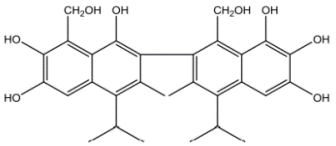
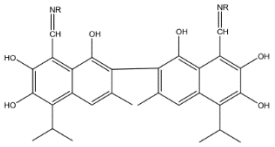
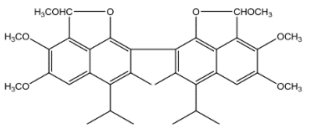
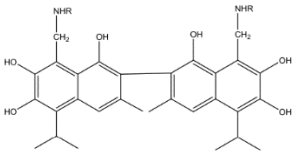
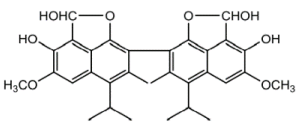
Госсипол – желтый растительный пигмент полифенольной структуры, впервые выделенный Лонгмором в 1889 году из семян, корней и стеблей хлопчатника рода *Gossypium* (сем. *Malvaceae*). Госсипол является природным токсином хлопчатника, который защищает его от повреждений насекомыми. Медицинский интерес к госсиполу был вызван его недавним применением в качестве средства контроля фертильности, а также в качестве индуктора интерферона (в виде сополимера госсипола с карбоксиметилцеллюлозой) [3]. В связи с новыми производственными возможностями применения госсипола в фармации актуален метод математического моделирования в области контроля качества фармацевтической субстанции госсипол и его виртуальных родственных структур [4].

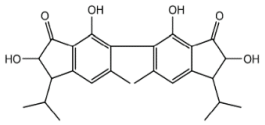
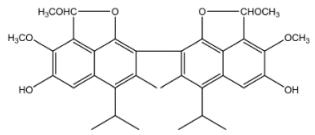
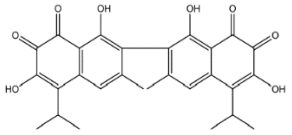
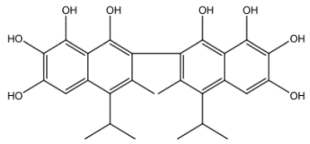
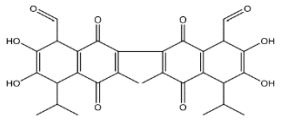
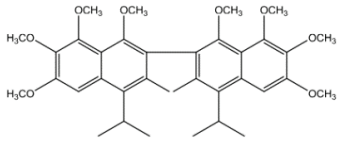
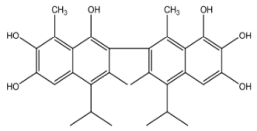
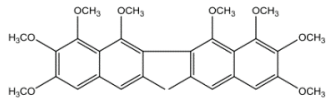
Цель исследования заключается в оценке профилей биологической активности реальных и виртуальных молекулярных структур госсипола *in silico* методами математического моделирования структура-свойство/активность (QSPR/QSAR).

Материалы и методы. В качестве *in silico* методов предсказания спектров активности исследуемых структур использовали программные продукты PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) Online, критерии Pa (probability «to be active») и Pi (probability «to be inactive») и ChemDescript. Программа «ChemDescript» позволяет проводить отбор кандидатов с потенциально возможной активностью по результатам расчета пяти топологических индексов: Винера (W), Руврэ (R), Балабана (J), обхода (Ip) и электропии (Ie). С целью успешного поиска корреляционных зависимостей между прогнозируемыми биологическими свойствами и структурой исследуемых соединений нами был отобран индекс Балабана (J).

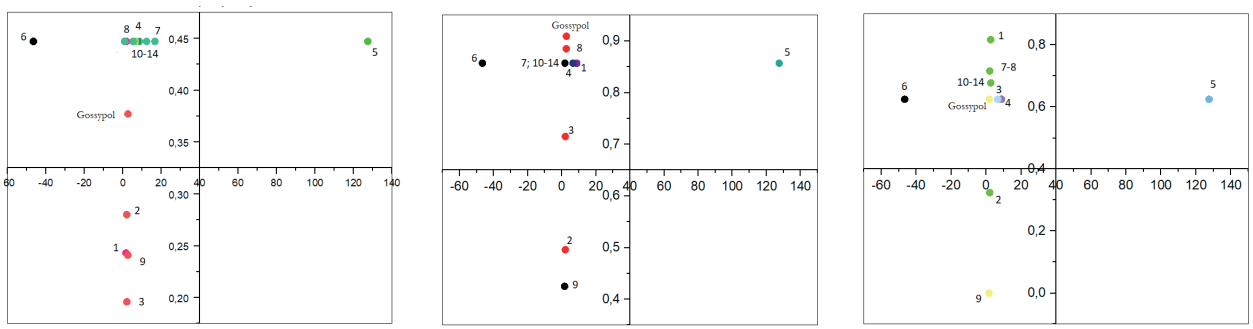
Объектами исследования выступили структуры фармацевтической субстанции госсипол-уксусной кислоты и 14 виртуальных родственных производных, построенных и отобранных в ChemDescript (таблица) [5, 6].

Таблица– Производные госсипола – реальная и виртуальные родственные химические структуры

Реальная химическая структура					
 Госсипол-уксусная кислота					
Виртуальные химические структуры (ChemDescript)					
№	**Молекулярные структуры**		**№**	**Молекулярные структуры**	
	Название	**Строение**		**Название**	**Строение**
1	Госсиполовая кислота		8	Метанольное производное	
2	Имин – основание Шиффа		9	Гексаметиловый эфир	
3	Вторичный амин госсипола		10	Диметиловый эфир	

№	Молекулярные структуры		№	Молекулярные структуры	
	Название	Строение		Название	Строение
4	Госсиден		11	Тетраметиловый эфир	
5	Госсипол-*о*-бинафтокетон		12	Апогоссипол	
6	Госсиполон		13	Гексаметиловый эфир апогоссипола	
7	Метильное производное		14	Гексаметиловый эфир диизопопилового апогоссипола	

QSAR-скриниг виртуальных структур, представленных в таблице, позволил выбрать дескриптор, отражающий наиболее существенный параметр для данного типа соединений определенной активности, топологии, геометрии и др. С помощью продукта PASS Online проанализированы количественные значения активности Pa/Pi. На рисунке представлены двумерные диаграммы корреляционных зависимостей «структура-свойство» по наиболее значимо проявленным показателям биологической активности: противоопухолевой (антагонизм регулятора апоптоза Bcl2), противовирусной и антиандрогенной (вызывающей азооспермию).



а б в

Рисунок. Двумерные диаграммы-области соотношения «структура-активность» индексов Балабана J и прогностических свойств – противоопухолевой (а); антиандрогенной (б); противовирусной (в) виртуальных родственных структур госсипола (цифры около точек на диаграммах соответствуют родственным структурам госсипола в таблице)

Диаграмма на рисунке (а) демонстрирует выраженную способность реальной и виртуальных структур госсипола к ускорению образования белков группы BCl2. У большинства структур на диаграмме (б) количественные значения противоопухолевой активности Pa/Pi максимально приближены к 1 (варьируются от 0,8 до 0,9), что может свидетельствовать о высокой вероятности позитивного действия фармацевтической субстанции госсипол в составе противоопухолевых препаратов.

Обзор научных публикаций [3] свидетельствует о способности средств, содержащих госсипол, подавлять сперматогенез, вызывая азооспермию. Проведенное нами QSAR исследование подтвердило научные факты – количественные показатели Pa/Pi у большинства (исключение – основание Шиффа) структур варьируются в области от 0,6 до 0,8 (рисунок (в)).

Согласно [3] госсипол обладает противовирусными свойствами в отношении ВИЧ-1, ВПГ-2, гриппа и др. Основной механизм биологической анти-ВИЧ активности – необратимое ингибирование обратной транскриптазы (НИОТ). Однако, данных о механизме подавления размножения вируса гриппа в литературе отсутствует. Результаты проведенных нами исследований демонстрируют взаимные соответствия индекса Балабана (J) и показателя Pa/Pi, (пртивовирусная активность) – ни у одного из 15-ти образцов данное свойство не может считаться активным, т.к. количественные значе-

ния варьируются от 0,2 до 0,5. Полученные нами результаты не согласуются с активным позиционированием известного противовирусного лекарственного препарата, содержащего госсипол, на фармацевтическом рынке РФ.

Следует отметить, что реальная фармацевтическая субстанция госсипола уксусной кислоты занимает отдельную область на всех представленных диаграммах «структура-активность».

Количественные корреляции структура-активность проводили *in silico* с помощью программ ChemDescript и PASS на основе расчета по структуре виртуальных родственных госсиполу молекул топологических индексов Винера, Руврэ, Балабана, обхода и электропии. Для дальнейшего QSAR анализа был выбран только индекс (J), сопоставляя полученные значения дескриптора Балабана с данными о влиянии на вирус гриппа, пролиферацию раковых клеток и способность подавлять сперматогенез. В итоге для каждой пары «топологический индекс значение биологической активности» определили коэффициент Pa/Pi, позволяющий прогнозировать профили биологической активности виртуальных молекул до их химического синтеза и биологических испытаний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gini G. In Silico Methods for Predicting Drug Toxicity // QSAR Methods. 2016. N 1425. P. 1-20. doi:10.1007/978-1-4939-3609-0_1

2. Comprehension of drug toxicity: software and databases / A.A. Toropov [et al.] // Comput Biol Med. 2014. N 45. P. 20-25. doi:10.1016/j.compbiomed.2013.11.013

3. Keshmiri-Neghab H., Goliaei B. Therapeutic potential of gossypol: an overview //Pharmaceutical Biology. 2014. Vol. 52(1). P.124-128. DOI: 10.3109/13880209.2013.832776.

4. Абдурахманова У.К., Аскарова М.Р. Аналитические свойства госсиполуксусной кислоты // Universum: химия и биология: электрон. научн. журн. 2020. N 12(78). [Электронный ресурс]. URL: https://7universum.com/ru/nature/archive/item/11005 (Дата обращения: 04.03.2022).

5. Selected approaches for rational drug design and high throughput screening to identify anti-cancer molecules / M. Hedvat [et al.] // Anticancer Agents Med Chem. 2012. Vol. 12(9). P. 1143-1155. doi:10.2174/187152012803529709

6. Prakash O., Khan F. Development of method for three-point data estimation and SVR-QSAR model to screen anti cancer leads// Comb Chem High Throughput Screen. 2013. Vol. 16(6). P. 425-434. doi:10.2174/1386207311316060002

SUMMARY

APPLICATION OF MATHEMATICAL MODELING TECHNIQUES IN THE PREDICTION OF BIOLOGICAL ACTIVITY PROFILES OF GOSSYPOL DERIVATIVES

Zaborkina P., 2nd year student
Academic advise**: Uspenskaya E. V.**, Dr. of Habilitus, full Professor
Peoples Friendship University of Russia (RUDN University)
6 Miklukho-Maklaya St, Moscow, 117198, Russian Federation
E-mail: ipilya95@gmail.com

This paper presents the results of in silico evaluation of the specific «receptor» biological activity of the pharmaceutical substance gossypol acetic acid and its virtual derivatives of a related chemical structure. The relationship between the local molecular characteristics of the structure of gossypol derivatives with antiviral, antitumor activity and the ability to inhibit testosterone has been demonstrated by mathematical modeling of structure-property/activity (QSPR/QSAR). The use of descriptors simultaneously with the analysis of physico-chemical parameters of molecular structures allowed us to assess the nature of ligand-receptor interaction [1]. This approach provides a high predictive ability of the proposed models.

Keywords: *gossypol, biological activity profiles, structure-activity correlation, in silico methods, PASS, ChemicDescript*

REFERENCES

1. Gini G. In Silico Methods for Predicting Drug Toxicity // QSAR Methods. 2016. N 1425. P. 1-20. doi:10.1007/978-1-4939-3609-0_1

2. Comprehension of drug toxicity: software and databases / A.A. Toropov [et al.] // Comput Biol Med. 2014. N 45. P. 20-25. doi:10.1016/j.compbiomed.2013.11.013

3. Keshmiri-Neghab H., Goliaei B. Therapeutic potential of gossypol: an overview //Pharmaceutical Biology. 2014. Vol. 52(1). P.124-128. DOI: 10.3109/13880209.2013.832776.

4. Abdurajhmanova U.K., Askarova M.R. Analiticheskie svoystva gossypoluksusnoy kisloti // Universum: chimiya i biologiya: electronny nauchny zhurnal. 2020. Vol. 12(78). URL: https://7universum.com/ru/nature/archive/item/11005 (Accessed 04.03.2022).(in Russian)

5. Selected approaches for rational drug design and high throughput screening to identify anti-cancer molecules / M. Hedvat [et al.] // Anticancer Agents Med Chem. 2012. Vol. 12(9). P. 1143-1155. doi:10.2174/187152012803529709

6. Prakash O., Khan F. Development of method for three-point data estimation and SVR-QSAR model to screen anti cancer leads// Comb Chem High Throughput Screen. 2013. Vol. 16(6). P. 425-434. doi:10.2174/1386207311316060002

УДК 504.064.2

ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ТЕТРАЦИКЛИНА НА ОТДЕЛЬНЫЕ ОБЪЕКТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Зеликова Д.Д., студ. 3 курса
Руководитель: **Парамонов С.Г.**, к.б.н. доцент кафедры промышленной экологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: darya.zelikova@spcpu.ru

В работе рассмотрена проблема применения антибиотиков группы тетрациклина поступающих в окружающую среду при их использовании в животноводстве. Данный антибиотик, попадая в почву воздействует на сообщества почвенных микроорганизмов, сокращая отдельные виды, в первую очередь влияющие на процессы денитрификации и увеличивая количество резистентных к тетрациклину генов. Влияет на ряд водных и почвенных беспозвоночных. Воздействует на корневое питание и физиологию растений. Ряд объектов инфраструктуры, такие как очистные сооружения, и объекты применяющие компостирование, применяющие разложение вредных веществ с помощью бактерий, при попадании содержащих тетрациклин стоков, снижают свою эффективность.

Ключевые слова: *антибиотики, окружающая среда, продукты животноводства, микрополлютанты, тетрациклин.*

Антибиотики – вещества различного происхождения (микробного/животного/ растительного), которые избирательно подавляют жизнедеятельность микроорганизмов. Рост производства и продаж антибиотиков по всему миру привел к повышению загрязнения окружающей среды и уменьшению продолжительности жизни людей вследствие широкого использования данных препаратов в медицине и плохо контролируемом подведомственными органами их применение в сельском хозяйстве и ветеринарии. Все это приводит к накоплению остаточного количества антибиотиков в организме животного, и, как следствие, к возникновению у потребителей нарушения здоровья – мутаций, аллергий, пищевых заболеваний [1].

В 2014 году в ходе доклада ВОЗ в Женеве была поднята проблема, касающаяся глобальной угрозы общественному здравоохранению в виде устойчивости микроорганизмов к антибиотикам [2]. У пациентов в Европе было отмечено снижение эффективности лечения стандартными антибиотиками. В результате было принято решение о создании сети эпидемиологического надзора, которая будет исследовать возникновение устойчивости к антимикробным препаратам для общего сбора данных, позволяющего отслеживать развитие данной проблемы. По статистическим данным, 70% всех потребляемых антибиотиков приходится на животноводство, что приводит к развитию устойчивости микроорганизмов. Согласно прогнозам, что к 2050 году смертность от резистентности к антибиотикам будет выше, чем смертность от рака.

Тетрациклины относятся к антибиотикам, нарушающим синтез белков микроорганизмов. Благодаря своему фармакологическому действию, тетрациклин может эффективно проникать в ткани организма, что приводит к его обнаружению в плевральных и асцитических жидкостях. По этой причине прием тетрациклинов противопоказан беременным женщинам и лицам младше 8 лет [3].

Тетрациклины являются одними из наиболее действенных антибиотиков, использующихся как пищевые добавки, улучшающие скорость роста и эффективность усваивания корма у сельскохозяйственных видов животных. Их применение приводит к уменьшению корма, требующегося животным для достижения товарного веса, что активно используется производителями [4]. Однако, нарушение режимов дозирования тетрациклинов приводит к попаданию микродоз данных препаратов в продукты животного происхождения, применяющиеся в пище у человека, а также к попаданию в окружающую среду с отходами жизнедеятельности животных.

В 2020 году Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека был опубликован доклад, содержащий данные по исследованию количества устойчивых к противомикробным препаратам изолятов, выделенных из пищевых продуктов [5]. Выявлено, что их наибольшее количество содержится в мясе птицы и составляет 50%.

Согласно нормативным актам, принятым в Евросоюзе установлены максимальные пределы содержания производных тетрациклина в наиболее распространенных продуктах питания. Предельно допустимые концентрации в таких продуктах ограничены ЕС [6] и России [7]. в диапазоне от 0,1 до 0,6 мг/кг.

По данным издательства «ВетАналитик» за период 2017-2019 год потребление противобактериальных веществ в ветеринарии (в пересчете на МНН) с продукцией российского и зарубежного производства достигло уровня свыше 530 тонн на 2019 год. Был отмечен рост потребления Тетрациклина гидрохлорида на 70% (с 13579 тонн в 2017 году до 31706 тонн в 2019 году), что говорит о неконтролируемом приеме антибиотиков в области животноводства и пищевой промышленности.

Целью исследования является определение аспектов воздействия остаточных доз антибиотиков на окружающую среду и выявление возможных последствий попадания малых доз тетрациклина в различные объекты окружающей среды.

В ходе исследования был сделан обзор работ российских и зарубежных исследователей в области влияния тетрациклина на объекты окружающей среды. Выявлены последствия воздействия антибиотика на экосистемы и организмы, при поступлении с животноводческими стоками.

Информационную базу исследования для анализа составили нормативные правовые акты и научные публикации.

Загрязнение антибиотиками окружающей среды происходит через стоки с сельскохозяйственных полей, сточные канавы, очистные сооружения, животноводческие помещения и стоки со свалок.

Исследования [8] показали, что даже при незначительной концентрации тетрациклина (ниже МПК) в сточных водах повышается антибиотикорезистентность ряда анаэробных бактерий. Новой проблемой стало влияние тетрациклина на удаление азота на очистных сооружениях [9]. Численность денитрифицирующих бактерий, таких как бактерии рода Thauera, уменьшилась, эффективность денитрификации снижалась до 58%. Другое исследование [10] также показывает, что присутствие незначительных доз тетрациклина влияет на скорость компостирования ингибируя рост грибов влияющих на нитрификацию.

В природных экосистемах также наблюдается ингибирование бактерий, влияющих на процессы денитрификации. Данные исследований [11] показывают, что планктонные бактерии могут быть очень чувствительными к тетрациклину в чрезвычайно низких концентрациях и что это серьезно влияет на продукцию микробов.

В растительных сообществах тетрациклин влияет на слой корневой слизи, даже в минимальной концентрации ингибирует почвенные бактерии влияющие на процессы нитрификации и взаимодействует с микробным сообществом почвы [12]. Как показало исследование влияние тетрациклина на сельскохозяйственные растения [13] во время сбора урожая содержание растворимого сахара в листьях рапса после применения 0,30, 0,60 и 0,90 мг/кг (-1) тетрациклина резко снизилось на 91,99%, 87,92%, 90,12%, в то время как содержание растворимого белка увеличилось на 26,47%. 28,13% и 23,22% соответственно по сравнению с контролем.

При выращивании морепродуктов. В осадке морской аквакультуры тетрациклин был признан одним из основных источников генов устойчивости к антибиотикам. Гены устойчивости к тетрациклину были наиболее распространены при использовании рыбной муки, при этом также было обнаружено значительное увеличение содержания мобильных генетических элементов ($P < 0,05$) [14].

Влияние на беспозвоночных. Воздействие тетрациклина в нескольких поколениях дафний вызывало значительные изменения связанные с линькой, и влиянием на белок кутикулы. Исследования [15] свидетельствуют о законсервированном механизме токсичности тетрациклина независимо от концентрации воздействия или времени. Большинство из них были связаны с общими реакциями на стресс, включая трансляцию, белковый и углеводный обмен и окислительное фосфорилирование. Также показано, что тетрациклин ингибирует митохондриальную трансляцию, и мужские репродуктивные функции могут быть особенно чувствительны к этому антибиотику. В исследовании псевдоскорпиона Cordylochernes scorpioides у самцов, получавших тетрациклин, жизнеспособность сперматозоидов значительно снизилась по сравнению с контрольными самцами. и передали этот токсический эффект тетрациклина на сперму своим необработанным сыновьям, но не своим внукам (поколению F2) [16]. Особо чувствительным считают дождевого червя с его микрофлорой, исследователи Chao H, Sun M и др. предлагают использовать его в качестве биоиндикатора антибиотиков в почве [17].

Особое внимание уделяется почвенному микробоценозу ряд исследований показывают, что в почвах на которых производился выпас скота наблюдаются изменения в микробном сообществе в сторону устойчивости к тетрациклину. Так в исследовании Srinivasan V, Nam HM и др. [18] показано, что из 56 видов бактерий, выделенных из почв молочной фермы, 36 (64,3 %) были устойчивы к тетрациклину, а 17 (30,4 %) – к стрептомицину. При этом гены устойчивости наблюдаются не зависимо от частоты и регулярности применения тетрациклина [19] даже при редком применении гены устойчивости в бактериях наблюдались в течении всего вегетационного сезона. Как показали Nejidat A, Diaz-Reck D и др. [20] часть устойчивых к тетрациклину генов сохраняется и на заброшенных до 10 лет участках пастбищ, а также распространяются за их пределы.

Таким образом, в результате обзора мы выявили следующие экологические последствия при поступлении тетрациклина применяемого в ветеринарии в окружающую среду:

1. связанные с нарушением работы бактерий, входящих в бактериальный комплекс активного ила на очистных сооружениях, применяющих данную технологию и грибов при компостировании влияющих на процессы денитрификации;
2. воздействия на почвенный микробоценоз с одной стороны также на микроорганизмы участвующие в процессах почвенной нитрификации, а с другой – повышая процент генов устойчивых к тетрациклину в данных микробных сообществах;
3. показано, что наличие тетрациклина в почве влияет на физиологию растений и процессы корневого питания;
4. в ряде исследований показано токсическое влияние малых доз тетрациклина из почвы на беспозвоночных.

Из чего можно сделать заключение, что широкое применение тетрациклина в ветеринарии с последующим попаданием в экосистемы даже в незначительных концентрациях имеет ряд негативных последствий для окружающей среды и требует разработки мер по предотвращению поступления данного антибиотика в окружающую среду.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

34.00.00 Биология
34.35.00 Экология

ЛИТЕРАТУРА

1. Контаминация пищевых продуктов антибиотиками и способы их определения / Ю.А. Балджи [и др.] /// Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. 2018.

2. World Health Organization (WHO). Media center. WHO's the first global report on antibiotic resistance reveals serious, worldwide threat to public health Geneva: WHO. 2014. [Internet]. URL: https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/en/.

3. Минорные количества антибиотиков в пищевых продуктах: в чем риски для потребителей / С.А. Шевелева [и др.] // Вопросы питания. 2021. N 3. С. 50-57.

4. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance / I. Chopra [et al.] // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2001. N 2. P. 232-260.

5. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей. О Всемирной неделе правильного использования противомикробных препаратов 2020 г. Официальный сайт Роспотребнадзора. [Электронный ресурс]. URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=16020.

6. Barroso J.M. Commission regulation (EU) № 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin // Off. J. Eur. Union. 2010. V. 1(15). P. 1–72.

7. Коллегия ЕЭК. Решение коллегии ЕЭК от 13 февраля 2018 года № 28 «О максимально допустимых уровнях остатков ветеринарных лекарственных средств (фармакологически активных веществ), которые могут содержаться в непереработанной пищевой продукции животного происхождения, в том числе в сырье, и методиках их определения» 2018. 66 с

8. Changes of antibiotic resistance genes and bacterial communities in the advanced biological wastewater treatment system under low selective pressure of tetracycline / Y. Zhang [et al.] // Water Res. 2021. Vol. 207. P. 117834. doi: 10.1016/j.watres.2021.117834.

9. Shu Y., Liang D. Effect of tetracycline on nitrogen removal in Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR) System // PLoS One. 2022. Vol. 17(1). P. e0261306. doi: 10.1371/journal.pone.0261306.

10. Tetracycline hydrochloride-stressed succession in microbial communities during aerobic composting: Insights into bacterial and fungal structures / H. Cui [et al.] // Chemosphere. 2022. Vol. 289. P. 133159. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.133159.

11. Verma B., Robarts R.D., Headley J.V. Impacts of tetracycline on planktonic bacterial production in prairie aquatic systems // Microb Ecol. 2007. Vol. 54(1). P. 52-5. doi: 10.1007/s00248-006-9170-5.

12. Abiotic mechanism changing tetracycline resistance in root mucus layer of floating plant: The role of antibiotic-exudate complexation / M. Zhang [et al.] // J Hazard Mater. 2021. Vol. 416. P. 125728. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125728.

13. Liu J.Q., Zhuge Y.P., Cui L.N. [Effects of exogenous tetracycline on rape soil enzyme activity and rape quality] // Ying Yong Sheng Tai Xue Bao. 2009. Vol. 20(4):943-8.

14. Y. Han [et al.] Combined impact of fishmeal and tetracycline on resistomes in mariculture sediment. Environ Pollut. 2018. Vol. 242(Pt B). P. 1711-1719. doi: 10.1016/j.envpol.2018.07.101.

15. Multigenerational Effects of the Antibiotic Tetracycline on Transcriptional Responses of Daphnia magna and Its Relationship to Higher Levels of Biological Organizations / H.Y. Kim [et al.] // Environ Sci Technol. 2017. Vol. 51(21). P. 12898-12907. doi: 10.1021/acs.est.7b05050.

16. From father to son: transgenerational effect of tetracycline on sperm viability / J.A. Zeh [et al.] // Sci Rep. 2012;2:375. doi: 10.1038/srep00375.

17. World within world: Intestinal bacteria combining physiological parameters to investigate the response of Metaphire guillelmi to tetracycline stress / H. Chao [et al.] //Environ Pollut. 2020. Vol. 261. P. 114174. doi: 10.1016/j.envpol.2020.114174.

18. Distribution of tetracycline and streptomycin resistance genes and class 1 integrons in Enterobacteriaceae isolated from dairy and nondairy farm soils / V. Srinivasan [et al.] // Microb Ecol. 2008. Vol. 55(2). P. 184-93. doi: 10.1007/s00248-007-9266-6.

19. Tetracyclines and tetracycline resistance in agricultural soils: microcosm and field studies / H. Schmitt // Microb Ecol. 2006. Vol. 51(3). P. 267-76. doi: 10.1007/s00248-006-9035-y.

20. Persistence and spread of tetracycline resistance genes and microbial community variations in the soil of animal corrals in a semi-arid planted forest / A. Nejidat [et al.] // FEMS Microbiol Ecol. 2021. Vol. 97(8). P. fiab106. doi: 10.1093/femsec/fiab106.

SUMMARY

THE EFFECT OF LOW CONCENTRATIONS OF TETRACYCLINE ON INDIVIDUAL ENVIRONMENTAL OBJECTS

Zelikova D.D., 3rd year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197367, Russian Federation
E-mail: darya.zelikova@spcpu.ru

In this paper considers the problem of the use of tetracycline group antibiotics entering the environment when they are used in animal husbandry. This antibiotic, getting into the soil, affects communities of soil microorganisms, reducing individual species, primarily affecting the processes of denitrification and increasing the number of tetracycline-resistant genes. It affects a number of aquatic and soil invertebrates. It affects root nutrition and plant physiology. A number of infrastructure facilities, such as sewage treatment plants, and facilities using composting, using the decomposition of harmful substances with the help of bacteria, when ingested with tetracycline-containing effluents, reduce their effectiveness.

Keywords: *antibiotics, environment, animal products, micropollution, tetracycline.*

REFERENCES

1. Contamination of food products with antibiotics and methods of their determination / Yu.A. Baldzhi [et al.] // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman. 2018. (in Russian)

2. World Health Organization (WHO). Media center. WHO's the first global report on antibiotic resistance reveals serious, worldwide threat to public health Geneva: WHO. 2014. [Internet]. URL: https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/en/.

3. Minor amounts of antibiotics in food products: what are the risks for consumers / S.A. Sheveleva [et al.] // Nutrition issues. 2021. N 3. P. 50-57. (in Russian)

4. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance / I. Chopra [et al.] // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2001. N 2. P. 232-260.

5. Federal Service for Supervision of Consumer Protection. About the World Week of Proper Use of Antimicrobials 2020 The official website of Rospotrebnadzor. [Internet]. URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=16020 (in Russian)

6. Barroso J.M. Commission regulation (EU) № 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin // Off. J. Eur. Union. 2010. V. 1(15). P. 1–72.

7. The EEC Board. Decision of the EEC Board of February 13, 2018 No. 28 «On the maximum permissible levels of residues of veterinary medicines (pharmacologically active substances) that may be contained in unprocessed food products of animal origin, including raw materials, and methods for their determination» 2018. 66p. (in Russian)

8. Changes of antibiotic resistance genes and bacterial communities in the advanced biological wastewater treatment system under low selective pressure of tetracycline / Y. Zhang [et al.] // Water Res. 2021. Vol. 207. P. 117834. doi: 10.1016/j.watres.2021.117834.

9. Shu Y., Liang D. Effect of tetracycline on nitrogen removal in Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR) System // PLoS One. 2022. Vol. 17(1). P. e0261306. doi: 10.1371/journal.pone.0261306.

10. Tetracycline hydrochloride-stressed succession in microbial communities during aerobic composting: Insights into bacterial and fungal structures / H. Cui [et al.] // Chemosphere. 2022. Vol. 289. P. 133159. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.133159.

11. Verma B., Robarts R.D., Headley J.V. Impacts of tetracycline on planktonic bacterial production in prairie aquatic systems // Microb Ecol. 2007. Vol. 54(1). P. 52-5. doi: 10.1007/s00248-006-9170-5.

12. Abiotic mechanism changing tetracycline resistance in root mucus layer of floating plant: The role of antibiotic-exudate complexation / M. Zhang [et al.] // J Hazard Mater. 2021. Vol. 416. P. 125728. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125728.

13. Liu J.Q., Zhuge Y.P., Cui L.N. [Effects of exogenous tetracycline on rape soil enzyme activity and rape quality] // Ying Yong Sheng Tai Xue Bao. 2009. Vol. 20(4):943-8.

14. Y. Han [et al.] Combined impact of fishmeal and tetracycline on resistomes in mariculture sediment. Environ Pollut. 2018. Vol. 242(Pt B). P. 1711-1719. doi: 10.1016/j.envpol.2018.07.101.

15. Multigenerational Effects of the Antibiotic Tetracycline on Transcriptional Responses of Daphnia magna and Its Relationship to Higher Levels of Biological Organizations / H.Y. Kim [et al.] // Environ Sci Technol. 2017. Vol. 51(21). P. 12898-12907. doi: 10.1021/acs.est.7b05050.

16. From father to son: transgenerational effect of tetracycline on sperm viability / J.A. Zeh [et al.] // Sci Rep. 2012;2:375. doi: 10.1038/srep00375.

17. World within world: Intestinal bacteria combining physiological parameters to investigate the response of Metaphire guillelmi to tetracycline stress / H. Chao [et al.] //Environ Pollut. 2020. Vol. 261. P. 114174. doi: 10.1016/j.envpol.2020.114174.

18. Distribution of tetracycline and streptomycin resistance genes and class 1 integrons in Enterobacteriaceae isolated from dairy and nondairy farm soils / V. Srinivasan [et al.] // Microb Ecol. 2008. Vol. 55(2). P. 184-93. doi: 10.1007/s00248-007-9266-6.

19. Tetracyclines and tetracycline resistance in agricultural soils: microcosm and field studies / H. Schmitt // Microb Ecol. 2006. Vol. 51(3). P. 267-76. doi: 10.1007/s00248-006-9035-y.

20. Persistence and spread of tetracycline resistance genes and microbial community variations in the soil of animal corrals in a semi-arid planted forest / A. Nejidat [et al.] // FEMS Microbiol Ecol. 2021. Vol. 97(8). P. fiab106. doi: 10.1093/femsec/fiab106.

УДК 57:577.19

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФИТОГОРМОНОВ В ПОЛУЧЕНИИ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК

Зиновьева М.А., студ. 3 курса
Научный руководитель: **Нечаева Е.А.**, канд. биол. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: margarita.zinoveva@spcpu.ru

В результате проведённого исследования были проанализированы научные данные о процессе каллусогенеза, различных фитогормонах, используемых при выращивании каллусных культур, их влиянии на показатели роста и развитие растительных клеток. Также были рассмотрены питательные среды, применяемые для культивирования клеток растений, в состав которых входят фитогормоны, и их влияние на синтез вторичных метаболитов. Были сделаны выводы об оп-

тимальном использовании фитогормонов и особенностях их применения для получения каллусных культур различных клеток растений.

Ключевые слова: *фитогормоны, каллусогенез, морфогенез in vitro, меристемы, питательные среды, типы каллуса.*

Каллусные культуры растительных клеток играют важную роль в изучении морфогенеза растений – одного из самых сложных процессов в развитии растения, так как могут являться моделями для различных частей морфогенеза, например для изучения процесса дифференциации и роста клеток. Также каллусные культуры используют для исследования процессов метаболизма растительной клетки и его особенностей, для получения разнообразных биологически активных веществ, которые используются в различных сферах жизнедеятельности человека.

Особенности получения каллусных культур растительных клеток in vitro тесно связаны с необходимостью использования фитогормонов в определённом соотношении, что и определяет их рост и развитие. Целью нашего исследования является изучение и систематизация научных данных о роли фитогормонов в процессах каллусогенеза. Для достижения этой цели будут рассмотрены сведения о получении каллусных культур, особенностях развития каллуса и об используемых в культивировании растительных тканей in vitro фитогормонах.

Каллус – интегрированная система, образующаяся как экзогенно (в результате пролиферации поверхностных клеток различных тканей растительного организма), так и эндогенно (в глубине этих тканей); изначально состоит из однородных клеток, постепенно преобразующихся в систему групп гетерогенных клеток, имеющих видоспецифичные морфогенетические потенции, которые реализуются различными путями морфогенеза [1].

В результате процесса получения каллусных культур in vitro формируются два контрастных типа каллусов, которые классифицируют как морфогенные и неморфогенные, органогенные и неорганогенные, эмбриогенные и неэмбриогенные, регенерационные и нерегенерационные, по способности или неспособности каллусов к морфогенезу in vitro, по различным путям, приводящим или не приводящим к формированию регенерантов [2].

Образование каллусной ткани может происходить не только in vitro в контролируемых условиях, но и на целых растениях в результате повреждения, а также на эксплантах (фрагментах ткани или органа, используемых для получения первичного каллуса) в стерильной культуре, так как процесс образования каллуса происходит вследствие пролиферации дедифференцированных клеток. Дедифференцировка – возвращение клеток в меристематическое состояние после дифференцировки, при котором они сохраняют способность к делению [3]. Данный процесс и происходит в ходе получения каллусных культур на индукционной среде in vitro из специализированных клеток эксплантa.

Важно отметить, что рост растений осуществляется за счёт точек роста, представленных меристемами, обладающих особыми свойствами: часть клеток меристемы должна постоянно поддерживать недифференцированное состояние и способность к пролиферации, а с другой стороны, меристема должна продуцировать клетки, способные к дифференцировке и формированию новых органов [4].

В процессе каллусогенеза возможно выделение нескольких критических стадий развития: инициация клеток каллуса, возникновение из исходно однородных клеток каллуса морфогенетического очага, формирование в каллусе поверхностной меристематической зоны, образование морфогенного каллуса, способного к реализации различных путей морфогенеза in vitro (в ходе первых трех критических стадий возможно переключение развития каллусных клеток на альтернативные пути) [5].

Формирование каллуса на индукционной среде in vitro в основном условиями культивирования, а именно гормональным составом индукционной среды, генотипом донорной особи и физиологическим статусом эксплантa в момент инокуляции на среду [6]. Действие гормонов оказывает влияние и на образование различных типов каллуса: при индуцировании каллусогенеза в культивируемых in vitro зерновках Pogonatherum paniceum использование различных концентраций ауксина 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) приводило к формированию эмбриогенных, органогенных и нерегенерационных каллусов, а использование различных концентраций ауксина 1-нафталинуксусной кислоты (НУК) индуцировало формирование только органогенных каллусов [7]. Также установлено, что в индукции формирования каллуса играет оптимальный баланс эндогенных (в эксплантe в момент инокуляции) и экзогенных (в составе индукционной среды) гормонов [6], причём этот же баланс определяет индукцию и других путей морфогенеза [8].

Фитогормоны являются главными факторами регуляции и управления у растений, регулируют рост, развитие и онтогенез растений. [9]. Фитогормоны обладают специфической и весьма высокой биологической активностью, имеют небольшой размер молекулы, могут превращаться из физиологически неактивного состояния в активное и наоборот, секретируются в циркулирующие жидкости, обладают дистантностью действия. Известные в настоящее время фитогормоны – это производные аминокислот (индолил-3-уксусная, фенилуксусная кислоты – ауксины), нуклеотидов (цитокинины), полиизопренов (гиббереллины и абсцизовая кислота), непредельных углеводородов (этилен) и др. Каждый из фитогормонов является основой системы, состоящей из ферментов, кофакторов и ингибиторов его синтеза, ферменты связывания и освобождения неактивного гормона и т.д. [10].

Все фитогормоны оказывают своё влияние на рост и развитие растительной ткани. Индолилуксусная кислота, как ауксин, стимулирует образование ксилемных и флоэмных элементов [11]. Цитокинины оказывают основное влияние на индукцию деления клеток, они особенно активны в регуляции клеточного деления [12]. Обработка экзогенной АБК (абсцизовой кислотой) во многих тестах ингибирует рост и прорастание семян.

Ф. Скуг и К. Миллер установили, что при изменении соотношения между ауксином и цитокинином изменяется тип образующей меристемы: при высоком отношении ауксина к цитокининам из части клеток каллуса возникают зачатки корней, а если концентрация цитокинина превышает концентрацию ауксина, то клетки дифференцируются в зачатки стебля [13]. Важно отметить,

что в органогенных и эмбриогенных каллусах эндогенные ауксины и цитокинины локализуются в клетках меристематических зон [14], участвуя в создании органов/соматических зародышей при дальнейшем культивировании на регенерационной среде.

Разнообразие форм и размеров клеток также связано с действием ауксинов и цитокининов. Результатом этого взаимодействия являются активация выделения ионов H+ из клеток и подкисление пространства клеточных стенок. За счет этого подкисления создаются условия для их разрыхления: вытеснение Ca^{2+} из клеточных стенок, ослабление части водородных связей, снижение pH до 5,0 и ниже, благоприятного для деятельности в клетках кислых гидролаз [15].

При исследовании показателей содержания фитогормонов в эмбриогенных и неэмбриогенных каллусах были выделены определённые закономерности и отличия. В эмбриогенных каллусах содержание ИУК (индолилуксусной кислоты) и АБК (абсцизовой кислоты) выше, причем потеря эмбриогенной компетентности клетками каллусов в ходе длительного культивирования происходила одновременно со снижением содержания ИУК практически до уровня, отмеченного для неэмбриогенных каллусов [2]. Также эмбриогенный каллус содержит меньшее количество цитокининов по сравнению с каллусной тканью зародышей несмотря на то, что одним из условий формирования эмбриогенного каллуса является высокое содержание цитокининов в культивируемых зародышах. Сам же эмбриогенный каллус имеет низкое содержание фитогормонов, лишь содержание АБК в нем было достаточно высоким, что говорит о наличии автономной гормональной регуляции, так как даже высокое содержание фитогормонов в питательной среде не способно значительно повысить уровень фитогормонов в эмбриогенном каллусе. [16]

Каллусные культуры растительных клеток выращивают на специализированных питательных средах, которые обязательно должны содержать фитогормоны (в особенности, ауксины и цитокинины). В качестве ауксинов чаще всего используют 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д), индолилуксусную кислоту (ИУК) и 1-нафталинуксусную кислоту (НУК), причем максимальную активность проявляет 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота. В качестве цитокининов при приготовлении искусственных питательных сред обычно используют 6-бензиламинопурин (6-БАП), зеатин и кинетин. Эти группы фитогормонов выполняют разные функции, но они взаимосвязаны: ауксины инициируют процессы дедифференцировки клетки, после чего цитокинины вызывают деление клеток и, таким образом, специализированная клетка растительной ткани становится каллусной [3].

Несмотря на сложности выращивания каллусных культур, в данное время существует большое количество разных по составу и функциям питательных сред. Среда Мурасиге и Скуга является самой универсальной и используется для образования каллуса, поддержания неорганизованного роста каллусных тканей, индукции морфогенеза у большинства двудольных растений. Для выращивания каллусных клеток и тканей бобовых растений и злаков чаще используют среду Гамборга и Эвелега, среда Уайта обеспечивает укоренение побегов и нормальный рост стебля после 27 регенерации, а среда Нича хорошо подходит для андрогенеза в культуре пыльников [17]. При приготовлении питательной среды также учитывается баланс между содержанием эндогенного ауксина ИУК в эксплантe и концентрацией экзогенного ауксина 2,4-Д в питательной среде для индукции формирования каллуса и ИУК для индукции путей морфогенеза in vitro в каллусах и состоит он в обратной зависимости между этими показателями [18].

Добавление фитогормонов в питательные среды в различных соотношениях, сочетаниях и концентрациях также влияет не только на рост и развитие каллусной культуры, но и на продуцирование ею вторичных метаболитов. Это и является одним из продуктивных биотехнологических подходов для регуляции синтеза вторичных метаболитов. На основе исследования по накоплению вторичных метаболитов и биомассы в присутствии различных цитокининов способность к каллусообразованию листовыми эксплантами клюквы болотной и крупноплодной на средах с разными цитокининами была различной: для клюквы болотной максимальное образование каллусов происходило в присутствии кинетина, а для клюквы крупноплодной – в присутствии с иП (2-изопентениладенина). При этом отмеченные варианты культивирования, в большей степени способствовавшие инициации каллусной ткани, давали пониженное накопление фенольных веществ. С целью получения увеличенного количества фенольных соединений в каллусах клюквы болотной на ранних этапах культивирования лучше использовать иП, а крупноплодной – 6-БАП. Однако длительное пассирование каллусных культур на среды с этими цитокининами ведет к снижению содержания фенольных соединений. Более стабильное накопление фенольных соединений у каллусов обоих видов клюквы обеспечивает наличие кинетина в питательной среде. [19]

Фитогормоны являются неотъемлемой частью роста и развития не только каллусной культуры растительных клеток, но и самих растений. Они, подобно гормональной системе животных и человека, управляют различными физиолого-биохимическими процессами растительных клеток, в разной степени способствуя функциональному развитию растения, что наблюдается на определённых стадиях развития каллусной культуры. Для её получения в питательные среды разных видов обязательно добавляются фитогормоны в различных соотношениях, которые учитывают особенности роста и функциональной жизнедеятельности данных растительных клеток. Также при помощи фитогормонов возможна регуляция получения каллусных культур с определёнными целями: добавление одного сочетания позволит получить большую биомассу для изучения морфогенеза in vitro, а другого – создать больший выход целевого биологически активного вещества для нужд биотехнологии.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00 Биотехнология

62.33.29 Культивирование растительных клеток и тканей

ЛИТЕРАТУРА

1. Батыгина Т.Б. Биология развития растений. Симфония жизни. СПб.: ДЕАН, 2014. 764 с.

2. Зинатуллина А.Е. Цитофизиологические особенности контрастных типов каллусов in vitro // Успехи современной биологии. 2020. Т. 140. N 2. С. 183-194 https://doi.org/10.31857/s0042132420020040

3. Молекулярные и клеточные аспекты биотехнологии / под ред. С.Г. Инге-Вечтомоваю. Л.: Наука, 1986. 256 с

4. Взаимодействие транскрипционных факторов и фитогормонов в регуляции активности меристем у растений / В.Е. Творогова [и др.] // Генетика популяций и эволюция. 2012. Т. 10. N 3. С.28-40

5. Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Сельдимирова О.А. Каллусогенез как путь морфогенеза in vitro у злаков // Онтогенез. 2018. Т. 49. N 5. С. 273–288 https://doi.org/10.1134/S0475145018050038

6. Эмбриологические основы андроклинии пшеницы / Н.Н. Круглова [и др.]. М.: Наука, 2005. 99 с.

7. Simple hormonal regulation of somatic embryogenesis and/or shoot organogenesis in caryopsis cultures of Pogonatherum paniceum (Poaceae) / W. Wang [et al.] // Plant Cell Tiss. Org. Cult. 2008. V. 95. P. 57–67

8. Феномен "сиамских зародышей" у злаков in vivo и in vitro: кливажная полиэмбриония и фасциации / Г.Е. Титова [и др.] // Онтогенез. 2016. Т. 47. № 3. С. 152–169

9. Кулаева О.Н. Фитогормоны как регуляторы активности генетического аппарата и синтеза белка у растений // Новые направления в физиологии растений. М., 1985. С. 62–83.

10. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений Л.: Изд-во ЛГУ, 1991. 240 с

11. Stabel P., Eriksson T., Engstrom P. Changes in Protein Synthesis upon Cytokinin-Mediated Adventitious Bud Induction and during Seedling Development in Norway Spruce, Picea abies // Plant Physiol. 1990. Vol. 92. P. 1174–1183.

12. Кулаева О. Н. Цитокинины, их структура и функции. М.: Наука, 1973. С. 9–23.

13. Skoog F., Miller W. Chemical regulation of growth and organ formation in vitro // Symp. Soc. Exp. Biol. 1957. Vol. 11. P. 118–121.

14. Changes in distribution of cytokinins and auxins in cell during callus induction and organogenesis in vitro in immature embryo culture of wheat / O.A. Seldimirova [et al.] // In Vitro Cell Dev. Biol. Plant. 2016. V. 52. N 3. P. 251–264.

15. Полевой В.В. Роль ауксина в системах регуляции у растений. Л., 1986.

16. Хмара К.А. Содержание фитогормонов в каллусной ткани при индукции соматического эмбриогенеза у зародышей ели обыкновенной (picea abies [l.] Karst.) // Труды Карельского научного центра РАН. 2015. N 12. С. 142–148 https://doi.org/10.17076/eb266

17. Культура клеток растений и биотехнология / под ред. Р.Г. Бутенко. М.: Наука, 1986, 286 с.

18. Роль фитогормонов в регуляции прорастания семян / Е.Э. Нефедьева [и др.] // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2013. N 1(4). С. 61–66

19. Накопление биомассы и фенольных соединений каллусами Oxycoccus palustris PERS. и O. Macrocarpus (AIT.) PERS. в присутствии разных цитокининов / Е.В. Березина [и др.] // Физиология растений. 2019. Т. 66. №1. С. 35–45 https://doi.org/ 10.1134/S0015330318050032

SUMMARY

USAGE OF PHYTOHORMONES IN THE OBTAINING OF PLANT CELLS` CALLUS CULTURE

Zinoveva M.A., 3rd year student
Academic advise: **Nechaeva E.A.**, Candidate of Biological Sciences, senior lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: margarita.zinoveva@spcpu.ru

As result of the study, scientific facts were analyzed about the process of callusogenesis, about various phytohormones, using for the cultivation of callus culture, about their effect on the growth index and development of plant cells. Also, nutrient media, using for the cultivation of plant cells, which include phytohormones, and their effect on the synthesis of secondary metabolites were given consideration. Conclusions were made about the optimal usage of phytohormones and about special aspects of their employment for the obtaining of various plant cells` callus culture.

Keywords: *phytohormones, callusogenesis, morphogenesis in vitro, meristems, nutrient media, callus types.*

REFERENCES

1. Batygina T.B. Biologija razvitija rastenij. Simfonija zhizni. SPb.: DEAN, 2014. 764 p.

2. Zinatullina A.E. Citofiziologicheskie osobennosti kontrastnyh tipov kallusov in vitro // Uspehi sovremennoj biologii. 2020. Vol. 140(2). P. 183-194 https://doi.org/10.31857/s0042132420020040

3. Molekuljarnye i kletochnye aspekty biotehnologii / pod red. S.G. Inge-Vechtomova. L.: Nauka, 1986. 256 p.

4. Vzaimodejstvie transkripcionnyh faktorov i fitogormonov v reguljacii aktivnosti meristem u rastenij / V.E. Tvorogova [et al.] // Genetika populjacij i jevoljucija. 2012. Vol. 10(3). P.28-40

5. Kruglova N.N., Titova G.E., Sel'dimirova O.A. Kallusogenez kak put' morfogeneza in vitro u zlakov // Ontogenez. 2018. Vol. 49(5). P. 273–288 https://doi.org/10.1134/S0475145018050038

6. Jembriologicheskie osnovy androklinii pshenicy / N.N. Kruglova [et al.]. M.: Nauka, 2005. 99 p.

7. Simple hormonal regulation of somatic embryogenesis and/or shoot organogenesis in caryopsis cultures of Pogonatherum paniceum (Poaceae) / W. Wang [et al.] // Plant Cell Tiss. Org. Cult. 2008. V. 95. P. 57–678.

8. Fenomen "siamskih zarodyshej" u zlakov in vivo i in vitro: klivazhnaja polijembrionija i fasciacii / G.E. Titova [et al.] // Ontogenez. 2016. Vol. 47(3). P. 152–169

9. Kulaeva O.N. Fitogormony kak reguljatory aktivnosti geneticheskogo apparata i sinteza belka u rastenij // Novye napravlenija v fiziologii rastenij. M., 1985. P. 62–83.

10. Polevoj V.V., Salamatova T.S. Fiziologija rosta i razvitija rastenij L.: Izd-vo LGU, 1991. 240 p.

11. Stabel P., Eriksson T., Engstrom P. Changes in Protein Synthesis upon Cytokinin-Mediated Adventitious Bud Induction and during Seedling Development in Norway Spruce, Picea abies // Plant Physiol. 1990. Vol. 92. P. 1174–1183.

12. Kulaeva O.N. Citokininy, ih struktura i funkcii. M.: Nauka, 1973. P. 9–23.

13. Skoog F., Miller W. Chemical regulation of growth and organ formation in vitro // Symp. Soc. Exp. Biol. 1957. Vol. 11. P. 118–121.

14. Changes in distribution of cytokinins and auxins in cell during callus induction and organogenesis in vitro in immature embryo culture of wheat / O.A. Seldimirova [et al.] // In Vitro Cell Dev. Biol. Plant. 2016. Vol. 52. N 3. P. 251–264.

15. Polevoj V.V. Rol' auksina v sistemah reguljacii u rastenij. –L., 1986.

16. Hmara K.A. Soderzhanie fitogormonov v kallusnoj tkani pri indukcii somaticheskogo jembriogeneza u zarodyshej eli obyknovennoj (picea abies [l.] Karst.) // Trudy Karel'skogo nauchnogo centra RAN. 2015. N 12. P. 142–148 https://doi.org/10.17076/eb266

17. Kul'tura kletok rastenij i biotehnologija / pod red. R.G. Butenko. M.: Nauka, 1986. 286 p.

18. Rol' fitogormonov v reguljacii prorastanija semjan / E.Je. Nefed'eva [et al.] // Izvestija vuzov. Prikladnaja himija i biotehnologija. 2013. N 1(4). P. 61–66

19. Nakoplenie biomassy i fenol'nyh soedinenij kallusami Oxycoccus palustris PERS. i O. Macrocarpus (AIT.) PERS. v prisutstvii raznyh citokininov / E. V. Berezina [et al.] // Fiziologija rastenij. 2019. Vol. 66(1). P. 35–45 https://doi.org/ 10.1134/S0015330318050032

УДК 615.041.21

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВЕ КЕТОПРОФЕНА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ

Зуфарова З.Х., соискатель
Научный руководитель: **Юнусова Х.М.,** докт. фарм. наук, проф.,
Илхамова Н.Б., докт. фарм. наук,
Ташкентский фармацевтический институт,
100015, г. Ташкент, ул. Айбека, 45, Республика Узбекистан
E-mail: zuhra_77@mail.ru

В данном сообщении приводятся результаты изучения стабильности таблеток на основе кетопрофена. Рассмотрены и коротко сформулированы основные критерии подхода к сохранению стабильности рекомендуемых таблеток. Изучены качественные и количественные характеристики лекарственной формы.

Ключевые слова: *стабильность, технологические свойства, качества, растворение, температура, таблетки.*

Важной составляющей стратегии развития фармацевтической промышленности в современной Узбекистана являются процессы импортозамещения. Применительно к данной специфической отрасли промышленности они важны не только в экономическом и технологическом плане, но и как средство обеспечения национальной безопасности, решения социальных проблем. В этой связи весьма актуальными представляются исследования направлений и форм политики импорт замещения в фармацевтической промышленности, разработка эффективных инструментов стимулирования отечественных производителей, оценка и применение лучших зарубежных практик освоения импортозамещающих в производстве лекарственных препаратов. Изучение теории и практики импорт замещения ведется ими в контексте общей методологии проблем экономического роста и экономики промышленности. Одной из основных проблем современной фармацевтической технологии является разработка лекарственных форм удобных в применении, стабильных при хранении. На стабильность лекарственных форм оказывает большое влияние физическое состояние субстанции, температура хранения, окружающая атмосфера, свет, упаковка, способ приготовления, подбор вспомогательных веществ и др. При хранении лекарственных форм происходят различные процессы, которые приводят к изменению химической структуры, что естественно приводит либо к снижению фармакологической активности, либо к ее полной потере. Исследование сроков годности лекарственных форм является одним из основных и завершающих этапов при разработке технологии лекарственных препаратов [1,2,6].

Стабильность – одна из важнейших характеристик лекарственного средства. Предприятие медицинской промышленности должно гарантировать содержание терапевтической дозы лекарственных веществ в лекарственных формах в течение определенного срока. Это в свою очередь отражают в нормативно технических документах. Критерием стабильности лекарственного вещества служит сохранение его качества, т.е. внешнего вида, растворимости, подлинности, доброкачественности и количественного содержания. Снижение количественного содержания фармакологически активного вещества в лекарстве подтверждает его нестабильность [3].

Обеспечение надлежащего качества лекарственных средств и других фармацевтических товаров во многом зависит от правильной организации хранения контроля их действия и эффективности, а также от уровня требований заложен-

ных в НТД. Недооценка влияния внешних условий хранения ускоряя инактивацию медикаментов порчи и непригодность товаров медицинского назначения. Качество товаров зависит от многих факторов. Их можно разделить на факторы влияющие на формирование качества и факторы способствующие сохранения качества [4].

Факторы, оказывающие влияние на качество фармацевтических товаров лекарственных препаратов, соблюдение температурного режима хранения, показателя влажности в помещениях хранения, световое излучение, газы воздуха (кислород, углекислый газ, озон и др.) микроорганизмы, фактор времени, а также соблюдение правил хранения лекарственных препаратов различных фармакологических групп, требующих соблюдения особых условий. Несоблюдения температурного режима хранения препараты быстро инактивируются, разлагаются, становятся непригодными задолго до истечения гарантийного срока годности. Высокая относительная влажность воздуха оказывает отрицательное влияние на качество фармацевтических товаров, особенно на гигроскопические лекарственные препараты (калия иодид, кальция сульфат, натрия бромид и другие). Повышенная влажность воздуха создает благоприятные возможности для развития плесени и других микроорганизмов. Влиянии света несоблюдение условий хранения светочувствительных фармацевтических препаратов приводит к их разложению, а иногда и к образованию токсических продуктов. Влияют на фактор стабильности молекулы действующего вещества (качество лекарственного препарата). Стабильность лекарств во многом зависит от химического состава и свойств тароукупорочного материала, поскольку с момента производства лекарства и до его приема больным эти вещества находятся в контакте и могут вступать в различного рода взаимодействия. Упаковка лекарств должна предохранять лекарство от воздействия света, температуры, влажности, газов и микроорганизмов, обеспечивать его сохранность в течение определенного срока [5].

Таким образом, разработка лекарственных форм удобных в применении, стабильных при хранении является одной из основных проблем современной фармацевтической технологии. Исследование сроков годности лекарственных форм является одним из основных задач при разработке технологии лекарственных средств.

Цель исследования: изучить влияние разных условий на стабильность таблеток на основе кетопрофена и определять их сроки годности.

В качестве объекта исследования использовались таблетки «Кетомакс 0,1г», полученный нами рекомендуемым составом и технологии. В ходе исследования были использованы два метода определения стабильности: метод естественного хранения при температуре 20±10С и метод «ускоренного старения» согласно временной инструкции И-42-2-82 [7,8], при температуре 600С в четырёх видах тароупаковочных материалов. Определялось следующие качественные и количественные свойства: внешний вид, средняя масса таблеток и отклонения от неё, распадаемость, прочность на истираемость и на излом, количественное содержание действующего вещества. При экспериментах использовались методики, приведенные в ГФ XI и соответствующих НТД.

Первый этап эксперимента посвящались исследования по изучению физико-химических, качественных и количественных показателей исходных образцов рекомендуемых таблеток. На основании проведенных экспериментальных исследований по вышеприведенным методикам установлены основные показатели качества исходных таблеток, которые представлены в таблице 1.

Результаты, представленные в таблице 1, свидетельствуют о соответствии разработанной нами таблетированной формы показателям качества, предъявляемым к таблетированным лекарственным формам.

По литературе известно, что высокие требования предъявляются к упаковочным материалам, предназначенным для хранения лекарственных препаратов. Однако, особое значение имеет не только стабильность упаковочного материала, но и его способность предохранить лекарственных средств от воздействия внешних факторов (температуры, света) [9].

Поэтому, изучив качественные показатели рекомендуемых таблеток их упаковывали в следующие виды упаковки, разрешенные к применению в медицинском практике: По 10, 20,30 таблеток в контурно ячейковую упаковку из пленки поливинилхлоридной по ГОСТ 25250-88 (№1), импортной, из фольги алюминиевой печатной лакированной по ТУ 48-21-270-94 (№2), импортной, из бумаги упаковочной термосвариваемой по ТУ 6-00-00205133-61-96 (№3). По 10, 20,30 таблеток в контурно без ячейковую упаковку из бумаги с полиэтиленовым покрытием по ТУ 13-7308001-477-85(4), по ТУ 64-0716-18-90, из бумаги с полимерным покрытием по ТУ 13-0248643-833-91 (№5). По 20, 40, 50,60,80,100 таблеток во флаконы из стекломассы по ОСТ 64-2-71-80 (№6), укупоренные крышками по ОСТ 64-2-87-81 и в банки по TSh 64-16016581-01-99 (№7), из полиэтилена высокого давления по ТУ Уз 64-16965647-01-98(№8) и в банки по TSh 64-17490735-01-2001 (№9).

Таблица 1 – Результаты изучения основных показателей качества исходных таблеток «Кетомакс 0,1г»

Изучаемые показатели	Полученные результаты	Нормы качества
Внешний вид	Таблетки светло голубого, круглые, двояковыпуклые таблетки, покрытые пленочной оболочкой. По внешнему виду соответствует требованиям ГФ XI, вып.2, с.154.	Таблетки светло голубого, круглые, двояковыпуклые таблетки, покрытые пленочной оболочкой. По внешнему виду должны соответствовать требованиям ГФ XI, вып.2, с.154.
Средняя масса таблеток и отклонения от неё, г	226,1	Средняя масса таблеток должна быть от 209,975 мг до 244, 025 мг). Отклонения от средней массы допускаются в пределах ±7,5%.
Распадаемость, мин.	9,35	Должны выдерживать требования, указанные в ГФ XI вып. 2, с. 154. Таблетки должны распадаться в течение не более 15 мин.
Прочность на истираемость, %	98,8	Должны выдерживать требования, указанные в ГФ XI, вып. 2, с. 154. Прочность на истирание должна быть не менее 97%.
Прочность на излом, Н	68,6	Должны выдерживать требования, указанные в ГФ XI, вып. 2, с. 154. Прочность на излом должна быть не менее 40Н.

Изучаемые показатели	Полученные результаты	Нормы качества
Растворимость, %	87,3	Проводят в соответствии с требованиями ГФХ1, вып.2, с.154, используя прибор типа «Вращающаяся корзинка» или емкость с лопастной мешалкой. Не менее 75% через 45 минут.
Количественное содержание действующих веществ, %	96,5	ГФ XI УФ- спектрофотометрия. *Спецификация выпуска:* 100 мг/таблетка ± 5%, (95,0 до 105,0 мг/таб) *Спецификация срока годности:* 100 мг/таблетка – 10% + 5%, (90,0 до 105,0 мг/таб).

Исследования в обычных условиях проводились методом хранения таблеток в вышеуказанных упаковках на стеллажах и шкафах лабораторного помещения при температуре 22±20С. Пробы на анализ при исследовании в обычных условиях брали через каждые шесть месяцев. Каждые шесть месяцев определяли вышеуказанные показатели таблеток. Результаты исследования приведены в табл.2.

Исследования методом «ускоренного старения» проводились согласно временной инструкции И-42-2-82 при температуре 60°С в термостате марки ТС-80-МУ42. В течение эксперимента брали пробы на анализ через каждые 23 суток, которое по инструктивному письму И-42-2-82 соответствует аналогичному периоду времени при обычном хранении. Общее продолжительность эксперимента 69 суток.

Таблица 2 – Результаты исследований качественных и количественных показателей таблеток «Кетомакс 0,1г» методом обычного хранения

Номер серии	Продолжительность хранения, год	Внешний вид (описание)	Средняя масса, г и отклонение от нее,%	Прочность		Распадаемость, мин.	Растворение, %	Количественное содержание д.в., %
				на истирание, %	на излом, Н			
1	2	3	4	5	6	7	8	9
01.05.12	Исходный образец	Таблетки светло голубого, круглые, двояковыпуклые, покрытые пленочной оболочкой	0,225±0,48	99,01	58,91	9,11	95,56	97,55
02.05.12	-//-	-//-	0,222±1,81	98,84	51,32	9,10	97,44	98,04
03.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	98,75	57,02	8,95	96,80	99,90
04.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	98,85	54,41	8,30	97,67	98,89
05.05.12	-//-	-//-	0,229±1,28	98,09	58,92	8,90	98,22	98,45
01.05.12	6 мес	Не изменились	0,224±0,92	98,05	55,32	8,70	95,60	99,77
02.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,45	51,21	8,89	96,81	99,90
03.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	98,00	50,92	8,51	96,71	98,84
04.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	99,67	50,05	9,20	94,01	98,97
05.05.12	-//-	-//-	0,229±1,28	98,25	50,42	8,42	98,88	98,90
01.05.12	1 год	Не изменились	0,229±1,28	99,67	50,91	9,44	97,90	99,85
02.05.12	-//-	-//-	0,229±1,28	98,80	51,06	9,00	98,83	98,97
03.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	99,99	52,07	8,90	96,02	99,95
04.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	99,34	50,51	9,34	94,70	98,90
05.05.12	-//-	-//-	0,222±1,81	98,85	55,12	9,30	97,99	99,0
01.05.12	1,5 год	Не изменились	0,225±0,48	98,99	51,51	8,66	91,91	99,86
02.05.12	-//-	-//-	0,229±1,28	98,70	50,25	9,15	95,02	99,75
03.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,81	54,73	9,33	94,15	99,47
04.05.12	-//-	-//-	0,226±0,04	98,45	52,56	8,95	97,75	98,88
05.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,80	51,82	9,64	95,76	99,67
01.05.12	2 год	Не изменились	0,224±0,92	98,91	52,51	8,92	93,99	99,85
02.05.12	-//-	-//-	0,222±1,81	98,97	52,93	9,41	93,02	99,79
03.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	98,65	50,67	9,04	96,46	99,55
04.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	98,86	52,74	9,53	94,16	98,99
05.05.12	-//-	-//-	0,229±1,28	98,15	55,63	9,26	91,62	98,87
01.05.12	2,5 год	Не изменились	0,224±0,92	98,76	50,92	9,54	94,11	99,79
02.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,96	52,82	9,71	98,99	98,85
03.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	98,95	57,08	9,47	97,56	98,67
04.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,47	59,64	9,40	95,46	99,90
05.05.12	-//-	-//-	0,222±1,81	98,90	59,72	9,36	93,54	98,78
01.05.12	3 год	Не изменились	0,227±0,39	98,15	56,63	8,97	91,82	99,87
02.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	98,69	58,92	9,07	94,04	98,88
03.05.12	-//-	-//-	0,229±1,28	98,56	59,85	8,83	90,78	98,85
04.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,90	59,05	10,00	97,08	98,67
05.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,92	55,62	9,48	95,67	98,85

Результаты представлены в таблице 3.

Как видно из данных, приведенных таблице 2, срок годности рекомендуемых таблеток при хранении не выше 60°С, составил 3 года.

Таблица 3 – Исследований стабильности таблеток «Кетомакс 0,1г » методом «Ускоренного старения» при температуре 60⁰ С

Номер серии	Продолжительность хранения, сутки	Внешний вид (описание)	Средняя масса (г) и отклонение от нее,%	Прочность		Распадаемость, мин	Растворение, %	Количественное содержание д.в., г
				на истирание, %	На излом Н			
1	2	3	4	5	6	7	8	10
01.05.12	Исходный образец	Таблетки белого цвета, без запаха или со специфическим слабым запахом.	0,225±0,48	98,94	58,34	9,10	90,99	99,89
02.05.12	-//-	-//-	0,222±1,81	98,92	58,16	8,12	94,67	99,78
03.05.12	-//-	-//-	0,229±1,28	98,63	58,92	9,95	96,78	98,90
04.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,91	60,94	9,30	91,67	99,50
05.05.12	-//-	-//-	0,226±0,04	98,74	59,12	8,55	93,44	100,83
01.05.12	23	Не изменились	0,224±0,92	98,72	58,95	9,78	93,68	99,99
02.05.12	-//-	-//-	0,226±0,04	98,54	59,62	9,00	94,53	99,45
03.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,57	60,85	9,61	95,66	99,87
04.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,25	60,92	9,15	92,55	99,78
05.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,92	59,54	10,30	95,88	99,90
01.05.12	46	Не изменились	0,222±1,81	98,05	59,52	9,55	95,55	98,01
02.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	98,42	59,82	9,96	91,98	99,79
03.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	98,93	59,73	9,20	91,67	98,96
04.05.12	-//-	-//-	0,224±0,92	98,84	59,52	10,10	92,50	98,84
05.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	98,56	59,43	9,98	92,44	98,49
01.05.12	69	Не изменились	0,224±0,92	98,08	60,86	9,80	92,49	99,89
02.05.12	-//-	-//-	0,229±1,28	98,14	61,92	10,20	91,57	99,65
03.05.12	-//-	-//-	0,227±0,39	98,58	58,94	9,59	91,15	99,10
04.05.12	-//-	-//-	0,222±1,81	98,25	60,05	9,90	90,58	100,0
05.05.12	-//-	Не изменились	0,224±0,92	98,76	59,82	9,70	91,65	99,45

Из данных таблиц видно, что изучение сроков годности как при естественных, так и при «ускоренном» методах старения вышеприведенные виды упаковок обеспечивают стабильность таких качественных показателей таблеток, как внешний вид, подлинность, прочность, распадаемость, растворимость и количественное содержание действующего вещества.

Таким образом, подобранный состав и рекомендуемая технология таблеток «Кетомакс 0,1г», а также использованные виды упаковки обеспечивают стабильность таблеток в течение 3-х лет как в исследованиях методом «ускоренного старения», так и при хранении в обычных условиях.

Таким образом, согласно полученным данным изучаемые вышеприведенные показатели в течение трех лет отвечали требованиям, предъявляемым к таблетированным лекарственным формам (ГФ XIII и, II изд.)

ЛИТЕРАТУРА

1. Постановления Кабинета Министров Республики Узбекистан №49 от 25 февраля 2011 года «О наполнении внутреннего рынка отечественными лекарственными средствами в целях дальнейшего развития фармацевтической промышленности республики».

2. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Effect of various binding agents on the quality of hard gelatin capsules «Analfenon» // International Journal of All Research Writings (IJARW). India. 2020. Vol. 1(10). P.81-85.

3. Равшанова С.Э., Юнусова Х.М. К вопросу разработки технологии капсул «Аналфенон» // Фармация, научно-практический журнал. Специальный выпуск. 2020. С.587-590.

4. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288.

5. Ilkhamova N.B., Nazarova Z.A., Yunusova Kh.M. Studying the effect of a relative humidity and compaction pressure on the quality of tablets and pressed mass // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2019. Vol. 8(6). P. 35-40.

6. Исследование в области разработки технологии таблеток «Ниме-S» / З.Х. Зуфарова [и др.] // Фармацевтический Вестник Узбекистана. 2015. С. 73-75

7. Вальтер М.Б., Тютенков О.Л., Филипин Н.А. Постадийный контроль в производстве таблеток. М.: Медицина, 1982. 208 с.

8. Государственная фармакопея XI. Вып. 2. Общие методы анализа. М.: Медицина, 1990. 398 с.

9. Никулин А.В. Изучение стабильности готовой лекарственной формы глюкозамина-геля для наружного применения // Здоровье и образование в XXI веке. 2017. Т. 19. N 4. С. 128-130.

SUMMARY

STUDY OF THE STABILITY OF ANTI-INFLAMMATORY KETOPROFEN-BASED TABLETS

Zufarova Z.Kh., competitor
Academic advises: **Yunusova Kh.M**., dr. farm. sciences, prof.
Ilkhamova N.B., doctor. pharm. sciences.
Tashkent Pharmaceutical Institute, 100015, Tashkent
Tashkent, st. Aibek, 45, Republic of Uzbekistan
E-mail: zuhra_77@mail.ru

This report presents the results of a study of the stability of tablets based on ketoprofen. The main criteria of the approach to maintaining the stability of the recommended tablets are considered and briefly formulated. The qualitative and quantitative characteristics of the dosage form were studied.

Keywords: *stability, technological properties, qualities, dissolution, temperature, tablets.*

REFERENCES

1. Resolution of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan No. 49 dated February 25, 2011 «On filling the domestic market with domestic medicines in order to further develop the pharmaceutical industry of the republic.»

2. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Effect of various binding agents on the quality of hard gelatin capsules «Analfenon» // International Journal of All Research Writings (IJARW). India. 2020. Vol. 1(10). P.81-85.

3. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. On the development of technology capsules «Analfenon» // Pharmacy, scientific and practical journal. Special issue-2020. P. 587-590.

4. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288.

5. Ilkhamova N.B., Nazarova Z.A., Yunusova Kh.M. Studying the effect of a relative humidity and compaction pressure on the quality of tablets and pressed mass // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2019. Vol. 8(6). P. 35-40.

6. Research in the development of the technology of tablets «Nime-S» / Zufarova Z.Kh., N.B. Ilkhamova [et al.] // Pharmaceutical Bulletin of Uzbekistan. 2015. P. 73-75

7. Walter M.B., Tyutenkov O.L., Filipin N.A. Stepwise control in the production of tablets. M.: Medicine, 1982. 208 p.

8. State Pharmacopoeia XI. Vol. 2. General methods of analysis. M.: Medicine, 1990. 398 p.

9. Nikulin A.V. Studying the stability of the finished dosage form of glucosamine gel for external use // Health and education in the XXI century. 2017. Vol.19(4). P. 128-130.

УДК 54: 543.054.2.9

ИЗУЧЕНИЕ СОРБЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ СОРБЕНТА НА ОСНОВЕ С-18 ПО ОТНОШЕНИЮ К ГРОССГЕМИНУ

Зыкова З.В., студ. 2 курса, **Мамедова В.Э.**, студ. 5 курса
Научный руководитель: **Кривощеков С.В.**, канд. хим. наук, доцент
(ORCID: 0000-0001-5505-7141, ScopusAuthorID: 56021963300, ResearcherID: C-5478-2014)
Сибирский государственный медицинский университет
634050, г. Томск, Московский тракт 2 стр.18, Российская Федерация
E-mail: zoya.zykova.2002@mail.ru

В работе исследована сорбционная активность сорбента на основе С-18 по отношению к гроссгемину. Построена динамическая кривая сорбции в пределах концентрации 0,035-0,25 мг/см3. Графически определены сорбционные характеристики: «объём до проскока», равновесный объём и объём удерживания. На основании полученных данных рассчитана динамическая ёмкость. Установлено, что варьирование концентраций ацетонитрила оказывает влияние на параметры: при увеличении концентрации «объём до проскока», объём удержания значительно уменьшаются. Так, динамическая ёмкость снижается: 4,8±0,6 мг/г при 20% MeCN и 1,0±0,2 мг/г при 50% MeCN. Исходя из этого, подобрана наиболее эффективная концентрация ацетонитрила, для дальнейшего концентрирования гроссгемина. Ввиду незначительного изменения сорбционных характеристик показана возможность многократного использования патронов после консервации.

Ключевые слова: *гроссгемин, твердофазная экстракция, октадецилсиликагель, «объём до проскока», равновесный объём, объём удержания, динамическая ёмкость.*

Актуальной проблемой современной медицины является распространенное в сибирском регионе заболевание – описторхоз. Это гельминтозное заболевание, вызванное плоскими червями класса сосальщиков, поражающее гепатопанкреатобилиарную систему. С каждым годом в нашей стране число зараженных описторхозом увеличивается примерно на 1,56%, а Томская область занимает четвёртое место по распространённости заболевания в России: более чем 27% населения имеют подтвержденное заражение описторхами.

В настоящее время большое внимание уделяется фитотерапии. Сесквитерпеновые лактоны гвайанового типа, продуцируемые васильком шероховатым (*Centaurea scabiosa L.*) – дикорастущим и культивируемым многолетним травянистым растением, которое произрастает практически на всей территории Российской Федерации. Установлено, что они обладают противопосторхозной активностью. Один из данных представителей и стал объектом исследования, а именно гроссгемин.

Цель работы: изучение сорбционной активности октадецилсиликагеля по отношению к гроссгемину для дальнейшей разработки алгоритма подготовки водных и органических извлечений из растительного сырья.

Задачи:

1) расчет сорбционных характеристик сорбента по отношению к гроссгемину;

2) сравнение полученных сорбционных характеристик и оценка возможности многократного использования патронов с сорбентом С-18 для концентрирования гроссгемина.

Объект исследования: стандартный образец предприятия СОП СО ЦВТ – 002 – 01 – 21 – гроссгемин.

Предмет исследования: сорбционные характеристики октадецилсиликагеля по отношению к гроссгемину.

Твердофазная экстракция (ТФЭ) – перспективный сорбционный метод разделения и концентрирования веществ, имеющий достаточно высокое преимущество над классической экстракцией. Данный метод является наиболее эффективным и простым для извлечения сложных органических соединений из растительных объектов [1]. Преимущество твердофазной экстракции в отличие от жидкость-жидкостной заключается в универсальности, широком выборе растворителей, высокой степени извлечения и меньшей затратой реагентов, что позволяет сократить расход бюджета. ТФЭ проводят в патронах, основным компонентом которых является сорбент, адсорбирующий аналит с последующим возможным элюированием без изменения структуры для хроматографического анализа. При подборе оптимальных условий сокращается время пробоподготовки, расход растворителей и увеличить выход анализируемого образца.

Для исследования использовали в качестве концентрирующего материала патроны, заполненные 500±70 мг октадецилсиликагелем (Chromabond REF 730611, Германия, Северный Рейн-Вестфалия), так как он имеет преимущество над другими сорбентами в экстракции групп флавоноидов [2]. Так же, данный сорбент обладает высокой устойчивостью к воздействию температуры, растворителя и pH, обеспечивает возможность работы в градиентном режиме.

Для определения сорбционных характеристик использовали стандартный образец гроссгемина, из которого приготовлены растворы с концентрацией 0,25 мг/см^3 в условиях увеличения гидрофобности элюента: 10%, 20%, 30%, 50% MeCN.

Выбор ацетонитрила в качестве элюента обусловлен тем, что он является лучшим для достаточно большого количества элюирований, так же некоторые исследования показывают возможность использования его для извлечения органических веществ растительного происхождения. [3]

Подготовку патронов к экстракции осуществляли в 2 стадии:

1. кондиционирование патронов 5 см^3 100% MeCN;

2. уравновешивание 10 см^3.

Адсорбцию аналита измеряли в динамическом режиме путём пропускания стандартных растворов в диапазоне концентраций 0,036 – 0,25 мг/см^3, содержание аналита в каждой порции элюата (1 см^3) определяли в кварцевых кюветах методом спектроскопии на спектрофотометре СФ-2000 при длине волны 205±2 нм.

Результаты и обсуждение. На основании полученных данных построены динамические кривые сорбции (рис.1), имеющие билогарифмическую сигмоидальную форму.

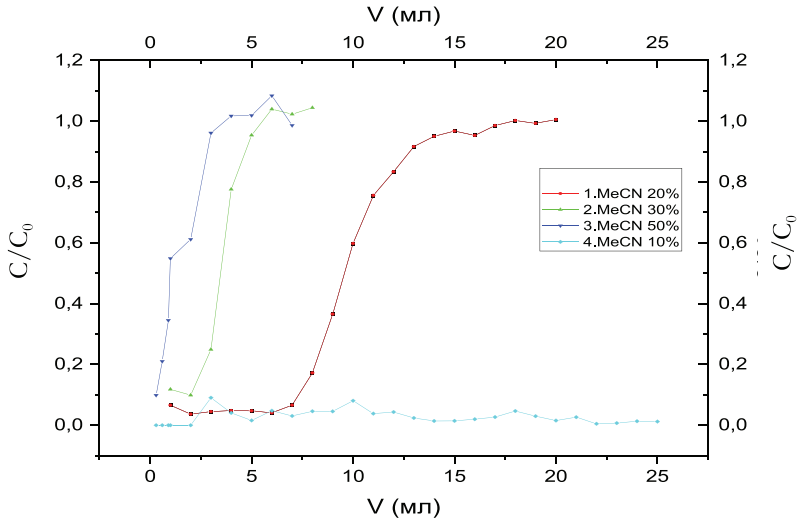


Рисунок 1. Динамические кривые сорбции гроссгемина с вариацией концентрации ацетонитрила: при 10% ацетонитриле (1), 20% ацетонитриле (2), 30% ацетонитриле (3), 50% ацетонитриле (4)

Таблица 1 – Сорбционные характеристики гроссгемина (n=3)

Показатели	MeCN 10%	MeCN 20%	MeCN 30%	MeCN 50%
V_B,см^3	-	6,3±1,4	3,5±0,1	2,1±0,2
V_R, см^3	-	9,8±1,4	3,4±0,2	2,1±0,5
V_E, см^3	-	12,3±1,4	5,0±0,5	3,3±0,4
ДЕ, мг/г	-	4,8±0,6	1,7±0,2	1,0±0,2

Графически определены сорбционные характеристики: V_R – объём удерживания, V_B – «объём до проскока», V_E – равновесный объём, рассчитана динамическая ёмкость (ДЕ) в мг/г. (таблица.1).

Сорбент С-18 при элюировании 20% раствором ацетонитрила обладает наиболее высокими характеристиками удержания гроссгемина, что подтверждается значениями ДЕ, которая в 2,74 и 4,61 раза больше при элюировании 30% и 50% ацетонитрилом, соответственно. Дальнейшее концентрирование эффективнее всего проводить при элюировании 20% раствором ацетонитрила.

При проведении эксперимента с элюированием 10% ацетонитрилом вымывание концентрируемого вещества не происходило после пропускания 25 см^3 раствора гроссгемина. Чтобы доказать его адсорбцию, через патрон было пропущено 3 см^3 H_2O и 5 см^3 более полярного 40% MeCN для вымывания с поверхности сорбента аналита. Таким образом, наиболее селективным является 10% ацетонитрил, однако для установления его сорбционных характеристик необходимо менять методику проведения анализа – увеличить концентрацию анализируемого вещества.

Установлена зависимость динамической ёмкости и «объёма до проскока» от процентного содержания ацетонитрила (рис. 2).

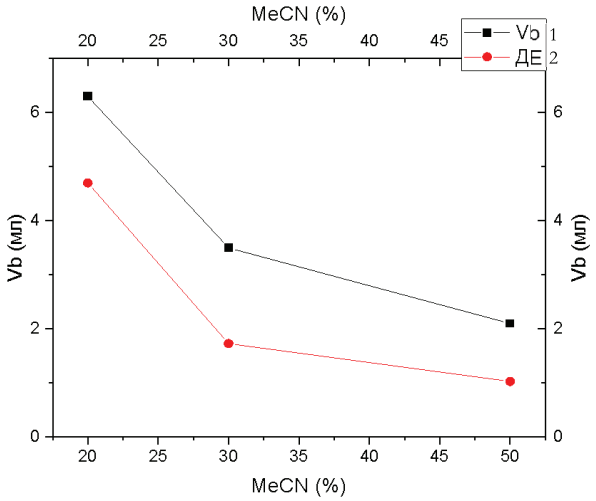


Рисунок 2. Зависимость «объёма до проскока» от процентного содержания ацетонитрила (1). Зависимость динамической ёмкости от процентного содержания ацетонитрила (2)

Видно, что с увеличением концентрации ацетонитрила ДЕ и V_B плавно снижается, что говорит о нецелесообразности повышения липофильности для улучшения сорбционных характеристик октадецилсиликагеля и адсорбции гроссгемина.

Для консервации патронов, с целью вымывания аналита и дальнейшего исследования сорбционных характеристик использовали 5 см^3 100% ацетонитрила. Для защиты от попадания веществ из окружающей среды плотно закупоривали патрон воском и хранили в закрытой ёмкости в холодильнике при температуре 6°С.

Повторный эксперимент производили дважды по той же методике после термостатирования исследуемого раствора и патронов (таблица 2).

Таблица 2 – Сорбционные характеристики гроссгемина при элюровании 20% ацетонитрилом (n=3)

Номер концентрирования	MeCN 20%			
	V_E, мл	V_R, мл	V_B, мл	ДЕ, мг/г
1	18,33±7,32	9,83±0,40	9,97±0,15	4,75±0,17
2	15,33±2,62	8,77±0,59	7,00±0,00	4,23±0,17
3	13,33±0,42	10,03±0,36	6,33±0,42	4,85±0,21

Из таблицы видно, что значения сорбционных характеристик варьируются в одних пределах, что может свидетельствовать о возможности многократного использования для концентрирования аналита.

Установлено, что варьирование концентрации растворителя на стадии определения сорбционных свойств влияет на «объём до проскока», объём удержания, равновесный объём и динамическую ёмкость. Из изученного диапазона концентраций лучшей способностью концентрирования гроссгемина для данной методики обладает 20% ацетонитрил, 10% же требует дальнейших исследований. Изученная сорбционная активность сорбента на основе С-18 по отношению к гроссгемину дает возможность для дальнейшей разработки алгоритма подготовки водных и органических извлечений из растительного сырья перед хроматографическим анализом.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.00.00 химия

31.15.35 поверхностные явления. адсорбция. хроматография. ионный обмен

ЛИТЕРАТУРА

1. Сычев К.С. Материалы и методы пробоподготовки в хроматографии: твердофазное концентрирование и адсорбционная очистка. 2004.

2. Сорбционные характеристики сорбентов для твердофазной экстракции фенольных соединений из экстрактов лекарственных растений / ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет». N 1. С.157-167. DOI: 10.15826/analitika.2018.22.3.013

3. Стыскин Е.Л. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. Москва, 1986.

SUMMARY

STUDY OF THE SORPTION ACTIVITY OF THE SORBENT BASED ON C-18 IN RELATION TO GROSHEMIN

Zykova Z.V., a 2nd year student pharmaceutical department;
Mamedova V.E., a 5th year student pharmaceutical department
Supervisor: **Krivoschekov S.V.**, candidate of chemical sciences
(ORCID: 0000-0001-5505-7141; ScopusAuthorID: 56021963300; ResearcherID: C-5478-2014)
Siberian State Medical University
634050, Tomsk, Moskovsky Trakt 2 p.18, Russian Federation
E-mail: zoya.zykova.2002@mail.ru

The sorption activity of the sorbent based on C-18 with respect to groshemin has been studied. A dynamic curve of sorption within the concentration range of 0.035-0.25 mg/cm3 has been plotted. Sorption characteristics were determined graphically: «volume to slippage», equilibrium volume and retention volume. On the basis of the obtained data the dynamic capacity has been calculated, it has been established that varying the concentration of acetonitrile determines that the «volume to slippage» and the retention volume considerably decrease when the concentration increases. Thus, the dynamic capacity goes down: 4.8±0.6 mg/g at 20% MeCN and 1.0±0.2 mg/g at 50% MeCN. On this basis, the most effective concentration of acetonitrile has been selected for further concentration of groshemin. Due to the insignificant change in the sorption characteristics, the possibility of multiple use of cartridges after preservation has been shown.

Keywords: *groshemin, solid-phase extraction, octadecylsilica gel, «volume to slippage,» equilibrium volume, retention volume, dynamic capacity.*

REFERENCES

1. Sychev K.S. Materials and methods of sample preparation in chromatography: solid-phase concentration and adsorption purification. 2004. (in Russian)
2. Sorption characteristics of sorbents for solid-phase extraction of phenolic compounds from extracts of medicinal plants / FGBOU VO «Kuban State University. N 1. P. 157-167. DOI: 10.15826/analitika.2018.22.3.013 [in Russian]
3. Styskin E.L. Practical high performance liquid chromatography. Moscow, 1986. (in Russian)

УДК 615.322

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ЛАВАНДЫ УЗКОЛИСТНОЙ (LAVANDULA ANGUSTIFOLIA L.)

Иванов П.А., студ. 3 курса, **Хабаров В.А.**, студ. 3 курса
Научные руководители: **Балабан Л.В.,** канд. биол. наук, доц.,
Повыдыш М.Н., докт. биол. наук, проф. (ORCID: 0000-0002-7768-9059, ResearcherID: AAR-4392-2020)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: pavel.ivanov@spcpu.ru

В результате исследования был проведен сравнительный качественный и количественный анализ каллусной культуры по отношению к сырью надземной части лаванды узколистной. Полученные данные свидетельствуют о присутствии в каллусе тех же групп биологически активных веществ (БАВ), что и в сырье. По результатам количественного определения гидроксикоричных кислот в пересчете на кофейную кислоту было показано, что в надземной части лаванды узколистной их содержание равно 1,35%, а в каллусной культуре – 0,43%, суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид – для надземной части лаванды составило 3,6%, а для каллусной культуры – 1,39%.

Ключевые слова: *лаванда узколистная, каллусная культура, трава лаванды, флавоноиды, фенольные кислоты, тонкослойная хроматография.*

Лаванда узколистная, также известная как лаванда настоящая (*L. officinalis* L.) относится к семейству яснотковых (*Lamiaceae*), и изначально была распространена в средиземноморском регионе – западной и северной областях Италии, юго-восточной Франции, западной Испании; сейчас же она культивируется по всему миру. Растение является ценной лекарственной культурой. Экстракты из различных видов лаванды широко применяются в традиционной медицине как средство против эпилепсии, мигрени, спазмолитическое при желудочно-кишечных коликах. Ее эфирные масла находят широкое применение в пищевой и парфюмерно-косметической промышленности. Помимо эфирного масла части растения содержат также полифенольные соединения: фенольные кислоты, включающие производные кофейной, коричной и розмариновой кислот, флавоноиды (апигенин, кверцетин, лютеолин, их глюкозиды).

Химический состав частей лаванды включает такие соединения как флавоноиды, фитостеролы и кумарины, характерные для большинства высших растений.

Лаванда прежде всего известна ароматическими свойствами своего эфирного масла, но лавандовое масло также обладает антисептическими свойствами и широко используется при лечении ожогов и кожных заболеваний. Настой из цветков лаванды традиционно применяется как успокаивающее и спазмолитическое средство, при мигренях, неврастении, сердцебиении, а также как желчегонное средство и при желудочно-кишечных коликах. Эфирное масло, растворенное в спирте, раздражает кожу, вызывая ее покраснение, и используется местно в виде растираний при ревматических болях, невралгии, подагре.

В состав эфирного масла входят (рассматривается масло L. angustifolia, культивированной в Польше): линалоол (30,6%), α-терпинеол, терпинен-4-ол, сложные эфиры линалоола и α-терпинеола (линалилацетат, прежде всего (до 14,2%)) и кислот: уксусной, масляной, валериановой и капроновой. Кроме того, в нем обнаружены гексенилбутират, нерилацетат, гераниол (5,3%), β-кариофиллен (4,7%), нерол, оцимены, лавандулол и его эфиры (лавандулилацетат (4,4%)), амиловый спирт, борнеол, цитраль, куминовый спирт, коричный и валериановый альдегиды, цинеол, α-, β-пинены, камфен, бизаболен, цедрен и другие соединения. В цветках содержатся урсоловая кислота, кумарин и герниарин [1].

Одним из путей решения проблем сохранения растительных ресурсов, в особенности видов, широко востребованных в медицинской и косметической промышленности, является биотехнологический способ воспроизводства растений – культуры растительных клеток, содержащей целевые БАВ. Однако в мире известны лишь единичные примеры производства препаратов на основе БАВ, получаемых в культуре клеток растений. Это обусловлено, прежде всего, недостаточной изученностью культур клеток высших растений как продуцентов БАВ.

К настоящему времени созданы суспензионные и каллусные культуры клеток L. angustifolia [2].

Наилучшие показатели каллусогенеза получены на модифицированной питательной среде Мурасиге и Скуга содержащей 2,4 Д в концентрации 1мг/л, ИУК – 0,5мг/л и кинетина – 0,5мг/л. Начало каллусообразования наблюдалось уже через 10-13 дней после посадки эксплантa на питательную среду.

Также разработана технология культивирования растений-регенерантов L. angustifolia. Частота морфогенеза на средах с гормональным составом 6-БАП 2мг/л и НУК 0.5мг/л составила 84% [3].

Полифенольные соединения, которые присутствуют в растении, по доступным данным обладают противовоспалительным, противоаллергическим, противовирусным и противораковым биологическими действиями [4].

Исследования химического состава каллусной культуры лаванды узколистной не проводились, несмотря на то, что получение флавоноидов и прочих БАВ, может иметь практическое приложение. Таким образом, использование культур клеток лаванды узколистной вместо ценного интактного растения позволит решить проблему дефицита растительного сырья и БАВ в России.

Целью данного исследования является сравнительный качественный и количественный анализ полифенольного комплекса каллусной культуры лаванды узколистной в сравнении с сырьём надземной части лаванды узколистной.

Для достижения поставленной цели сформулировали следующие задачи:

1. Провести сравнительный качественный анализ каллусной культуры и сырья на присутствие различных групп БАВ полифенольной природы (флавоноидов, кумаринов, дубильных веществ);
2. Изучить компонентный состав фенольных соединений каллусной культуры и сырья методом тонкослойной хроматографии (ТСХ);
3. Провести сравнительное количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид (цинарозид);
4. Провести сравнительный количественный анализ гидроксикоричных кислот в пересчете на кофейную кислоту.

Материалы и методы. Для исследования использовали лиофильно высушенную культуру клеток лаванды узколистной, полученную в СПХФУ, и сырье, подготовленное компанией «Хорст» – «Лаванда колосковая – цветки и трава». После высушивания и измельчения травы лаванды были получены водно-спиртовые извлечения из сырья и каллусной культуры лаванды узколистной. Проводили общепринятые реакции на присутствие флавоноидов и дубильных веществ:

1. цианидиновая реакция (проба Шинода) – в три пробирки вводили по 1 мл фильтрата. В одну пробирку добавляли порошок магния, во вторую – цинка, в третью – только фильтрат. Затем во все три пробирки добавляли по 5-7 капель концентрированной хлористоводородной кислоты. Нагревали в течение 20 минут на водяной бане и фиксировали результат;
2. реакция с алюминия хлоридом – к 1 мл фильтрата добавляли 3-5 капель 5% спиртового раствора реактива. Наличие флавоноидов выражается в появлении лимонно-желтого окрашивания;
3. реакция со щелочью (NaOH) – к 1 мл фильтрата добавляли 3-5 капель 5% раствора реактива;
4. с солями железа (III) – к 1 мл фильтрата прибавляли 2-3 капли 1% раствора железа (III) хлорида.

Затем проводили качественные реакции на кумарины:

1. лактонная проба – в пробирку вводили 1 мл исходного раствора, добавляли 0,5 мл 10% раствора натрия или калия гидроксида, нагревали на кипящей водяной бане. После изменения окраски содержимое пробирки охлаждали, добавляли 4 мл дистиллированной воды, 10% раствор кислоты хлористоводородой до кислой реакции (по лакмусу).
2. реакция азосочетания – к 1 мл исходного раствора добавляли 3 мл раствора натрия гидроксида (0,1 М), нагревали на водяной бане, охлаждали и смешивали с 1 мл свежеприготовленного диазотированного раствора сульфаниловой кислоты.

Компонентный состав фенольных соединений изучали с помощью одномерной тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе н-бутанол: уксусная кислота: вода (4:1:2).

Количественное определение суммы флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид (цинарозид) [5]. Для этого измельченные образцы каллуса и сырья (1,0 грамм по точной навеске) помещали в колбу со шлифом на 250 мл, прибавляли 100 мл 70% спирта, затем нагревали на водяной бане в течение 60 минут с присоединенным обратным холодильником. Потери спирта от кипения возвращали. Затем, после фильтрования извлечения к 2,5 мл фильтрата добавляли 5 мл спиртового раствора алюминия хлорида (5%) и через 10 минут – 1 мл 3% уксусной кислоты. Доводили до метки в мерной колбе на 25 мл 70% спиртом, после этого перемешивали и проводили спектрофотометрию при длине волны 396 нм с раствором сравнения через 30 минут.

Содержание суммы флавоноидов (X, %) в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид (цинарозид) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m \cdot V_a \cdot (100 - W)}$$

где Ах – оптическая плотность исследуемого раствора;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения лютеолин-7-О-глюкозида с алюминия хлоридом в спирте 70% при 396 нм, равный 345;

m – масса навески исследуемого сырья, г;

Va – объем аликвоты, мл;

W – влажность, %.

Количественный анализ гидроксикоричных кислот проводили спектрофотометрическим методом в пересчете на кофейную кислоту [6]. Измельченное сырье 2,0 г помещали в колбу объемом 200 мл и добавляли 70 мл воды. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане на протяжении 15 минут. Экстракцию повторяли дважды. Экстракты охлаждали и фильтровали через бумажный фильтр. Извлечения количественно переносили в мерную колбу объемом 200 мл и доводили объем раствора водой до метки (раствор А).

В мерную колбу объемом 50 мл вносили 1 мл раствора А и доводили объем раствора 20 % этанолом до метки. Оптическую плотность полученного раствора измеряли при длине волны 325 нм, которая является аналитической для кофейной кислоты. Раствором сравнения служил 20 % этанол.

Результаты и обсуждение

Таблица 1 – Качественный анализ:

Реакция	Ожидаемый эффект реакции	Результат реакций для	
		каллусной культуры	растительного сырья
Реакция обнаружения дубильных веществ			
С желатина раствором 1 % в натрия хлорида растворе 10 %	Помутнение раствора или желтоватый осадок	Наблюдалось образование желтоватого осадка	Наблюдалось образование желтоватого осадка
Реакции отличия групп дубильных веществ			
Реакция с солями железа (III)	Черно-синее (гидролизуемые дубильные вещества) или чёрно-зелёное окрашивание (конденсированные дубильные вещества)	Наблюдалось чёрно-зелёное окрашивание	Наблюдалось чёрно-зелёное окрашивание
Реакции на присутствие флавоноидов			
Цианидиновая реакция	Розовое, оранжевое или красное окрашивание	Без изменений	Наблюдалось красное окрашивание
Реакция с алюминия хлоридом	Лимонно-желтое окрашивание	Наблюдалось желтое окрашивание	Наблюдалось темно-зеленое окрашивание
Реакция с аммиаком, натрия гидрокарбонатом, щелочью	Желтое окрашивание, переходящее при нагревании в оранжевое/красное	Наблюдалось красное окрашивание	Наблюдалось коричневое окрашивание
Реакции на присутствие кумаринов			
Лактонная проба	Появление осадка или помутнение раствора	Наблюдалось появление белого осадка	Наблюдалось появление белого осадка
Реакция азосочетания	Окрашивание от красно-оранжевого до вишнево-красного	Наблюдалось красновато-желтое окрашивание	Наблюдалось желтое окрашивание

Таблица 2 – Хроматограмма

Соединение	Rf	Окрашивание в видимом спектре	Окрашивание в УФ спектре (λ=254 нм)	Окрашивание после обработки алюминия хлоридом (видимый спектр)	Окрашивание после обработки алюминия хлоридом (УФ спектр)
Кверцитин	0,916	-	-	-	оранжевое
Рутин	0,680	Коричневое	чёрное	жёлтое	жёлтое
Апигенин	0,903	-	желтое	бледно-желтое	бледно-желтое
Лютеонин	0,894	Коричневое	ярко-желтое	ярко-желтое	ярко-желтое
Хлорогеновая кислота	0,850 0,630	-	голубое	темно-коричневое	голубое
Кофейная кислота	0,850	-	светло-голубое	темно-коричневое	голубое/флюоресцирующее

По результатам количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид для надземной части лаванды составило 3,6%, а для каллусной культуры – 1,39%.

По результатам количественного определения гидроксикоричных кислот в пересчете на кофейную кислоту было показано, что в надземной части лаванды узколистной содержится 1,35%, а в каллусной культуре – 0,43% гидроксикоричных кислот.

В ходе работы подтверждено наличие в каллусной культуре тех же групп БАВ полифенольной природы, что и в сырье, вначале используя различные качественные реакции, затем – посредством ТСХ. Отмечено, впрочем, снижение количества проверяемых веществ (апигенин, лютеонин, хлорогеновая кислота, кофейная кислота и проч.), исходя из снижения интенсивности окрашивания пятен, уменьшения их диаметра.

Это предположение подтверждено количественными определениями, по результатам которых очевидно примерно трехкратное снижение гидроксикоричных кислот в каллусе по сравнению с сырьем лаванды узколистной суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид – для надземной части лаванды составило 3,6%, а для каллусной культуры – 1,39%.

Такая разница позволяет допустить, что каллусная культура лаванды узколистной является перспективным источником фенольных соединений и интересным объектом для дальнейшего изучения.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.00.00. Химия

31.23.39. Кумарины, флавоноиды, антоцианины и родственные соединения

ЛИТЕРАТУРА

1. Krzysztof Śmigielski. Chemical Composition of Essential oil of Lavandula angustifolia Cultivated in Poland//Journal of essential oil-bearing plants JEOP. 2013. P. 338-347.

2. Lappin, G.J., Stride, J.D., Tampian, J. Biotransformation of monoterpenoids by suspension cultures of Lavandula angustifolia // Phytochemistry. 1987. Vol. 26(4). P. 995-7.

3. Бостанова Л.У. Разработка и оптимизация биотехнологических методов культивирования in vitro Lavandula angustifolia mill. с целью расширения исходного материала для селекции: дис.. канд. биол. наук. Ставрополь, 2006. 129 с.

4. Evaluation on bioactivities of total flavonoids from Lavandula angustifolia / Jun Zhao [et al.] // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2015. Vol. 28(4). P. 1245-1251.

5. МЗ РФ. Чабреца трава //Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 4. С. 6557-6566.

6. Митрофанова И.Ю., Яницкая А.В. Количественное определение гидроксикоричных кислот и динамика их накопления в траве девясила британского // Волгоградский научно-медицинский журнал. 2013. N 1. С. 24-25

SUMMARY

ANALYSIS OF POLYPHENOLIC COMPLEX OF LAVENDER CALLUS CULTURE (LAVANDULA ANGUSTIFOLIA L.)

Ivanov P.A., 3rd year undergraduate, **Khabarov V.A.**, 3rd year undergraduate
Academic advise: **Balaban L.V.,** Candidate of Biological Sciences, senior lecturer,
Povydysh M.N., Doctor of Biological Sciences, professor,
(ORCID: 0000-0002-7768-9059, ResearcherID: AAR-4392-2020)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: pavel.ivanov@spcpu.ru

As a result of the study, a comparative qualitative and quantitative analysis of the callus culture was carried out in relation to the raw material of the aerial part of the Lavandula angustifolia. The data obtained indicate the presence in the callus of the same groups of biologically active substances as in the raw material. According to the results of the quantitative determination of hydroxycinnamic acids in terms of caffeic acid, it was shown that in the aerial part of Lavandula angustifolia their content is 1.35%, and in the callus culture – 0.43%, the amount of flavonoids in terms of luteolin-7-O-glucoside – it was shown that in the aerial part of Lavandula angustifolia their content is 3,6%, and in the callus culture – 1,39%.

Keywords: *Lavandula angustifolia, callus culture, lavender herb, flavonoids, phenolic acids, thin-layer chromatography.*

REFERENCES

1. Krzysztof Śmigielski. Chemical Composition of Essential oil of Lavandula angustifolia Cultivated in Poland//Journal of essential oil-bearing plants JEOP. 2013. P. 338-347.

2. Lappin, G.J., Stride, J.D., Tampian, J. Biotransformation of monoterpenoids by suspension cultures of Lavandula angustifolia // Phytochemistry. 1987. Vol. 26(4). P. 995-7.

3. Bostanova, L.U. Development and optimisation of biotechnological in vitro cultivation methods for Lavandula angustifolia mill. aimed at increasing the source materials for selection: a thesis for a candidate degree in biological sciences: 03.00.23 / Bostanova, L.M. – Stavropol, 2006. – 129 p. (in Russian)

4. Evaluation on bioactivities of total flavonoids from Lavandula angustifolia / Jun Zhao [et al.] // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2015. Vol. 28(4). P. 1245-1251

5. Ministry of Health of the Russian Federation. Thyme Herb //State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII ed. Vol. 4 P. 6557-6566 (in Russian)

6. Mitrofanova I.Y., Yanitskaya A.V. Quantification of hydroxycinnamic acids and their accumulation dynamics in the Inula britannica herb // The Volgograd Scientific and Medical Journal. 2013. N 1. P. 24-25 (in Russian)

УДК 615.322:582

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (*SALVIA OFFICINALIS* L.) В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

Ильченко А.С., студ. 2 курса
Научные руководители: **Повыдыш М.Н.**, док. биол. наук, профессор,
Нечаева Е.А., канд. биол. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
Email: Aleksandra.ilchenko@spcpu.ru

В результате проведенных исследований установлено наличие фенольных соединений разных групп в каллусной культуре и высушенных листьях шалфея лекарственного. Аналитическими методами определены некоторые показатели качественного и количественного состава исследуемого сырья.

Ключевые слова: каллусная культура, шалфей, флавоноиды, дубильные вещества, хлорогеновая кислота, рутин.

Salvia officinalis L. – полукустарник семейства яснотковых – *Lamiaceae*. Известен широкий спектр фармакологического использования шалфея лекарственного, включающий противовоспалительное, антиоксидантное, вяжущее, бактерицидное действие, благодаря богатому содержанию полифенольных соединений, терпеноидов, стероидов [1,2].

Препараты, полученные из растительного сырья, имеют большое значение в фармацевтике, так как обладают достаточной эффективностью, доступностью и безопасностью. Важное значение имеет разработка технологии получения из природного сырья биологически активных соединений фенольной природы, к которым относятся флавоноиды, фенольные кислоты, кумарины, дубильные вещества, представляющие собой гетерогенную группу полифенольных соединений. Большой интерес представляет установление природы и количественного содержания биологически активных соединений данной группы [3].

Каллусные культуры растений могут являться альтернативным источником ценных биологически активных веществ растительного происхождения, поэтому изучение их фитохимического состава является перспективным направлением для оценки их использования в фармацевтической промышленности [4].

Целью настоящей работы являлась определение качественного и количественного состава каллусной культуры клеток и листьев шалфея лекарственного.

Задачами проведенного исследования являлись:

1. Изучение качественного состава высушенных листьев и культуры клеток шалфея лекарственного;
2. Количественное определение обнаруженных в составе исследуемого сырья биологически активных соединений.

В качестве объектов исследования использовали лиофильно высушенные культуры клеток и высушенные листья шалфея лекарственного.

Для приготовления водно-спиртовых извлечений, используемых для проведения качественных реакций на присутствие флавоноидов и их хроматографического исследования, 2 г измельченного сырья помещали в колбу вместимостью 100 мл со шлифом и добавляли 20 мл 70% этанола. Колбу соединяли с обратным холодильником и нагревали на кипящей водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения жидкость фильтровали через бумажный фильтр.

При проведении качественных реакций на присутствие флавоноидов в извлечениях из сырья и каллусной культуры использовали порошок магния и концентрированную хлористоводородную кислоту (цианидиновая проба), 5% спиртовой раствор хлорида алюминия, 5% раствор гидрокарбоната натрия, 1% раствор железа (III) хлорида.

Для качественного анализа фенольных соединений использовали метод одномерной тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках «Сорбфил» в системе н-бутанол-уксусная кислота-вода 4:1:2. На на стартовую линию хроматографической пластинки наносили исследуемые извлечения и растворы свидетелей. Хроматографировали, пока фронт растворителя не дойдет 3 см от верхнего края пластинки. Хроматограмму высушивали до испарения растворителя и просматривали в УФ-свете без предварительного проявления, а затем после проявления алюминия хлоридом. В качестве стандартных образцов использовали спиртовые растворы рутина, кофейной кислоты, хлорогеновой кислоты, гиперозида, лютеолина, апигенина.

Количественное определение гидроксикоричных кислот проводили по методике ФС.2.5.0019.15 «Крапивы двудомной листья» в пересчете на хлорогеновую кислоту. Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих через сито с отверстиями размером 1 мм. Около 0,5 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 50 мл спирта 70 %. Колбу с содержимым присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. После охлаждения извлечение фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Экстрагирование повторяли еще раз в описанных выше условиях. Полученное извлечение фильтровали в ту же мерную колбу. Объединенные извлечения в мерной колбе доводят спиртом 70 % до метки и перемешивали (раствор А). 2,0 мл полученного раствора А переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивали (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряли на 10 спектрофотометре СФ-2000, при длине волны 330 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения

использовали спирт 96 %. Содержание суммы оксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{A_{1см}^{1\%} \cdot a \cdot 2 \cdot (100 - W)}$$

где А – оптическая плотность раствора Б;
$A_{1см}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при 330 нм, равный 507;
a – навеска сырья, г;
W – влажность сырья, %

Количественное определение флавоноидов проводили по стандартной методике в пересчете на рутин. 0,5 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 25 мл 40% этилового спирта. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 15 минут с момента закипания содержимого колба. Колбу охлаждали до комнатной температуры. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр в колбу. Затем 0,5 мл фильтрата помещали в кювету, прибавляли 1 мл 2% раствора алюминия хлорида и объем раствора доводили 40% этиловым спиртом до метки. Через 30 минут измеряли оптическую плотность раствора на фотоэлектроколориметре В-1200 ТМ Эковью, при длине волны 440 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве сравнения раствор, состоящий из 0,5 мл извлечения, доведенного в кювете до метки 40% этиловым спиртом. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{C \cdot 25 \cdot 100}{m} \cdot \frac{100}{100 - w}$$

где *C* – содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в 0,5 мл колориметрируемого раствора, найденное по калибровочному графику, в мг/мл
m – масса сырья в граммах;
w – влажность сырья, %

В водно-спиртовых извлечениях каллусных культур и сырья шалфея лекарственного при проведении качественных реакций было выявлено присутствие флавоноидов и дубильных веществ. При добавлении фильтрату порошка магния и концентрированной хлористоводородной кислоты наблюдалось красное окрашивание в пробирке, содержащей извлечения сырья, и розово-оранжевое в пробирке с извлечениями каллусной культуры после небольшого нагревания (цианидиновая проба), что говорит о значительном содержании количества флавоноидов в сырье и меньшем в каллусной культуре.

При добавлении к фильтратам раствора железа (III) хлорида наблюдали темно-зеленое окрашивание в обеих пробирках, из чего можно сделать вывод о наличии флавоноидов с орто-диоксигруппировкой в кольце.

При добавлении к фильтратам раствора хлорида алюминия наблюдали лимонно-желтое окрашивание в пробирке с экстрактом сырья, а в пробирке с каллусной культурой видимых изменений не произошло, что говорит о наличии флавоноидов, содержащих в положении C_3, C_5 ОН-группу, в извлечениях сырья и об их отсутствии или незначительном содержании в извлечениях каллусной культуры.

При добавлении к фильтратам раствора гидрокарбоната натрия наблюдалось желтое окрашивание, которое в пробирке с извлечением каллусной культуры темнело, что говорит о наличии флавонов, флавонолов, флаванонов и флаванонолов в обоих образцах.

По данным ТСХ-анализа в исследуемом извлечении сырья шалфея лекарственного установлено наличие 6 пятен, в извлечении каллусной культуры – 3 пятна. Сопоставление величин Rf и характера флюоресценции пятен позволило идентифицировать в траве и каллусной культуре рутин (пятно №4) и хлорогеновую кислоту (пятно №3). Результаты ТСХ-анализа представлены в таблице №1.

Таблица 1 – Данные ТСХ-анализа.

Исследуемые пятна	Окраска пятен		Значение Rf
	Видимый свет	УФ	
Извлечения сырья			
№1	светло-желтая	коричневая	0,28
№2	светло-желтая	коричневая	0,42
№3	желтая	голубая	0,55
№4	светло-желтая	коричневая	0,58
№5	серо-коричневая	желто-серая	0,80
№6	светло-коричневая	желто-коричневая	0,86
Извлечения каллусной культуры			
№1	светло-желтая	желтая	0,54

Исследуемые пятна	Окраска пятен		Значение Rf
	Видимый свет	УФ	
№2	светло-желтая	желтая	0,61
№3	желто-коричневая	желто-серая	0,80
Стандартные образцы			
кофейная кислота	серо-коричневая	ярко-голубая	0,85
хлорогеновая кислота	желтая	голубая	0,55
гиперозид	желтая	желто-коричневая	0,68
лютеолин	оранжевая	коричневая	0,85
апигенин	желтая	коричневая	0,85
рутин	желтая	коричневая	0,58

Идентификации рутина и хлорогеновой кислоты в результате хроматографического анализа позволила провести анализ суммы флавоноидов и гидроксикоричных кислот по указанным выше методикам.

Результаты, полученные при определении суммы флавоноидов и гидроксикоричных кислот, показали, что содержание этих веществ в извлечениях из сырья больше чем в извлечениях каллусной культуры. Так, содержание гидроксикоричных кислот в листьях составило 6,22%, а в культуре – 4,45%. Содержание суммы флавоноидов в листьях составило 1,08%, в культуре – 0,64%.

В результате хроматографического исследования в сырье и каллусной культуры шалфея лекарственного установлено присутствие флавоноидов с орто-диоксигруппировкой. Обнаружено присутствие в исследуемых образцах рутина и хлорогеновой кислоты. Содержание гидроксикоричных кислот в сырье составило 6,22%, в культуре – 4,45%. Содержание суммы флавоноидов в сырье составило 1,08%, в культуре – 0,64%. Показана возможность использования каллусных культур как альтернативного источника ценных биологически активных веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jambor T., Arvay J., Ivanisova E., Tvrda E., Kovacik A., Greifova H., Lukac N. Investigation of the properties and effects of *Salvia officinalis* L. on the viability, steroidogenesis and reactive oxygen species (ROS) Production in TM3 Leydig cells in Vitro //Physiol. Res. 69. 2020. P. 661-673.

2. Ghorbani A., Esmaeilizadeh M. Pharmacological properties of Salvia officinalis and its components// Journal of Traditional and Complementary Medicine. 2017. P. 433-440.

3. Косман В.М., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Макаров В.Г. Изучение состава биологически активных веществ сухих экстрактов эхинацеи узколистной и шалфея лекарственного// Химия растительного сырья. 2012. С. 153 – 160.

4. Thomas Efferth. Biotechnology Applications of Plant Callus Cultures// Engineering. 2019 P. 50-59

5. Крапивы двудомной листья. ФС.2.5.0019.15. Urticae dioicae folia. Взамен ГФ XI, вып. 2, ст. 25. (изм. № 1 от 14.11.1996).

SUMMARY

COMPARATIVE RESEARCH PHENOLIC COMPOUNDS OF SALVIA OFFICINALIS L. IN CULTURE IN VITRO

Ilchenko A.S., 2nd year student
Academic advise: **Povydysh M.N**. doctor of biological sciences, professor;
Nechaeva E.A., Candidate of Biological Sciences, docent
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
Email: Aleksandra.ilchenko@spcpu.ru

As a result of the research, the presence of phenolic compounds of different groups in the callus culture and dried leaves of Salvia officinalis L. was established. Analytical methods determined the qualitative and quantitative composition of the studied raw materials.

Keywords: *callus culture, sage, flavonoids, tannins, chlorogenic acid, rutin.*

REFERENCES

1. Kosman VM, Pozharitskaya ON, Shikov AN, Makarov VG. Study of the composition of biologically active substances of dry extracts of Echinacea angustifolia and Salvia officinalis L.. Journal of Plant Chemistry; 2012; 153 – 160

2. T Jambor, J Arvay, E Ivanisova, E Tvrda, A Kovacik, H Greifova, N Lukac. Investigation of the Properties and Effects of Salvia Officinalis L. on the Viability, Steroidogenesis and Reactive Oxygen Species (ROS) Production in TM3 Leydig Cells in Vitro. Physiol. Res. 69; 2020; 661-673.

3. Ghorbani A, Esmaeilizadeh M. Pharmacological properties of Salvia officinalis and its components. Journal of Traditional and Complementary Medicine. 2017; 433-440.

4. Thomas Efferth. Biotechnology Applications of Plant Callus Cultures. Engineering. 2019; 50-59
5. Stinging nettle leaves. FS.2.5.0019.15. Urticae dioicae folia. Instead of GF XI, no. 2, Art. 25. (amendment No. 1 dated 11/14/1996).

УДК 661.12

ПЕРСПЕКТИВА ЭКОЛОГИЧНОЙ УТИЛИЗАЦИИ НЕПРИГОДНЫХ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Кадочникова А.Г., студ. 3 курс
Научный руководитель: **Яковлев И.Б.**, д. фарм. н., проф., зав. кафедрой фармации (ORCID: 0000-0002-2928-1411)
Марийский государственный университет
424000, г. Йошкар-Ола, пл. Ленина, д. 1, Российская Федерация
E-mail: Anastasia.kad.8@gmail.com

Фармацевтические отходы наносят существенный вред экологической обстановке, в то время как единой системы безопасной утилизации непригодных к медицинскому использованию лекарственных средств не существует. Фармакологически активные компоненты попадают в общие твердые бытовые отходы или канализационную сеть, впоследствии влияя на численность популяций животных и здоровье людей. В настоящее время существует острая необходимость в создании системы безопасной биотехнологической инактивации в составе полного цикла существования лекарственных средств.

Ключевые слова: *утилизация, фармацевтические отходы, лекарственные средства, экология, рациональное использование, безопасность.*

В связи с рядом случаев влияния следов лекарственных препаратов на жизнедеятельность и численность популяций некоторых видов животных в конце 1990-х годов возникла необходимость изучения содержания фармацевтических препаратов и их метаболитов в природе. Содержание в воде эстрогенов вносит изменения гормональную систему некоторых видов рыб, диклофенак, обнаруженный в тушах крупного рогатого скота вызвал уменьшение численности стервятников, содержание следов антидепрессантов повлияло на жизнедеятельность вида креветок [6]. Поступление микродоз антибиотиков в организм человека в перспективе способно вызвать резистентность, что значительно затруднит лечение известных заболеваний [1].

Население мира утилизирует лекарственные средства, непригодные для применения через канализационную сеть, либо вместе с твердыми бытовыми отходами. В ходе проведенных опросов было выяснено, что часть людей придерживается активной позиции, самостоятельно сжигая фармацевтические отходы с последующим захоронением за пределами населенных пунктов. За рубежом особенно популярно избавление от потенциально опасных в домашних условиях непригодных фармацевтических субстанций путем смыва в канализационную сеть. Организации, ведущие деятельность в сфере обращения лекарственных средств, заключают договоры с лицензированными предприятиями, в задачи которых входит утилизация препаратов фармацевтической промышленности. В РФ существуют компании, которые занимаются сбором, транспортировкой и утилизацией медицинских, в том числе и фармацевтических отходов путем сжигания, пиролиза и захоронения. Компания «Экотрак» заявляет об экологичной утилизации контрафактной продукции, включая фармацевтические отходы, путем включения их в процесс производства цемента. Подробной информации об использовании лекарственных средств в программе утилизации данной компании не выявлено. Из имеющихся данных о деятельности таких предприятий можно сделать вывод об отсутствии единой системы переработки лекарственных средств (ЛС) без образования активных веществ, попадающих в окружающую среду [7].

В настоящее время на территории РФ наблюдается отсутствие регламентированных процессов изъятия из обращения непригодных к применению лекарственных средств, сбора их у населения, сроков уничтожения, критериев сортировки, мест хранения и экологически безопасных способов утилизации.

Важнейшим этапом в должном регулировании обращения с фармацевтическими отходами является усовершенствование Государственной политики в сфере здравоохранения, охраны окружающей природной среды, обращения с опасными отходами путем создания или изменения нормативно-правовых актов. Несмотря на фактическую обособленность фармацевтической деятельности от медицинской, а также её важности для современного общества, остается без внимания вопрос законодательного регулирования [2].

Целью работы является разработка характеристики системы утилизации непригодных к использованию лекарственных средств.

По данным проведенного социологического опроса самыми распространенными в домашних аптечках населения являются твердые лекарственные формы – таблетки, а также жидкие лекарственные формы – растворы для местного применения и другие.

Во многих странах, также некоторых регионах Российской Федерации существует практика установки пунктов сбора фармацевтических отходов, как правило, на территории медицинских учреждений.

Рисунок 1. Пункт по сбору фармацевтических отходов в социально-экологическом учреждении «Центр экологического и социального развития» в Барановичах. (Беларусь)

Отечественные предприятия, имеющие разрешение на утилизацию лекарственных средств, используют методы, не гарантирующие безопасность для окружающей природной среды, а также каждое из них определяет свою инструкцию по переработке фармакологически активных субстанций. По данным BMC Public Health , статья об утилизации фармацевтических отходов в Кабуле: В практике существуют пробелы, поэтому необходима надежная, безопасная и рентабельная программа управления фармацевтическими отходами.

Предлагаемое решение – создание комплекса мероприятий, рассчитанного на весь цикл существования фармакологически активных веществ.

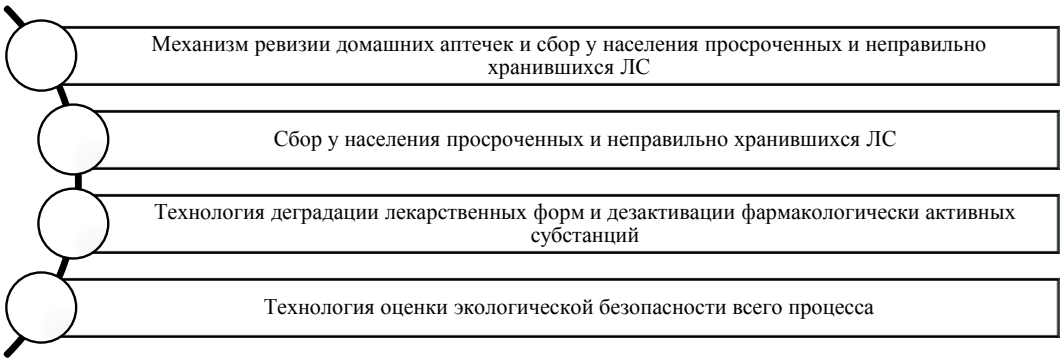


Рисунок 2. Дизайн системы экологичной утилизации непригодных к использованию лекарственных средств

Комплекс мероприятий предполагает оценку количества и качества непригодных к применению ЛС, определение количественного содержания фармакологически активных компонентов в продуктах химической и биологической деградации, оценку современными методами концентрации опасных веществ в почве, растениях, воде с использованием современных показателей.

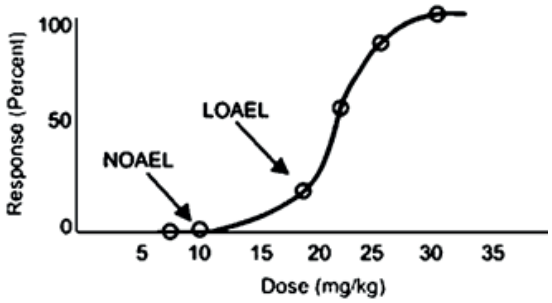


Рисунок 3. Современные показатели экологической безопасности химических соединений. (NOAEL (No observable adverse effect level) – уровень воздействия, при котором не наблюдается увеличение частоты/силы неблагоприятного эффекта; 2) LOAEL (Lowest observable adverse effect level) – максимально низкий уровень воздействия, при котором наблюдается неблагоприятный эффект; 3) PDE(Permissible daily exposure) – допустимое ежедневное воздействие)

Перспективами для дальнейших исследований являются разработка стандартных операционных процедур, изучение влияния на дезактивацию фармакологически активных субстанций метаболизма растений, грибов, микроорганизмов, а также создание технологических карт по каждому процессу.

Таким образом, система экологичной утилизации непригодных к использованию лекарственных препаратов, должна представлять собой модульную технологию, качество которой обеспечивается соблюдением стандартных операцион-

ных процедур (СОП), выполняться в соответствии с технологическими картами (ТК) и, в конечном итоге, являться решением, отвечающим современным требованиям, принятым в фармации.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.00 Фармакология

87.01.11 Современное состояние и перспективы развития окружающей среды и экологии человека

87.15.21 Влияние прочих источников загрязнения на окружающую среду и контроль загрязнения

ЛИТЕРАТУРА

1. Элкок С. Кто оплатит утилизацию? // Твердые бытовые отходы. 2011. N 8. С. 41

2. Дремова Н.Б. Фармацевтическая помощь как новая форма обслуживания населения // Аптечный бизнес. 2007. N 1.

3. Сборник основных нормативных актов по фармацевтической деятельности (Доп. 7). СПб., 2003. С. 481-483.

4. Лосенкова С.О. Исследование перспективности отечественных научных разработок в области фармацевтической технологии // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2020. Т. 19. N 4. С. 134-146.

5. Удальцова Г.И. Пути решения проблемы обеспечения безопасности уничтожения опасных веществ за рубежом // Рос. хим. журн. 1993. Т. 27. N 3. С.43-50.

6. Вихарева Е.В. Научно-методологический подход к утилизации фармацевтических отходов на основе биотехнологий и математического моделирования // Российский журнал биомеханики. 2008. Т.12. №3(41). С.15-23

7. Лосенкова С.О. Исследование перспективности отечественных научных разработок в области фармацевтической технологии // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2020. Т.19. N 4. С. 134-146.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF AN ECO-FRIENDLY DISPOSAL SYSTEM FOR UNUSABLE MEDICINES

Kadochnikova A.G., 3th year student

Academic advice: **Yakovlev I.B.,** Doctor of Pharmaceutical Sciences, Head of the Department of Pharmacy, Professor (ORCID: 0000-0002-2928-1411)

Mari State University,

424000, Republic of Mari El, Yoshkar-Ola, Lenin Square, 1, Russian Federation

E-mail: anastasia.kad.8@gmail.com

Pharmaceutical waste causes significant harm to the environmental situation, while there is no unified system for the safe disposal of medicines unsuitable for medical use. Pharmacologically active components enter the general solid household waste or sewer network, subsequently affecting the number of animal populations and human health. Currently, there is an urgent need to create a system of safe biotechnological inactivation as part of the full cycle of existence of medicines.

Keywords: *recycling, pharmaceutical waste, medicines, ecology, rational use, safety.*

REFERENCES

1. Elcock S. Who pays for disposal? // Solid household waste. 2011. N 8. P. 41

2. Dremova N.B. Pharmaceutical assistance as a new form of public service // Pharmacy business. 2007. N 1.

3. Collection of basic regulations on pharmaceutical activity (Supplement 7). St. Petersburg, 2003. P. 481-483.

4. Losenkova S. O. The study of the prospects of domestic scientific developments in the field of pharmaceutical technology // Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. 2020. Vol .19(4). P. 134-146

5. Udaltsova G.I. Ways to solve the problem of ensuring the safety of destruction of hazardous substances abroad / G.I. Udaltsova, V.I. Kholstov, S.G. Grigoriev //Russian Chemical Journal. 1993. Vol. 27(3). P.43-50.

6. Vikhareva E.V. Scientific and methodological approach to recycling pharmaceutical waste based on biotechnology and mathematical modeling // Russian Journal of Biomechanics. 2008. Vol. 12(3)(41). P.15-23

7. Losenkova S. O. The study of the prospects of domestic scientific developments in the field of pharmaceutical technology // Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. 2020. Vol .19(4). P. 134-146

УДК 54:543.6

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ И МАГНИЯ В ГОТОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Киреева М.И., студ. 4 курса
Научный руководитель: **Никоноров В.В.**, канд. химических наук, доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: mariya.kireeva@spcpu.ru

Работа посвящена определению содержания кальция и магния в готовых лекарственных средствах с использованием метода капиллярного электрофореза.

Многие лекарственные средства, в основном витаминно-минеральные комплексы, содержат кальций и магний. Причиной этому является чрезвычайно высокая потребность организма человека в этих элементах. Анализ содержания данных веществ важен и может быть осуществлен различными методами.

Ключевые слова: *капиллярный электрофорез, кальций, магний, готовые лекарственные средства (ГЛС).*

Капиллярный электрофорез – это метод анализа многокомпонентных проб, использующий электромиграцию ионов и других заряженных частиц и электроосмос для разделения и определения компонентов. Скорость миграции определяется электрофоретической подвижностью компонентов, которая напрямую связана со строением молекулы.

Цель работы – определить возможность использования метода капиллярного электрофореза для анализа готовых лекарственных средств на содержание кальция и магния.

В соответствии с целью, были поставлены следующие задачи:

1) Изучить основные методики определения кальция и магния в готовых лекарственных средствах на основе литературных данных.

2) По полученным данным провести сравнение методов.

3) Оценить возможность использования прибора «КАПЕЛЬ 105» для проведения анализа многокомпонентного препарата, содержащего одновременно кальций и магний.

Были изучены основные методы анализа и проведено их сравнение по ряду характеристик. На основании сравнения выявлено, что капиллярный электрофорез является оптимальным вариантом исследования ионов кальция и магния, а также обладает следующими преимуществами: возможность одновременного совместного определения нескольких ионов, простота подготовки пробы, экспрессность, высокая эффективность разделения, незначительные затраты времени на анализ, экономичность.

Практическое определение ионов кальция и магния проводили с использованием прибора капиллярного электрофореза «Капель-105» с немодифицированным кварцевым капилляром, ведущим электролитом, содержащим в качестве хромофорного реагента бензимидазол, pH раствора 5.2-5.3 создавался винной кислотой.

Качественное определение проводили сравнением времен миграции стандартных образцов и пробы с использованием диодно-матричного детектора, с целью повышения достоверности идентификации.

Количественное определение аналитов в лекарственном средстве осуществляли по методу градуировочного графика с использованием метода внешнего стандарта и многоточечной градуировки.

Условия электрофоретического анализа:

• ввод пробы: гидродинамический при давлении 30 мбар в течение 5 с;
• температура термостата: 25°С;
• напряжение 20 кВ;
• детектирование (диодная матрица): 210 нм (длина волны сравнения) и 350 нм (рабочая длина волны).

Реактивы и оборудование:

• Мерные колбы ёмкостью 50,0 мл – 2 шт.
• Мерные колбы емкостью 25.0 мл – 5 шт.
• Стеклянная пипетка на 5.0 мл – 1 шт.
• Автоматический дозатор 1000 мкл (1,0 мл) – 1 шт.
• Автоматический дозатор на 200 мкл (0,2 мл) – 1 шт.
• Воронка стеклянная – 1 шт,
• Фильтр «синяя лента» – 1 шт
• Пробирки Эппендорфа с крышками – 10 шт
• Готовые стандартные образцы ионов натрия, калия, магния и кальция 1.0 г/л
• Раствор ведущего электролита:

a. 10 мМ бензимидазол
b. 5.0 мМ винная кислота
c. 0.1 М соляная кислота

Приготовление исследуемого раствора.

Таблетку лекарственного препарата взвешивали, массу фиксировали. Таблетку растирали в агатовой ступке. Точную навеску 0.3 г помещали в мерную колбу на 50 мл, приливали 5.0 мл 0.1 М соляной кислоты, ~ 30 мл дистиллированной воды, закрывали колбу пробкой и ставили в УЗ-баню на 10 мин. По окончании этого времени, доводили раствор в колбе

до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивали. Часть раствора фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 или 0.45 мкм. 1,0 мл фильтрата автоматическим дозатором помещали в мерную колбу на 50 мл и доводили до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивали.

Градуировочные растворы были приготовлены в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 – Градуировочные растворы.

№ раствора	Объем стандартного раствора катионов	Концентрация катионов, С мг/л
1	0,5	2
2	1,0	4
3	1 ,5	6
4	2,0	8
5	2,5	10

После построения градуировочного графика с использованием ПО «Мультихром для Windows» осуществили градуировку прибора и проступили к анализу пробы лекарственного препарата результаты, которого расположены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты определения катионов в исследуемом растворе.

Катион	Концентрация в исследуемом растворе				Содержание в таблетке m, мг
	Концентрация, С, мг/л			$C_{ср}$, мг/л	
Калий	1,841	1,336	1,657	1,611	11,01
Натрий	0,465	0,594	0,568	0,542	3,71
Магний	2,555	3,135	2,981	2,890	19,76
Кальций	2,496	3,167	2,891	2,851	19,50

В ходе анализа получена электрофореграмма (рис. 1) многокомпонентного лекарственного препарата, содержащего ионы калия, натрия, магния, кальция.

На полученной электрофореграмме идентифицированы пики с высоким разрешением, которое демонстрирует достаточно высокую эффективность разделения компонентов смеси.

Качественное определение проведено путём сравнения времен миграции пробы со стандартными растворами градуировки. Количественное содержание идентифицированных ионов найдено по калибровочному графику.

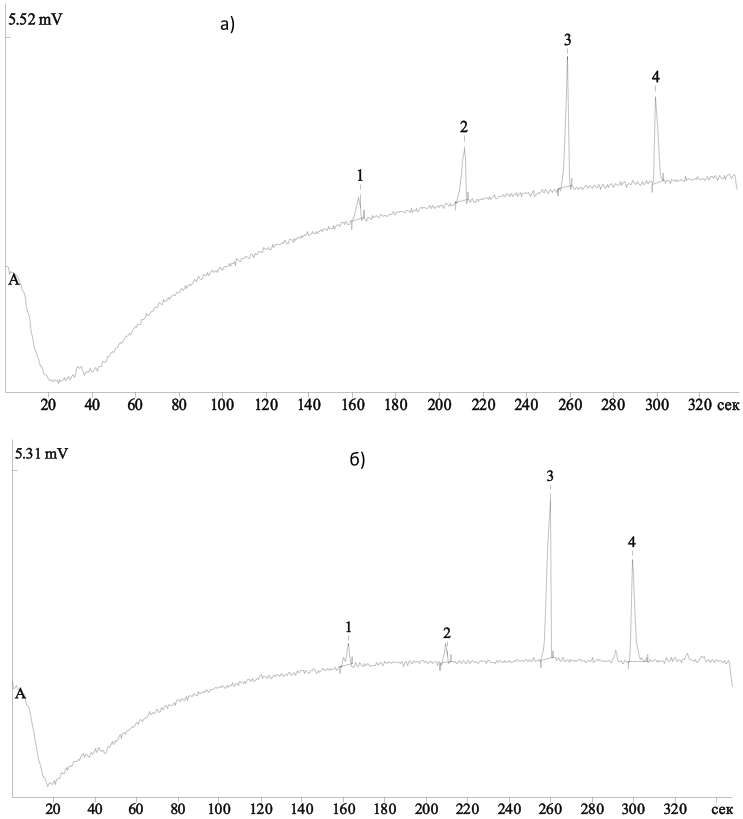


Рисунок 1. Электрофореграмма определения ионов многокомпонентного лекарственного препарата: а) электрофореграмма градуировочного раствора, концентрация каждого компонента 1мг/л; б) электрофореграмма пробы. Последовательность обнаружения ионов: 1 – калий, 2 – натрий, 3 – магний, 4 – кальций

На основании литературного обзора выбран оптимальный метод анализа ГЛС на содержание ионов кальция и магния – капиллярный электрофорез, приведены условия проведения опыта. Практически проведено определение ионов кальция и магния в многокомпонентном ГЛС на приборе «Капель105». Подтверждена возможность использования прибора капельного электрофореза «Капель 105» для анализа многокомпонентных препаратов содержащих одновременно ионы кальция и магния.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богачук М.Н., Передеряев О.И., Раменская Г.В. Определение водорастворимых витаминов в поливитаминных препаратах методом капиллярного зонального электрофореза. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2011. N 9. С. 14-22.

2. Езерская А.А. Капиллярный электрофорез: основные принципы, применение в фармацевтическом анализе // Вестник фармации. 2019. N 1(83). С. 35-44.

3. Комарова Н.В. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ». СПб.: Веда, 2006. 212 с.

4. Отто М. Современные методы аналитической химии. 3-е изд. М.: Техносфера, 2008. 544 с.

5. Шелехова Н.В. Капиллярный электрофорез – высокоэффективный аналитический метод исследования состава сложных биологических сред // Пиво и напитки. 2017. N 2. С. 34-38.

SUMMARY

DETERMINATION OF CALCIUM AND MAGNESIUM IN READY-MADE MEDICINES BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Kireeva M.I., 4th year student
Academic advisor: **Nikonorov V.V.**, Candidate of chemical sciences
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: mariya.kireeva @spcpu.ru

The work is devoted to the determination of the content of calcium and magnesium in ready-made medicines using the method of capillary electrophoresis. Many medicines, mainly vitamin and mineral complexes, contain calcium and magnesium. The reason for this is the extremely high need of the human body for these elements. The analysis of the content of these substances is important and can be carried out by various methods.

Keywords: *capillary electrophoresis, calcium, magnesium, ready-made medicines.*

REFERENCES

1. Bogachuk M.N., Perederyev O.I., Ramenskaya G.V. Water-soluble vitamins determination in multivitamin drugs by capillary zone electrophoresis 2011. N 9. P. 14-22. (in Russian)

2. Yezerskaya A.A. Capillary electrophoresis: basic principles, application in pharmaceutical analysis // Bulletin of Pharmacy. 2019. Vol. 1(83). P. 35-44. (in Russian)

3. Komarova N.V., Kamentsev Y.S. Prakticheskoe rukovodstvo po ispol'zovaniyu sistem kapillyarnogo elektroforeza «KAPEL». Saint Petersburg: Veda, 2006. 212 p. (in Russian)

4. Otto M. modern methods of analytical chemistry. 3 ed. M., 2008. 544 p. (in Russian)

5. Shelekhova N.V. Sistema avtomatizirovannogo monitoringa kachestva i bezopasnosti alkogol'noj produkcii metodami kapillyarnogo elektroforeza [System of automated monitoring of quality and safety of alcoholic beverages by methods of capillary electrophoresis]. Proizvodstvo spirta i likerovodochnykh izdeliy [Production of alcohol and alcoholic beverages]. 2012. No 4. P. 20-22 (in Russian)

УДК 543.2

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИСПЫТАНИЯ АФС ЭТРАВИРИН ПО ПОКАЗАТЕЛЮ «ВОДА»

Клепиков[1] М.С., соискатель ученой степени кандидата фармацевтических наук
Руководитель: **Никитина[2] Т.Г.,** кандидат химических наук, доцент
[1] ООО «Балтфарма», 197350, г. Санкт-Петербург, дорога на Каменку, д.74, литера А
отдел аналитической разработки
[2] Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.14, лит А, Российская Федерация
E-mail: klepikovm91@gmail.com

В работе рассматривается разработка методик испытаний по показателю «Вода» АФС Этравирин методом К. Фишера с применением волюметрического и кулонометрического титрования. Описан подход к подбору оптимальных навесок

испытуемого образца, выбор титранта и его титра, состав растворителей для анализируемых образцов, обеспечивающий получение воспроизводимых результатов. Показана техника выполнения кулонометрического и волюметрического титрования. Приведено сравнение результатов двух методов.

Ключевые слова: *Этравирин, кулонометрическое титрование, волюметрическое титрование, метод К. Фишера.*

Этравирин – активная фармацевтическая субстанция, относящаяся к современным лекарственным противовирусным препаратам, применяющихся для лечения ВИЧ-инфекции [1]. По химической природе Этравирин является производным пиримидина (рис. 1). Согласно ГФ 14 одним из обязательных показателей контроля качества для любой АФС является «Вода». За основу были взяты два способа определения остаточного содержания воды методом К. Фишера, описанные в ОФС.1.2.3.0002.15 [2] – кулонометрическое (метод 2, микрометод) и волюметрическое титрование (метод 1, полумикрометод).

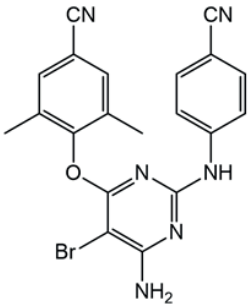


Рисунок 1. Структурна формула Этравирина

Волюметрическое титрование воды основано на применении реактива К. Фишера. В качестве титранта, состоящего из йода, серы диоксида и пиридина (или имидазола) ОФС.1.2.3.0002.15 [2]. Уравнение реакции:

$$H_2O + SO_2 + I_2 + 3C_5H_5N \rightarrow 2C_5H_5N \cdot HI + C_5H_5NSO_3 \qquad (1)$$
$$C_5H_5NSO_3 + CH_3OH \rightarrow C_5H_5N \cdot HSO_4CH_3$$

В большинстве случаев титрование проводят в среде метанола, что следует из уравнения реакции, однако, этравирин мало растворим в метаноле. Согласно ГФ 14, при определении воды в твердых веществах, нерастворимых в метаноле, тонкоизмельчённую навеску взбалтывают с метанолом, после чего титруют [2]. В процессе апробации методики было выявлено, что титрование этравирина вышеуказанным способом приводит к неточным результатам, обладающих плохой повторяемостью.

Кулонометрическое титрование (микрометод) применяется для определения воды от 10 мкг до 10 мг [3, стр. 32]. При вводе пробы в ячейку с анодным раствором необходимо минимизировать взаимодействие анодного раствора с атмосферной влагой [3, стр. 20]. Оптимальным способом ввода анализируемый пробы является ее ввод в виде раствора с помощью иглы через септу (мембрану). В силу вышесказанного актуальным является разработка методик количественного определения воды методом К. Фишера волюметрическим и кулонометрическим методами, а также техники выполнения анализов.

Кулонометрическое титрование проводили с использованием кулонометра Metrohm 899, оснащенного однокамерной ячейкой (Швейцария).

Волюметрическое титрование осуществляли с помощью волюметрического титратора Metrohm 915 (Швейцария).

Hydranal-Composite 1 (Однокомпонентный реагент для волюметрического титрирования по К. Фишеру, титр 1 мг/мл, производитель: Honeywell); Hydranal coulomat AG, *N*-метилпирролидон ChemSolute (99,5 %), метанол Fisher Chemical (для ВЭЖХ).

В процессе разработки технологии производства АФС Этравирин были синтезированы образцы, для которых необходимо было провести анализ по показателю «Вода». С целью получения более расширенного объема данных, определение остаточного содержания воды провели с использованием двух методов, кулонометрического и волюметрического титрования согласно ОФС.1.2.3.0002.15. Данные эксперименты показали, что результаты анализа, полученные методом волюметрического титрования с использованием метанола в качестве растворителя, характеризуются плохой повторяемостью (высоким значением относительного стандартного отклонение (RSD, %)). Причиной невоспроизводимости результатов является плохая растворимость этравирина в метаноле и низкое содержание воды в образцах. Для доказательства данного утверждения было решено подобрать вспомогательный растворитель, добавление которого к метанолу позволило бы хорошо растворять навеску этравирина, взятую для анализа, а также подобрать оптимальную массу навески этравирина для получения воспроизводимых результатов. В процессе разработки подобраны вспомогательный растворитель и оптимальные массы навесок, апробированы две методики определения содержания воды методами кулонометрического и волюметрического титрования.

Результаты определения содержания воды, приведенные далее для двух методов, найдены с использованием одного образца.

Разработка методики определения содержания воды методом кулонометрического титрования по К. Фишеру (микрометод).

Исходя из литературных данных [3, стр. 32], использование кулонометрического титрования позволяет получить результаты, характеризующиеся высокой точностью и воспроизводимостью при содержании воды в пробе 100 мкг. Для расчета необходимой навески было сделано предположение, что образцы этравирина содержат воду в количестве примерно 0,05 % и, исходя из этого, необходимая навеска составила 200 мг образца этравирина на одно титрование.

Согласно требованиям [4], прямое введение твердого вещества в реакционный сосуд (кулонометрическую ячейку) должно проводиться только в исключительных случаях, например, если не найден подходящий растворитель. В качестве растворителя образцов этравирина был выбран *N*-метилпирролидон, в котором этравирин хорошо растворяется. Для возможности проведения испытания одного исследуемого раствора в трехкратной повторности, было целесообразным приготовить 5 мл раствора образца с учетом объема вводимой пробы в ячейку титратора (около 1 мл), масса навески для приготовления 5 мл раствора составила 1,0 г.

Образцы были проанализированы согласно методике:

Кулонометрическое титрование выполняли до установления конечной точки титрования с помощью кулонометрического титратора Metrohm 899, оснащенного однокамерной ячейкой.

Отделение кулонометрической ячейки заполняли реактивом Hydranal coulomat AG и проводили кондиционирование ячейки.

Приготовление испытуемого раствора.

В шприц вместимостью 20 мл (шприц №1), оснащенного иглой, помещали примерно 10 мл *N*-метилпирролидона. При этом *N*-метилпирролидон, помещенный в шприц №1 использовали для пробоподготовки раствора испытуемого образца и для определения содержания воды в *N*-метилпирролидоне.

Около 1,0 г (точная навеска) испытуемого образца помещали в стеклянный флакон объемом 5 мл, закрывали пробкой. Флакон помещали на аналитические весы и производили тарирование. Во флакон с испытуемым образцом с помощью шприца №1 помещали около 5 мл *N*-метилпирролидона, взвешивали и записывали массу *N*-метилпирролидона, добавленную во флакон. Содержимое флакона взбалтывали до полного растворения навески испытуемого образца. Далее содержимое флакона помещали в шприц вместимостью 20 мл (шприц №2), оснащенный иглой.

Перед введением *N*-метилпирролидона с помощью шприца №1 во флакон с испытуемым образцом и введением испытуемого раствора в шприц №2 вставляли в силиконовую пробку иглу (рис. 2) для компенсации избыточного давления во время ввода *N*-метилпирролидона и компенсации пониженного давления во время ввода испытуемого раствора в шприц №2.

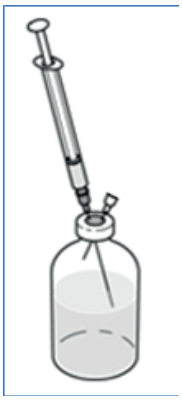


Рисунок 2. Компенсация давления во флаконе с помощью иглы

Определение содержания воды в N-метилпирролидоне.

Шприц № 1 с *N*-метилпирролидоном помещали на аналитические весы и производили тарирование. Около 1,0 мл *N*-метилпирролидона помещали в ячейку с анодным раствором через силиконовую прокладку. Проводили определение содержания воды в трех повторностях. Результат автоматически отображался (в ppm).

Определение содержания воды в испытуемом растворе.

Шприц № 2 с испытуемым раствором помещали на аналитические весы и производили тарирование. Далее около 1,0 мл испытуемого раствора помещали в ячейку с анодным раствором через силиконовую прокладку. Проводили определение содержания воды в трех повторностях.

Содержание воды (Y_i) в анализируемом образце рассчитывали по формуле:

$$Y_i = \frac{((m_{NMP}+m_{об})*X_i)-(m_{NMP}*X_{NMP})}{m_{об}*10000}$$

где $m_{об}$ – масса испытуемого образца, помещенная во флакон, мг;

m_{NMP} – масса *N*-метилпирролидона, помещенная во флакон с испытуемым образцом, мг;

X_i – содержание воды в испытуемом растворе, ppm;
X_{NMP} – содержание воды в *N*-метилпирролидоне, ppm.

Для трех результатов Y_i ($i=1, 2, 3$) рассчитывали среднее значение содержания воды в образце ($Y_{ср}$) и относительное стандартное отклонение (RSD, %) по формуле:

$$RSD = \frac{S \times 100}{Y\text{ср}},$$

где S – стандартное отклонение, рассчитанное по трем результатам Y_i.
$Y_{ср}$ – содержания воды в испытуемом растворе, рассчитанное по трем результатам Y_i.

Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты определения остаточного содержания воды в образце этравирина методом кулонометрического титрования

Масса испытуемого образца, помещенная во флакон, мг ($m_{об}$)	Масса *N*-метилпирролидона, помещенная во флакон с испытуемым образцом, мг (m_{NMP})	Содержание воды в испытуемом растворе, ppm (X_i)	Содержание воды в *N*-метилпирролидоне, ppm. (X_{NMP})	Содержание воды в анализируемом образце, % (Y_i)
991,6	5257,0	1581,8	1776,3	0,053
		1581,7	1784,3	0,053
		1586,0	1781,2	0,055
Среднее значение содержания воды в образце ($Y_{ср}$)			**1780,6**	**0,054**
Стандартное отклонение (S)			4,0	0,002
RSD, %			**0,23**	**2,9**

Волюметрическое определение воды:

Учитывая результаты содержания воды в образце, определенные ранее с помощью кулонометрического титрования, был выбран следующий титрант: Hydranal-Composite 1. Выбор данного титранта обусловлен низким значением титра. Содержание воды в этравирине составляет примерно 0,05 %. Объем реактива 0,5 мл, уходящий на титрование (соответствует 10 % от объема бюретки) позволяет получить результаты с приемлемой точностью и повторяемостью (RSD не более 10 %). Исходя из минимального приемлемого объема титранта 0,5 мл, навеска анализируемого образца, взятая для титрования, должна составлять 1 г.

Согласно приведенному уравнению реакции (1), растворитель для пробы должен содержать метанол, либо смесь метанола с подходящим растворителем, но доля метанола должна быть преобладающей. При выборе растворителя для испытуемых проб были рассмотрены составы, приведенные в таблице 2:

Таблица 2 – Составы растворителей для испытуемых проб

№	Состав раствора
1	Метанол
2	15 % раствор *N*-метилпирролидона в метаноле (об.)
3	20 % раствор *N*-метилпирролидона в метаноле (об.)

Титрование проводили с помощью волюметрического титратора Metrohm 915 по следующей методике:

В волюметрическую ячейку для титрования помещали 70 мл одного из растворителей (таблица 2), проводили кондиционирование ячейки. Устанавливали титр титранта путем титрования стандартного образца воды, определяя конечную точку титрования амперометрически. Далее проводили анализ испытуемого образца. В волюметрическую ячейку для титрования помещали 70 мл одного из растворов (таблица 2), проводили кондиционирование ячейки. Затем в сосуд для титрования помещали около 1,0 г (точная навеска) испытуемой субстанции и титровали испытуемый образец реактивом К. Фишера, определяя конечную точку титрования амперометрически.

Описанные выше действия повторяли в трех повторностях и рассчитывали среднее значение содержания воды (Xср) и относительное стандартное отклонение (RSD, %).

Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты определения остаточного содержания воды в образце этравирина методом волюметрического титрования

Растворитель	№	Масса навески испытуемого образца	Найденное содержание воды в испытуемом образце, %
Метанол	1	1,0162	0,041
	2	1,0496	0,028
	3	1,0292	0,035
	Ср значение		**0,035**
	Стандартное отклонение		**0,007**
	RSD, %		**18,8**
15 % раствор *N*-метилпирролидона в метаноле (об.)	1	1,2300	0,061
	2	1,1033	0,054
	3	1,1508	0,062
	Ср значение		**0,059**
	Стандартное отклонение		**0,004**
	RSD, %		**7,4**
20 % раствор *N*-метилпирролидона в метаноле (об.)	1	1,0824	0,056
	2	0,9996	0,062
	3	1,0655	0,059
	Ср значение		**0,059**
	Стандартное отклонение		**0,003**
	RSD, %		**5,1**

Согласно данным, приведенным в таблице 3, определение содержания воды с использованием метанола в качестве растворителя приводит к получению результатов, имеющих плохую повторяемость (RSD 18,8 %), что обусловлено плохой растворимостью этравирина в метаноле. Использование в качестве растворителя смеси метанола с N-метилпирролидоном позволяет определить содержание воды с приемлемой повторяемостью (RSD менее 10 %). Сравнение результатов волюметрического титрования с использованием N-метилпирролидона с результатами кулонометрического титрования показали, что для полученных значений выборочные дисперсии однородны (Критерий Фишера). Расхождение между средними результатами анализа двух методов носит случайный характер (таблица 4) [5].

Таблица 4 – Сравнение результатов по критериям Фишера и Стьюдента

Сравниваемые методики	Сравнение двух методов анализа по воспроизводимости, Критерий Фишера	Сравнение средних результатов двух выборок, критерий Стьюдента
Кулонометрическое титрование -волюметрическое титрование с использованием в качестве растворителя 15 % раствор *N*-метилпирролидона в метаноле (об.).	$7{,}94 < F(0{,}5;2;2)=19{,}25$	$1{,}35 < t(0{,}05;4)= 2{,}78$
Кулонометрическое титрование – волюметрическое титрование с использованием в качестве растворителя 20 % раствор *N*-метилпирролидона в метаноле (об).	$3{,}76 < F(0{,}5;2;2)= 19{,}25$	$1{,}83 < t(0{,}05;4)= 2{,}78$

Заключение

Разработаны методики испытания по показателю «Вода» для АФС Этравирин методами волюметрического и кулонометрического титрования на основе метода К. Фишера. Для кулонометрического титрования разработана пробоподготовка образца и техника выполнения анализа, обеспечивающая получение воспроизводимых результатов. Для волюметрического титрования были подобраны: оптимальная навеска испытуемого образца, смесь растворителей, обеспечивающая полное растворение навески испытуемого образца, оптимальный титр титранта. Сравнение результатов двух средних значений для разработанных методик показали, что различие между ними носит случайный характер. Оба результата характеризуют одно и тоже математическое ожидание. В качестве растворителя для волюметрического титрования был выбран 20 % раствор *N*-метилпирролидона в метаноле (об.). В дальнейшем необходимо будет провести валидацию обеих методик. Провести сравнение двух методик по критериям Фишера и Стьюдента с выборками, охватывающими большее число измерений

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.19.00 Аналитическая химия
76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашихмин Я.И., Белоусов Д.Ю Фармакоэкономический анализ применения этравирина в сравнении с ралтегравиром в комплексной терапии ВИЧ-инфекции у взрослых пациентов, ранее получавших лечение антиретровирусными препаратами // Качественная Клиническая Практика. 2015. N 3. С. 60-71.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14. (Дата обращения: 03.03.2022)
3. Руководство по применению реактивов HYDRANAL® Реактивы для титрования по Карлу Фишеру Riedel-de-Haën.
4. Руководство по разработке частных фармакопейных статей Фармакопеи Евразийского экономического союза. Часть 1. Субстанции для фармацевтического применения химического происхождения. 2019. С. 76-77.
5. Смагунова А.Н., Карпукова О.М. Методы математической статистики в аналитической химии. 2012. С. 80-81.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR TESTING THE ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT ETRAVIRINE ON THE INDICATOR «WATER»

Klepikov[1] M.S., applicant for the degree of Candidate of Pharmaceutical Sciences
Head: **Nikitina[2] T.G.**, Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor
[1] Baltfarma, 197350, St. Petersburg, road to Kamenka, 74, letter A
analytical development department
[2]St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, d.14, lit A, Russian Federation
E-mail: klepikovm91@gmail.com

The paper considers the development of test methods for the indicator «Water» of AFI Etravirine by the method of K. Fischer. Titration was performed using volumetric and coulometric methods. The approach to the selection of optimal weights of the test sample, the choice of titrant and its titer, the composition of solvents for the analyzed samples, providing reproducible results, is described. The technique of performing coulometric and volumetric titration is shown. A comparison of the results obtained by the two methods is given.

Keywords: *Etravirine, coulometric titration, volumetric titration, K. Fischer method.*

REFERENCES

1. Ashikhmin Y.I., Belousov D.Yu. Pharmacoeconomic analysis of the etravirine compared to raltegravir in treatment HIV-infected adult patients, previously treated with antiretroviral drugs // Kachestvennaya Klinicheskaya Praktika. Good Clinical Practice. 2015. N 3. P.60-71. (In Russian)
2. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. [Internet]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14. (Accessed: 03.03.2022)
3. Guidelines for the use of HYDRANAL ® reagents Karl Fischer Riedel-de-Haën.
4. Guidelines for the development of private pharmacopoeia articles of the Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union. Part 1. Substances for pharmaceutical use of chemical origin. 2019. P. 76-77.
5. Smagunova A.N., Karpukova O.M. Methods of mathematical statistics in analytical chemistry. 2012. P. 80-81.

УДК 54:543.2

АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ ЖИДКОСТНО-ЖИДКОСТНАЯ МИКРОЭКСТРАКЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАНИЛАМИДОВ В ПРОБАХ МОЧИ ЗА СЧЕТ ОБРАЗОВАНИЯ ОСНОВАНИЙ ШИФФА В ГЛУБОКИХ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЯХ

Крехова Ф.М., аспирант 2 года обучения
Научные руководители: **Шишов А.Ю.**, канд. хим. наук, доцент,
Булатов А.В., доктор хим. наук, профессор
Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9, Российская Федерация
E-mail: shakirovafiruza@mail.ru

Разработана автоматизированная процедура жидкостно-жидкостной микроэкстракции для определения сульфаниламидов (сульфаметоксазола, сульфаметазина и сульфапиридина) в пробах мочи, включающая извлечение аналитов в эвтектические растворители на основе ванилина за счет образования окрашенных соединений – оснований Шиффа. Ванилин в данном случае действует как дериватизирующий агент и предшественник природного глубокого эвтектического растворителя. За счет образования гидрофобных оснований Шиффа увеличена эффективность экстракции полярных

сульфаниламидов в фазу экстрагента. В ходе работы были оптимизированы условия автоматической процедуры анализа, пределы обнаружения составили 0,06, 0,1 и 0,06 мг/л для сульфапиридина, сульфаметоксазола и сульфаметазина, соответственно. Разработанная автоматизированная процедура позволяет провести определение одного аналита в образцах мочи менее, чем за 10 минут.

Ключевые слова: *глубокие эвтектические растворители, жидкостно-жидкостная микроэкстракция, основания Шиффа, сульфаниламиды, анализ биологических жидкостей*

Сульфаниламиды представляют собой противомикробные препараты широкого спектра действия, которые используются для лечения различных бактериальных инфекций, таких как инфекции мочевыводящих путей, ушные инфекции или бронхит [1]. Для повышения терапевтического эффекта и исключения побочных эффектов сульфаниламидов необходим контроль содержания препаратов в биологических жидкостях.

Одним из активно развивающихся направлений в современной аналитической химии является применение в качестве эффективных экстрагентов нового вида экологически безопасных растворителей – глубоких эвтектических растворителей (ГЭР) [2]. Они представляют собой класс дешевых, доступных и экологически безопасных растворителей, которые нашли широкое применение в зеленой аналитической химии для разделения и концентрирования аналитов из различных сложных матриц, таких как биологические жидкости, продукты питания, пробы окружающей среды. В последнее время ГЭР вызывают интерес не только как эффективные экстрагенты, но и как среда для дериватизации аналитов [3].

Автоматизация аналитических процедур в последнее время широко применяется для сокращения расхода реагентов и образов. Автоматизация позволяет объединить в одном коллекторе все шаги пробоподготовки, минимизировать риски для оператора и окружающей среды. При этом проточные системы признаны универсальным инструментом для автоматизации и миниатюризации аналитических процедур.

В данном исследовании было установлено, что ванилин как предшественник ГЭР способствует извлечению сульфаниламидов из водной фазы за счёт образования гидрофобных производных – оснований Шиффа. Это явление ранее не было представлено в литературе.

Целью данной работы являлась разработка автоматизированной процедуры жидкостно-жидкостной микроэкстракции для определения сульфаниламидов, основанной на образовании оснований Шиффа в фазе глубокого эвтектического растворителя для последующего спектрофотометрического определения.

Исходя из поставленной цели, были решены следующие задачи:

1) подтвердить образование оснований Шиффа в глубоких эвтектических растворителях;
2) разработать автоматизированную процедуру выделения сульфаниламидов из проб мочи;
3) оптимизировать условия автоматизированной процедуры выделения сульфаниламидов;
4) сравнить полученные результаты с помощью эталонной процедуры.

Объектами анализа служили 3 пробы мочи, отобранные у добровольцев. Образец искусственной мочи готовили следующим образом: 2 г мочевины, 0,6 г NaCl, 0,15 г KH_2PO_4, 0,05 г NH_4Cl, 0,015 г $CaCl_2$, 0,01 г $MgCl_2$,0,03 г мочевой кислоты, 0,1 г креатина, 0,01 г лимонной кислоты и гиппуровой кислоты растворяли в 100 мл деионизированной воды. Для определения антибиотиков использовали циклический инжекционный анализ со спектрофотметрическим детектированием. Для характеризации оснований Шиффа использовали масс-спектрометр MaXis (Bruker Daltonik GmbH, Германия).

Известно, что основания Шиффа обычно получают путем конденсации аминов с альдегидами. Сульфаниламиды содержат аминогруппу (NH_2) и могут образовывать в кислой среде окрашенные основания Шиффа. Ванилин, в свою очередь, содержит несколько функциональных групп: альдегидную и гидроксильную., поэтому, с одной стороны, ванилин может образовывать ГЭР с терпеноидами, такими как тимол или ментол за счет гидроксильной группы, с другой стороны, он может образовывать основания Шиффа с сульфаниламидами как альдегид.

На первом этапе работы были синтезированы и изучены ГЭР на основе ванилина и ментола и ванилина и тимола в мольных соотношениях 1:2, 1:1 и 2:1 путем смешивания прекурсоров при 60°С в течение 15 мин. Оказалось, что при последующем охлаждении до комнатной температуры смеси с соотношением 1:2 и 2:1 кристаллизуются, в то время, как смесь с соотношением компонентов 1:1 остается в жидком состоянии. Таким образом, для дальнейшей работы были выбраны ГЭР с соотношением компонентов 1:1. Затем 1 мл ГЭР смешивали с 1 мл водного раствора сульфаниламида (150 мг/л) в течение 5 мин, центрифугировали, отбирали фазу ГЭР и анализировали с помощью спектрофотометра. Было установлено, что основания Шиффа образуются только в ГЭР на основе тимола и ванилина, с которым проводили дальнейшие исследования. Максимальные значения поглощения оснований Шиффа в фазе ГЭР наблюдались при 435, 425 и 430 нм для сульфапиридина, сульфаметоксазола и сульфаметазина соответственно (рис. 1).

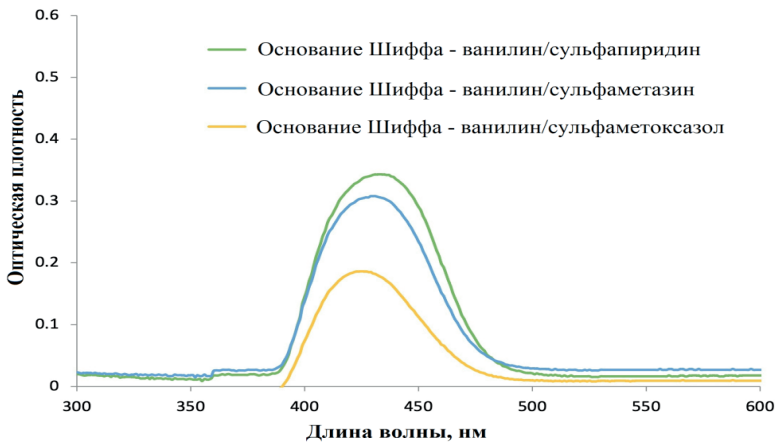


Рисунок 1. Спектры поглощения оснований Шиффа в ГЭР на основе ванилина и тимола (1/1, моль/моль). Концентрация аналитов 150 мг/л

Полученные основания Шиффа были изучены методом масс-спектрометрии. Для этого сначала были синтезированы производные из ванилина и сульфаниламидов, путем их смешивания в метаноле с добавлением муравьиной кислоты. Схема образования оснований Шиффа представлена на рисунке 2.

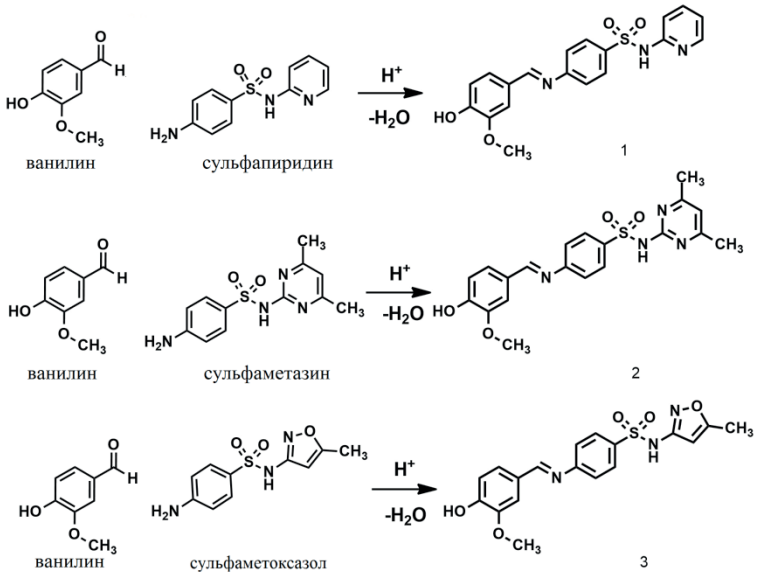


Рисунок 2. Схема образования оснований Шиффа из сульфаниламидов и ванилина

Помимо пиков, которые относятся к различным фрагментов соединения, в масс-спектрах наблюдают пики при 384, 386 и 413 (m/z), которые соответствуют ионам сульфапиридина. ($C_{19}H_{17}N_3O_4S$, m/z=383,43)+H, сульфаметоксазола ($C_{18}H_{17}N_3O_5S$, m/z=387,41)+H и сульфаметазина ($C_{20}H_{20}N_4O_4S$, m/z=412,47)+H. Затем было подтверждено, что основания Шиффа образуются в фазе ГЭР путем добавления 1 мл раствора каждого аналита (150 мг/л) к 1 мл фазы ГЭР (тимол/ванилин, 1/1) и анализа образующихся органических фаз методом масс-спектрометрии в тех же условиях. Было обнаружено, что полученные масс-спектры оснований Шиффа сравнимы со спектрами, полученных из соединений, синтезированных в метаноле.

Для автоматизированного определения сульфаниламидов в пробах мочи была разработана схема, предполагающая применение восьмипортового крана-переключателя и шприцевого насоса со стеклянным шприцем на 5 мл, оснащенным магнитной мешалкой (рисунок 3). Для проведения анализа в шприц набирали 0,3 мл ГЭР (порт а) со скоростью 5 мл/мин через канал 1, затем в шприц набирали 4,5 мл пробы (порт б) со скоростью 15 мл/мин через канал 1. Пробу и ГЭР перемешивали в течение 180 с. С одной стороны, это способствовало эффективному перемешиванию и экстракции аналитов в фазу экстрагента, с другой стороны, обеспечивало быстрое разделение. Затем верхнюю фазу удаляли (порт с), а нижнюю фазу, содержащую окрашенное основание Шиффа (200 мкл) переносили в проточную ячейку детектора через канал 2 и анализировали с помощью спектрофотометра при 435 нм.

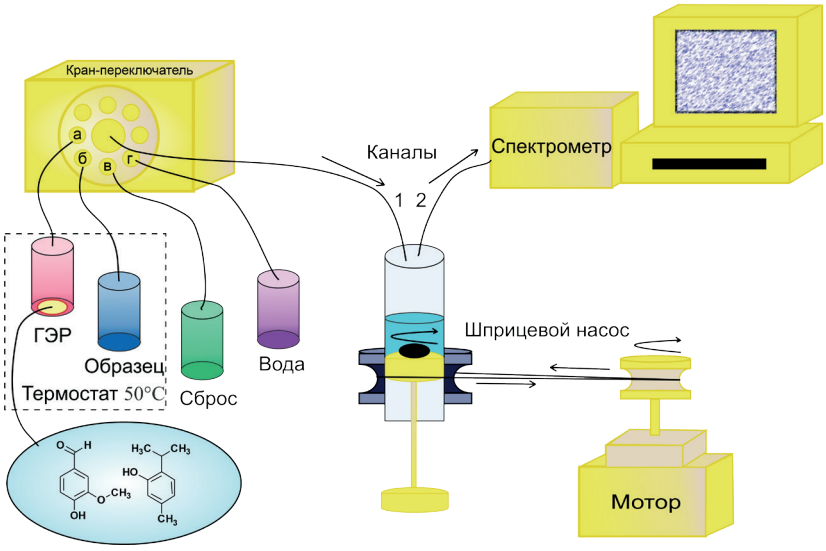


Рисунок 3. Схема автоматизированного определения сульфаниламидов в пробе мочи

На следующем этапе исследования были оптимизированы условия автоматизированного определения сульфаниламидов. Для достижения высокой степени концентрирования и низких пределов обнаружения было оптимизировано соотношение пробы и ГЭР. Для заполнения кюветы спектрофотометра необходимо 300 мкл фазы ГЭР. Так как максимальная заполняемость шприца составляет 5 мл, объем раствора аналита (концентрация 8 мг/л) варьировали от 1 до 4,5 мл. Было обнаружено, что значения поглощения увеличиваются пропорционально увеличению объема раствора аналита, поэтому был выбран максимальный возможный объем (рис. 4А). Затем для достижения высоких выходов оснований Шиффа исследовали кинетику дериватизации и экстракции. Для этого время перемешивания варьировали от 1 до 5 мин. Было установлено, что для достижения равновесия достаточно 2 мин (рис. 4Б).

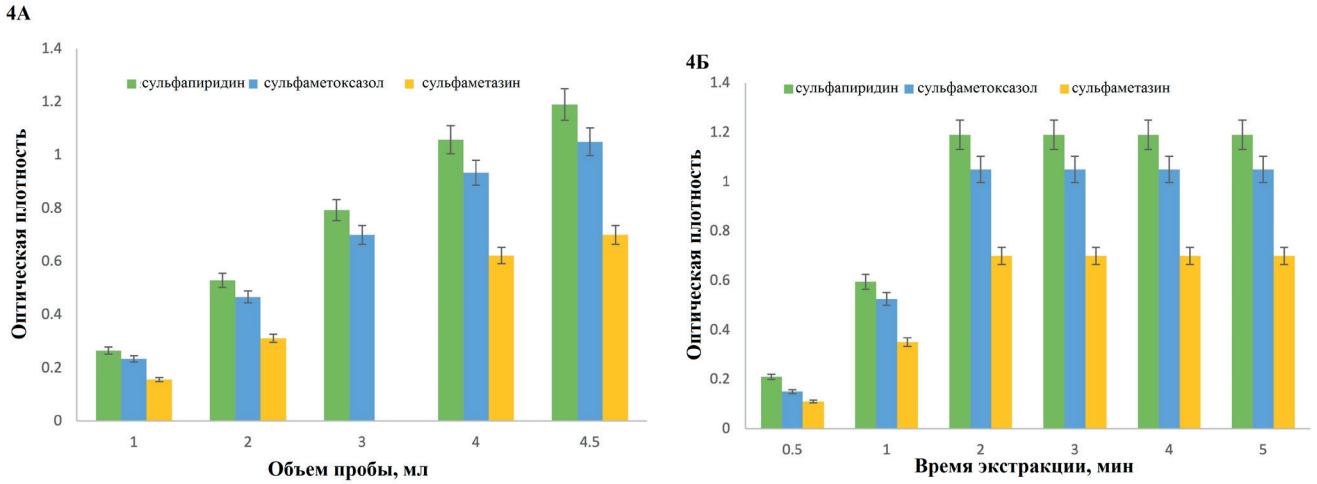


Рисунок 4. Оптимизация процесса микроэкстракции (концентрация аналитов 8 мг/л, время разделения фаз 5 мин, объем ГЭР 300 мкл): (А) влияние объема пробы на оптическую плотность, (Б) влияние времени экстракции на оптическую плотность (объем пробы 4,5 мл)

Для исследования мешающего влияния основных компонентов пробы мочи человека в рабочий раствор аналита с концентрацией 8 мг/л добавлялись следующие возможные компоненты мочи: мочевина, мочевая кислота, гиппуровая кислота, креатинин, креатин и глюкоза. Было принято, что постороннее вещество оказывает мешающее влияние, если его присутствие приводит к изменению оптической плотности на 5%. Таким образом, мешающее влияние оказывали креатин и гиппуровая кислота, добавленные в 200-кратном избытке, креатинин, добавленный в 1000-кратном избытке, мочевая, лимонная кислоты и глюкоза, добавленные в 2000-кратном избытке, и мочевина, добавленная в 10000-кратном избытке, что превышает их средние концентрации в моче (таблица 1).

Таблица 1 – Мешающее влияние компонентов мочи

Вещество	Средняя концентрация в моче, г/л	Допустимая концентрация в моче, г/л
Мочевина	30	50
Мочевая кислота	5	10
Гиппуровая кислота	0.15	1

Вещество	Средняя концентрация в моче, г/л	Допустимая концентрация в моче, г/л
Креатинин	1	5
Креатин	0.1	1
Глюкоза	0.16	10
Лимонная кислота	0.1	10

После выбора оптимальных условий проведения анализа разработанная процедура была подтверждена путем исследования нескольких аналитических характеристик, таких как пределы обнаружения (ПО), пределы количественного определения (ПКО), линейные диапазоны (ЛД), коэффициенты корреляции и прецизионности. В таблице 2 приведены полученные результаты.

Градуировочные зависимости для исследуемых аналитов являлись линейными в диапазоне концентраций 0,2-8 мг/л для сульфапиридина, 0,3-15 мг/л для сульфаметоксазола и 0,2 -10 мг/л для сульфаметазина с коэффициентами корреляции более 0,993, 0,991 и 0,992, соответственно. Пределы обнаружения были рассчитаны как трехкратное отношение сигнал/шум (S/N = 3) и составляли 0,06 мг/л для сульфапиридина и сульфаметазина и 0,1 мг/л для сульфаметоксазола.

Прецизионность оценивали с помощью повторяемости и воспроизводимости. Повторяемость разработанной методики определялась путем 10-кратного повторения анализа пробы мочи и значения составили <5%. Воспроизводимость процедуры оценивалась путем проведения анализа пробы мочи с использованием 2 разных приборов в 2 разных промежутка времени. Значения составили <7%. Эффективность экстракции для аналитов была достигнута 91,93 и 92% для сульфапиридина, сульфаметоксазола и сульфаметазина, соответственно.

Таблица 2 – Аналитические характеристики разработанной процедуры

Параметр	Аналит		
	Сульфапиридин	Сульфаметоксазол	Сульфаметазин
Линейный диапазон, мг/л	0.2 – 8	0.3 – 15	0.2 – 10
Коэффициент корреляции	0.993	0.991	0.992
Предел обнаружения, мг/л	0.06	0.1	0.06
Предел количественного определения, мг/л	0.2	0.3	0.2
СКО (%) (n = 3)	5	6	5
Эффективность экстракции, %	91	93	92

Правильность полученных результатов подтверждали с помощью референтной методики [4]. Полученные результаты сравнивали с помощью F- и t-тестов. Полученные F-значения ≤ 19,00 указывают на незначительное различие в величинах стандартных отклонений, а полученные t-значения ≤ 2,776 указывают на то, что нет статистически значимого различия между полученными результатами (таблица 3).

Таблица 3 – Определение сульфаниламидов в пробах мочи (n=3, P=0,95, Fкр=19,00, tкр=2,78)

Образец	Аналит	Введено, мг/л	Найдено, мг/л		F-критерий	t-критерий	Степень извлечения, %
			Разработанная процедура	ВЭЖХ-УФ			
1	сульфапиридин	0.5	0.501±0.015	0.500±0.010	1.18	1.12	100
	сульфаметоксазол	0.5	0.520±0.021	0.510±0.013	4.01	1.73	104
	сульфаметазин	1	1.102±0.018	1.010±0.015	7.11	1.35	110
2	сульфапиридин	1	1.061±0.021	1.110±0.011	2.65	1.21	106
	сульфаметоксазол	1	1.021±0.018	1.010±0.009	3.65	1.81	102
	сульфаметазин	0.5	0.511±0.012	0.500±0.010	3.11	1.22	102
3	сульфапиридин	1	1.082±0.015	1.040±0.014	6.18	1.32	108
	сульфаметоксазол	0.5	0.511±0.021	0.520±0.010	4.99	1.61	102
	сульфаметазин	1.5	1.482±0.031	1.510±0.011	7.98	1.29	99

В данной работе впервые показано образование окрашенных оснований Шиффа из сульфаметоксазола, сульфаметазина и сульфапиридина в глубоком эвтектическом растворителе на основе тимола и ванилина за счёт взаимодействия сульфаниламидов с ванилином. Разработана автоматизированная процедура жидкостно-жидкостной микроэкстракции для определения сульфаниламидов в пробах мочи. Доказано, что дериватизация и экстракция с применением ГЭР обеспечивали селективное и чувствительное обнаружение целевых аналитов в ультрафиолетовом-видимом диапазоне, достаточное для определения концентраций сульфаниламидов, применяемых в терапии. Разработанная процедура является экологически чистой, обеспечивает полную автоматизацию и производительность 6 проб в час.

Источник финансирования
Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда номер 20-73-00043.

ЛИТЕРАТУРА

1. El-Gaby M.S.A., Ammar Y.A., El-Qaliei M.I.H., Ali A.M., Hussein M.F., Faraghally F.A., Sulfonamides: Synthesis and the recent applications in medicinal chemistry // Egypt. J. Chem. 2020. Vol. 63, P. 5289–5327. https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2020.33860.2707.

2. Shishov A., Pochivalov A., Nugbienyo L., Andruch V., Bulatov A., Deep eutectic solvents are not only effective extractants // TrAC – Trends Anal. Chem. 2020. Vol. 129 N 115956. https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115956.

3. Norouzi F., Khoubnasabjafari M., Jouyban-Gharamaleki V., Soleymani J., Jouyban A., Farajzadeh M.A., Mogaddam M.R.A., Determination of morphine and oxymorphone in exhaled breath condensate samples: Application of microwave enhanced three–component deep eutectic solvent-based air–assisted liquid–liquid microextraction and derivatization prior to gas chromatography–mass spectrometry // J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 2020. Vol. 1152 N 122256. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122256.

4. Fernandez-Torres R., Consentino M.O., Lopez M.A.B., Mochon M.C., Simultaneous determination of 11 antibiotics and their main metabolites from four different groups by reversed-phase high-performance liquid chromatography-diode array-fluorescence (HPLC-DAD-FLD) in human urine samples // Talanta. 2010. Vol. 81 P. 871–880. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.01.031.

SUMMARY

AUTOMATED LIQUID-LIQUID MICROEXTRACTION AND DETERMINATION OF SULPHANILAMIDES IN URINE SAMPLES BASED ON FORMATION OF SCHIFF BASES IN NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS

Krekhova F.M., 2nd year PhD student
Academic advisors: **Shishov A.Yu.,** PhD, Assistant Professor,
Bulatov A.V., Doctor of Chem. Sciences, Professor
St Petersburg State University;
7–9, Universitetskaya Emb., St Petersburg, 199034, Russian Federation
E-mail: shakirovafiruza@mail.ru

In this work an automated liquid-liquid microextraction procedure is developed for the determination of sulfonamides (sulfamethoxazole, sulfamethazine and sulfapyridine) in urine samples, including the extraction of analytes in natural deep eutectic solvents based on vanillin due to the formation of colored compounds Schiff bases. Vanillin in this case acts as a derivatization reagent and as a second precursor of natural deep eutectic solvent. For the first time, the formation of the Schiff bases was confirmed by mass spectrometry. The efficiency of extraction of polar sulfonamides in the extractant phase is increased due to the hydrophobic Schiff bases formation. The conditions of the autiomatic liquid-liquid procesure were optimized, under optimal conditions the limits of detection were 0.06, 0.1 and 0.06 mg L-1 for sulfapyridine, sulfamethoxazole and sulfamethazine, respectively. The proposed automated procedure allowed the determination of one analyte in urine samples in less than 10 minutes.

Keywords: *deep eutectic solvents, liquid-liquid microextraction, Schiff bases, sulfonamides, analysis of biological fluids.*

REFERENCES

1. El-Gaby M.S.A., Ammar Y.A., El-Qaliei M.I.H., Ali A.M., Hussein M.F., Faraghally F.A., Sulfonamides: Synthesis and the recent applications in medicinal chemistry // Egypt. J. Chem. 2020. Vol. 63, P. 5289–5327. https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2020.33860.2707.

2. Shishov A., Pochivalov A., Nugbienyo L., Andruch V., Bulatov A., Deep eutectic solvents are not only effective extractants // TrAC – Trends Anal. Chem. 2020. Vol. 129 N 115956. https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115956.

3. Norouzi F., Khoubnasabjafari M., Jouyban-Gharamaleki V., Soleymani J., Jouyban A., Farajzadeh M.A., Mogaddam M.R.A., Determination of morphine and oxymorphone in exhaled breath condensate samples: Application of microwave enhanced three–component deep eutectic solvent-based air–assisted liquid–liquid microextraction and derivatization prior to gas chromatography–mass spectrometry // J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 2020. Vol. 1152 N 122256. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122256.

4. Fernandez-Torres R., Consentino M.O., Lopez M.A.B., Mochon M.C., Simultaneous determination of 11 antibiotics and their main metabolites from four different groups by reversed-phase high-performance liquid chromatography-diode array-fluorescence (HPLC-DAD-FLD) in human urine samples // Talanta. 2010. Vol. 81 P. 871–880. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.01.031.

УДК 615.322

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ВЕРБЕЙНИКА ОБЫКНОВЕННОГО (*LYSIMACHIA VULGARIS L.*)

Крипак Е.М., студ. 5 курса
Руководитель**: Жохова Е.В.**, канд. фарм. наук, доцент, и.о.зав.кафедрой фармакогнозии,
(ORCID: 0000-0002-9763-096X)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: kripak.ekaterina@pharminnotech.com

Вербейник обыкновенный *(Lysimachia vulgaris L.)* не включен в действующую государственную фармакопею России, что делает его интересным объектом для исследований. По литературным данным вербейник обыкновенный имеет в своем составе большое количество флавоноидов, что было подтверждено химическими и физико-химическими методами анализа при исследовании состава сырья. Сделанные заключения позволили предложить стандартизовать сырье вербейника обыкновенного методом спектрофотометрии по реакции с алюминия хлоридом с рутином в качестве стандартного вещества.

Ключевые слова: *вербейника обыкновенного трава, флавоноиды, рутин, спектрофотометрия, экстрактивные вещества.*

Как известно, предшественниками многих синтетических фармацевтических субстанций являются соединения природного происхождения, выделенные в том числе из растений. Поэтому анализ групп биологических активных веществ в растениях и разработка методов их оценки всегда актуальны.

Объектом исследования была выбрана надземная часть вербейника обыкновенного – Lysimachia vulgaris L., сем. первоцветные – Primulaceae. Вербейник обыкновенный – многолетнее травянистое растение высотой до 50-100 см с прямостоячим стеблем, в верхней части ветвистым. Листья ланцетной формы расположены мутовчато или супротивно. Цветки пятичленные, актиноморфные с венчиком желтого цвета, собраны в метельчатые соцветия, плод – коробочка. Растение распространено в Европе, Азии, Северной Америке. В России встречается в европейской части, на Северном Кавказе и Сибири, произрастает по сырым лесам, оврагам, на лугах, болотах, по берегам водоемов.

Вербейнику в народной медицине приписывают гемостатические свойства, ранозаживляющие, противовирусные. Надземная часть вербейника обыкновенного применялась при ранах и ушибах, диарее, язвенной болезни желудка, желтухе, геморрое, запорах, грыже, меноррагиях, цинге, циститах. Есть данные о инсектицидной активности вербейника в отношении мух, также растение известно как медонос и как красильный материал для тканей (желтые, зеленые, черные цвета) и волос [1].

По данным литературы надземные части вербейника обыкновенного содержат фенольные соединения (флавоноиды, фенольные кислоты, лигнаны, дубильные вещества) и сапонины.

В настоящее время экспериментально подтверждена антиоксидантная активность экстрактов вербейника обыкновенного, которая зависит от содержания флавоноидов с наибольшим числом гидроксильных групп. По литературным данным извлечения, полученные с использованием воды очищенной и этанола, проявляют большую антиоксидантную активность по сравнению с экстрактами, полученными неполярными растворителями. Гликозиды, в виде которых находится большинство флавоноидов извлечения, предположительно, обладают меньшей антиоксидантной активностью чем отдельные агликоны [2].

Доказано, что этанольный экстракт вербейника обыкновенного эффективен против грамположительных бактерий (Staphylococcus aureus, S. Epidermidis и Streptococcus pyogenes), лучшая активность при этом наблюдалась у экстракта цветков растения. В антимикробной активности большую роль имеют бензохиноны и флавоноиды.

Противоопухолевая активность, в большей степени выражена у водных экстрактов, что тоже связывают с наличием фенолов [3].

Зарубежные авторы предполагают эффективность вербейника обыкновенного при неакогольном стеатогепатите печени как раз благодаря его антиоксидантным и противовоспалительным свойствам и способности влиять на перераспределение жиров в организме. Экстракт вербейника обыкновенного может снижать уровень ферментов печени (аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы) в крови из разрушенных болезнью гепатоцитов. В эксперименте экстракт вербейника обыкновенного снижал массу тела у подопытных мышей, уменьшал количество липидных капель и триглицеридов в клетках, влиял на фиброзирование печени. Авторы предположили, что на уровень липогенеза влияют лолиолид (бензофуран) и пинорезинол (лигнан), они снижают липогенез, путем уменьшения экспрессиилипогенных факторов в организме. Лолиолид дополнительно может подавлять проникновение вируса гепатита в клетку, имеет противотуберкулезную, противодиабетическую активности. Пинорезинол отвечает за противовоспалительный и нейропротекторный эффекты [4].

Некоторые свойства вербейника обусловлены наличием в подземных органах бензохинонов – эмбелина и рапанона. Для эмбелина характерны антимикробные, трипаноцидные, ранозаживляющие, цитотоксические, жаропонижающие, противовоспалительные, центральные анальгетические свойства. Для рапанона – умньшение острых и хронических воспалительных реакций, антиовуляторные и антиспермaтогенные эффекты, [5].

Была выявлена цитотоксичность сапонозидов подземных органов вербейника обыкновенного в отношении клеток опухоли у подопытных животных. А бензохиноны подземных органов способны ингибировать развитие клеток Candida albicans [6].

Все вышесказанное делает траву вербейника обыкновенного перспективным сырьем для исследования.

Цель: фармакогностический анализ травы вербейника обыкновенного с целью установления показателей доброкачественности перспективного вида лекарственного растительного сырья.

Задачи:

1. Фитохимический анализ по идентификации групп биологически активных веществ с помощью специфических химических реакций.
2. Выделение маркеров.
3. Количественное определение маркеров.
4. Валидация методики количественного определения.

Надземные части вербейника обыкновенного (олиственные цветоносные побеги длиной до 30 см) были собраны в период цветения на территории Ленинградской области (Всеволожский район, д. Каменка), высушены воздушно-теневым способом, измельчены и просеяны через сито 2 мм.

Для предварительной оценки основных групп действующих веществ были использованы реактивы для специфических качественных реакций, приготовленные на кафедре фармакогнозии СПХФУ.

Экстрактивные вещества, абсолютную влажность, товароведческую влажность, золу общую, золу, нерастворимую в хлористоводородной кислоте определяли по методикам Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания: ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» по первому методу, ОФС.1.2.2.2.0013.15 «Зола общая», ОФС.1.5.3.0005.15 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте», ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Количественное определение проводили методом спектрофотометрии в УФ и видимой областях на приборе СФ-2000. В качестве стандарта приготовлен раствор 0,02% рутина. Для отделения флавоноидов от других групп веществ была выбрана специфическая реакция с алюминия хлоридом.

Специфические качественные реакции показали наличие флавоноидов, в сырье также имеются в меньшем количестве сапонины, конденсированные и гидролизуемые дубильные вещества и кумарины, полученные результаты представлены в таблице 1, таблице 2.

Таблица 1 – Ориентировочный фитохимический состав

Реакция	Результат
Флавоноиды	
Цианидиновая проба с порошком магния и хлористоводородной кислотой	+
Реакция с натрия гидрокарбонатом	+
Реакция с алюминия хлоридом	+
Реакция с хлоридом железа (III)	+
Сапонины	
Реакция Либермана-Бурхарда с уксусным ангидридом и серной кислотой концентрированной	+
Реакция Лафона с сульфатом меди и серной кислотой концентрированной в	±
Реакция с натрия нитритом и серной кислотой концентрированной	±
Антраценпроизводные	
Реакция Борнтрегера с раствором щелочи и аммиаком	-
Кумарины	
Лактонная проба с щелочью	+
Реакция азосочетания с ароматическими аминопроизводными	+
Дубильные вещества	
Реакция с раствором желатина	+
Реакция с основным ацетатом свинца	+
Реакция с дихроматом калия	+
Реакция со средним ацетатом свинца	+
Реакция с хлоридом железа (III)	+

Таблица 2 – Предварительная оценка характера флавоноидов

Реакции	Результат	Значение
Цианидиновая проба с порошком магния и хлористоводородной кислотой концентрированной	+ розовое окрашивание	Присутствуют флавонолы, флаваноны, флавоны

Реакции	Результат	Значение
Реакция с натрия гидрокарбонатом	+ желтое окрашивание	Присутствуют флавоны, флавонолы, флаванонолы
Реакция с алюминия хлоридом	+ лимонно-желтое окрашивание	Присутствуют флавоноиды с C_3-, C_5-гидроксильными группами
Реакция с хлоридом железа (III)	+ зеленое окрашивание	Присутствуют флавоноиды с орто-диоксигруппировкой в кольце В

После проведенного анализа на товароведческие показатели влажность товароведческая составила 5,26±0,16%, абсолютная влажность 5,53±0,25%, зола общая 5,26±0,33%, зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте 0,23±0,23%.

Экстрактивные вещества в вербейнике обыкновенном определяли по первому методу из ОФС.1.5.3.0006.15. Использовали воду очищенную, спирт этиловый разных концентраций (40%, 70%, 90%). После пересчета на абсолютно сухое сырье, было оценено содержание экстрактивных веществ, результаты представлены на рисунке.

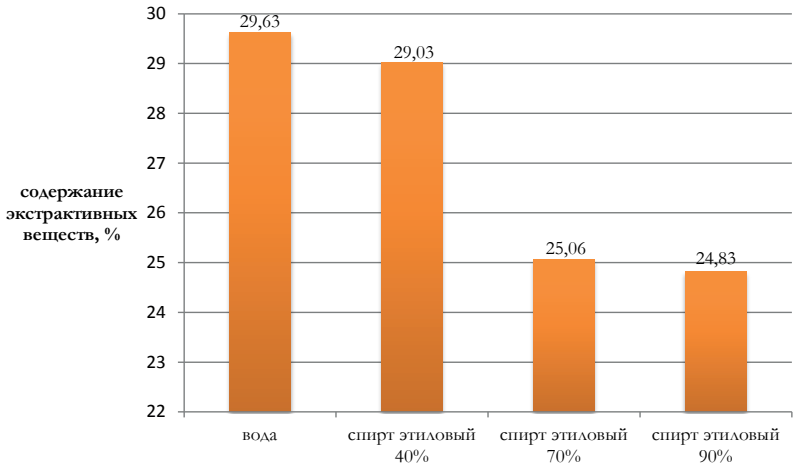


Рисунок. Содержание экстрактивных веществ в вербейнике обыкновенном

Для количественного определения был предложен физико-химический метод спектофотометрии. В настоящее время физико-химические методы являются более востребованными, так как имеют меньшую погрешность по сравнению с химическими.

В качестве вещества-стандарта был предложен рутин, поскольку по проанализированным источникам литературы видно, что в вербейнике обыкновенном содержится кверцетин и его гликозиды. Нами было выяснено, что спектры продуктов реакции рутина и флавоноидов травы вербейника обыкновенного с алюминия хлоридом имеют максимум при 411 нм. К тому же рутин является доступным стандартным веществом, что делает выбранную методику удобной. Для анализа был приготовлен стандартный раствор рутина 0,020%.

Около 0,5 г (точная навеска) исследуемого сырья вербейника обыкновенного с размером частиц 2 мм помещали в колбу со шлифом на 50 мл, прибавляли 50 мл спирта этилового 70% и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником 30 минут. Полученное извлечение охлаждали до комнатной температуры, фильтровали в мерную колбу на 50 мл, фильтр промывали спиртом этиловым 70%, доводили раствор до метки спиртом этиловым 95%.

В мерную колбу на 25 мл помещали аликвоту 2 мл фильтрата, добавляли 2 мл алюминия хлорида 1% и доводили до метки спиртом этиловым 95%. Для приготовления раствора сравнения в другую мерную колбу на 25 мл помещали 2 мл фильтрата и доводили до метки спиртом этиловым 95%. Спектры веществ снимали при длине волны 411 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Расчет флавоноидов ведется по формуле:

$$X,\% = \frac{D_x \times m_{ст} \times 100 \times 50 \times 25 \times 2 \times 100}{D_{ст} \times m_x \times 2 \times 25 \times 100 \times (100 - w)}, \text{где}$$

D_x – оптическая плотность исследуемого раствора,
$D_{ст}$ – оптическая плотность стандартного раствора,
m_x – масса исследуемого раствора, г,
$m_{ст}$ – масса стандартного раствора, г,
w – абсолютная влажность, %.
Полученные значения составили 2,73±6,23 %.

Таким образом, фармакогностический анализ сырья вербейника обыкновенного заслуживает внимания и в дальнейшем будет развиваться.

Наибольшее количество экстрактивных веществ из вербейника обыкновенного извлекается водой очищенной, что соответствует данным о более активном проявлении лекарственных свойств водными экстрактами.

Для количественного определения целесообразно использовать физико-химический метод анализа: спектрофотометрию в УФ и видимой области по реакции с алюминия хлоридом и рутином в качестве стандартного вещества. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в надземной части вербейника обыкновенного составило 5,34±0,25%.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.31.Фармакогнозия

ЛИТЕРАТУРА

1. Трембаля Я.С., Дроздова И.Л., Азаренкова Т.А. Анатомическое строение репродуктивных органов вербейника обыкновенного // Инновационные технологии в фармации. 2020. N 10. С. 150-154.

2. Toth A., Toth G., Kery A. Polyphenol composition and antioxidant capacity of three Lysimachia species // Natural Product Communication. 2014. N 9. P. 1473-1478.

3. Evalution of antibacterial, anyitumor, antioxidant activities and phenolic constituents of field-grown and in vitro-grown Lysimachia vulgaris / B.A. Yildirim [et al.] // African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines: AJTCAM. 2017. N 14(2). P. 177-187.

4. Yellow loosestrife (Lysimachia vulgaris var. davurica) ameliorates liver fibrosis in db/db mice with methionine- and choline-deficient diet-induced nonalcoholic steatohepatitis / Yang-Ju S. [et al.] // BMC Complementary Medicine and Therapies. 2021. [Internet] URL: https://bmccomplementmedtherapies.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-021-03212-6 (Accessed: 05.03.2022).

5. Podolak I., Strzalka M. Qualitative and quantitative LC profile of embelin and rapanone in selected Lysimachia species. Chromatographia // Chromatographia. 2008. N 67. P. 471-475.

6. Podolak I., Elas, M., Cieszka, K. In vitro antifungal and cytotoxic activity of triterpene saponosides and quinoid pigments from Lysimachia vulgaris L. // Phytotherapy Research. 1998. N 12. P. 70-73.

SUMMARY

PHARMACOGNOSTIC ANALYSIS OF THE GRASS OF YELLOW LOOSESTRIFE (*LYSIMACHIA VULGARIS* L.)

Kripak E. M., 5nd year student
Academic advise: **Zhokhova E.V**., candidate of pharmaceutical sciences, associateprofessor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: kripak.ekaterina@pharminnotech.com

Yellow loosestrife (Lysimachia vulgaris L.) is not included in the current State Pharmacopoeia of Russia, which makes it an interesting object for research. According to the literature data, loosestrife has a large amount of flavonoids in its composition, which was confirmed by chemical and physico-chemical methods of analysis in the study of the composition of raw materials. The conclusions made it possible to propose standardizing the raw material of common loosestrife by UV-spectrophotometry by reaction with aluminum chloride with rutin as a standard substance.

Keywords: *yellow loosestrife grass, flavonoids, rutin, spectrophotometry, extractives.*

REFERENCES

1. Trembalya Ya.S., Drozdova I.L., Azarenkova T.A. Anatomical structure of the reproductive organs of the common loosestrife // Innovative technologies in pharmacy. 2020. N 10. P. 150-154. (in Russian).

2 Toth A., Toth G., Kery A. Polyphenol composition and antioxidant capacity of three Lysimachia species // Natural Product Communication. 2014. N 9. P. 1473-1478.

3. Evalution of antibacterial, anyitumor, antioxidant activities and phenolic constituents of field-grown and in vitro-grown Lysimachia vulgaris / B.A. Yildirim [et al.] // African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines: AJTCAM. 2017. N 14(2). P. 177-187.

4. Yellow loosestrife (Lysimachia vulgaris var. davurica) ameliorates liver fibrosis in db/db mice with methionine- and choline-deficient diet-induced nonalcoholic steatohepatitis / Yang-Ju S. [et al.] // BMC Complementary Medicine and Therapies. 2021. [Internet] URL: https://bmccomplementmedtherapies.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-021-03212-6 (Accessed: 05.03.2022).

5. Podolak I., Strzalka M. Qualitative and quantitative LC profile of embelin and rapanone in selected Lysimachia species. Chromatographia // Chromatographia. 2008. N 67. P. 471-475.

6. Podolak I., Elas, M., Cieszka, K. In vitro antifungal and cytotoxic activity of triterpene saponosides and quinoid pigments from Lysimachia vulgaris L. // Phytotherapy Research. 1998. N 12. P. 70-73.

УДК 615.01:633.88

МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТЕНИЯ *SEMENOVIA TRANSILIENSIS L*

Куанышов А.Г., PhD. 1 год обучения, **Болатбекова А., Даутбаева К.,** студ. 2 курс Школа фармации
Научный руководители: **Ибрагимова Л.Н.**, канд. фарм. н., ассоцированный профессор,
НАО Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова,
«Технология фармацевтического производства»
г. Алматы, Толе би, 94, Республика Казахстан
Roman Lesyk, профессор, Львовский национальный медицинский университет, Украина
Katarzyna Gawel-Beben, ассоцированный профессор,
Университет информационных технологий и менеджмента, Польша
E-mail: akuanyshov@gmail.com

В работе представлена информация о морфолого-анатомических признаках растения *Semenovia transiliensis L.* и результаты патентно-информационного обзора рода *Semenovia* с исследованием химического состава растений и их активности.

Ключевые слова: *Semenovia transiliensis L., семеновия заилийская, морфологические признаки, род Semenovia, химический состав, активность.*

В последние несколько десятилетий значительно возросло использование лекарственных растительных средств в медицинской практике, более 80% населения во всем мире выбирают их для лечения различных заболеваний [1]. Казахстан имеет существенные сырьевые запасы лекарственных растений (более 1300 видов), 14% из которыхявляются эндемиками [2]. Данное отечественное сырье может быть использовано при создании новых лекарственных средств.

В школе фармации Казахского национального медицинского университета им С.Д. Асфендиярова совместно с Львоским национальным медицинским университетом, Университетом информационных технологий и менеджмента (Польша, г. Жешув), Люблинским медицинским университетом (Польша, г. Люблин) ведутся полномасштабные исследования потенциально перспективного лекарственного растения *Semenovia transiliensis L.*, относящегося к роду *Semenovia* семейству *Umbelliferae*, или *Apiaceae*, (Зонтичные). Род *Semenovia* насчитывает 16 видов на территории Средней Азии и Казахстана [3].

Патентно-информационный поиск литературных данных показал, что в научной медицине растения рода *Semenovia* обладают цитотоксической [4], антибактериальной [5,6], антиоксидантной и антимикробной активностью [7].

Целью работы является изучение морфолого-анатомических признаков растения *Semenovia transiliensis L.* и перспективы её использования.

Задачами являются установление видовой принадлежности, установление морфолого-анатомический признаков растения *Semenovia transiliensis* и анализ патентно-информационного поиска рода *Semenovia.*

Морфологические признаки были определены при помощи собранного дикорастущего сырья *Semenovia transiliensis* ***L.***, кототорое было собрано в алматинской области, подгорной равнине западной оконечности Заилийского Алатаув период с середины июня до середины сентября 2021. Растение идентифицировано в РГП «Институт ботаники и фитониринга» Республики Казахстан (имеется сертификат). Литературный обзор сделан при помощи следующих баз данных: Web of Science, Scopus, PubMed, Googlescholar, googlepatent.

У собранного сырья установлена видовая принадлежность к роду *Semenovia* к растению *Semenovia transiliensis* L. В таблице 1 описаны морфолого-анатомические признаки *Semenovia transiliensis L.* Частично данная информация будет включена в проект аналитического нормативного документа при определении качества потенциально лекарственного растительного сырья в раздел идентификация.

Таблица 1 – Морфолого-анатомические признаки *Semenovia transiliensis L*

Органы растений	*Semenovia transiliensis L.*
Корень	веретеновидный, шейка цельная
Стебель	одиночный, 50–60 см высотой, круглый, тонкобороздчатый, полый, обычно голый, реже покрытый редкими волосками, около середины немного ветвящийся
Листья	совершенно голые или с нижней стороны более или менее опушенные, прикорневые на длинных и тонких черешках, пластинка их перисто-рассеченная, из 5–6 пар супротивно расположенных долей, последние 2–3 см длиной, широко-яйцевидные, перисто-надрезанные или рассеченные на ланцетовидно-линейные дольки. Стеблевые листья с укороченными черешками, расширенными при основании в яйцевидные влагалища, пластинка их состоит из ланцетовидных, а иногда почти линейных, цельнокрайних или крупнозубчатых долей, верхние листья сидячие, с ланцетовидными влагалищами
Зонтики	на длинных ножках, 7–11-лучевые, около 5 см шириной, лучи их покрытые железистыми волосками, обвертка из 3–4 линейных листочков, зонтички 15–20-цветковые, с обверточками из 3–4, однобоко расположенных, линейных, равных зонтичкам листочков
Цветки	все обоеполые, зубцы чашечки неодинаковые, наружные линейно-ланцетовидные, лепестки наружных цветков зонтика до 6 мм дл., снаружи опушенные
Плоды	эллиптические, слегка опушенные, 5–8 мм длиной и 4—5 мм шириной

Согласно проведенного патентно-информационного поиска имеются данные по следующим растениям рода *Semenovia: Semenovia transiliensis, Semenovia suffruticosa, Semenovia frigida, Semenovia tragioides, Semenovia dichotoma*, данные представлены в таблице 2. Ученые провели исследования химического состава метанольного экстракта из стеблей *Semenovia transiliensis*, который показал содержание в нем фуранокумаринов, обладающих фитотоксической активностью [4]. Также иранские ученые провели исследования следующих растений рода *Semenovia*: *Semenovia suffruticosa*, *Semenovia frigida, Semenovia tragioides, Semenovia dichotoma*. Ими были исследованы субстанции (метанольный экстракт и эфирные масла) надземной части растений, состав которых показал содержание терпеноидов, оказывающих цитотоксичную, антиоксидантную, антибактериальную активность [5-7].

Таблица 2 – Химический состав и изученные активности растений рода *Semenovia*

Наименование растения рода *Semenovia*	Исследуемые субстанции	Химический состав	Изученная доказанная активность	Ссылка
Semenovia transiliensis	Метанольный экстракт стеблей	Псорален, изопсорален, гератомин, изопентенилоксиизобергаптен, императорин, бергаптен, ксантотоксин, геракленин, гераленол	Фитоксическая активность	[4]
Semenovia suffruticosa	Метанольный экстакт надземной части	z-β-ocimene, linalool, β-bisabolol, α-pinene, camphene, sabinene, β-pinene, myrcene, α-terpinene, p-cymene, limonene, 1,8-cineole, E-β-оцимен, γ-terpinene, cis-sabinenehydrate, p-cresol, α-terpinolene, isopentyl-2-methylbutanoate, allo-ocimene, terpinene-4-ol, α-terpineol, lavandulyl acetate, cis-Jasmone, methyl eugenol, trans-caryophyllene, germacrene-D, bicyclogermacrene, δ-cadinene, caryophyllene oxide, spathulenol		[5]
Semenovia frigida	Эфирное масло надземной части	α-terpineol, linalool, citronellol, spathulenol, viridiflorol, citral, piperitone, geranial, geraniol, β-caryophyllene, α-humulene, ar-curmurene, bicyclogermacrene, cuparene, geranylisobutyrate, (z)-nerolidol, caryophylleneoxide, 10-epi-γ-eudesmol, β-eudesmol	Антибактериальная активность	[6]
Semenovia tragioides	Эфирное масло надземной части	lavandulyl acetate, geranyl acetate, z-β- ocimene, p-cymene, γ-terpinene	Антиоксидантная и антимикробная активности	[7]
Semenovia dichotoma	Эфирное масло надземной части	Caryophylleneoxide, β-pinene	Антибактериальная активность	[8]

Согласно флоре Казахстана *Semenovia transiliensis* распространена в Заилийском и Кунгей Алатау, хребте Кетмень и Терской Алатау, Киргизском Алатау [9].

Таким образом, установлена видовая принадлежность *Semenovia transiliensis*, описаны ее морфолого-анатомические признаки, проведена оценка патентно-информационного поиска растений рода *Semenovia*. Широкий спектр БАВ и литературные данные свидетельствуют о перспективе использования растения *Semenovia transiliensis* в традиционной медицине.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety // Front Pharmacol. 2014. N 4. P. 177. doi:10.3389/fphar.2013.00177

2. Байтенов М.С. Флора Казахстана. Т. 1. 1999. С. 312.

3. Украинская У.А., Клюйков Е.В. Систематика и география видов рода Semenovia Regel&Herder (Apiaceae) Средней Азии и Казахстана // Актуальные вопросы сохранения биологического разнообразия. Интродукция растений. 2015. С. 233-242.

4. Phytotoxic furanocoumarins from the shoots of Semenovia transiliensis / S. Sondhia [et al.] // Nat Prod Commun. 2012. Vol. 7(10). P. 1327-30.

5. Khoddami M., Sheikh H.M., Hassanshahian M. Antibacterial Activity of Semenovia suffruticosa (Essential Oil) Against Pathogenic Bacteria and Determination of Chemical Composition of Essential Oils by Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis in Four Regions of Kerman. // J Diet Suppl. 2019. Vol. 16(5). P. 530-540. doi: 10.1080/19390211.2018.1472167.

6. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of Semenovia frigida and Chaerophyllum bulbosum from Iran / S. Masoudi [et al.] // Chemistry of Natural Compounds. 2011. N 47. P. 829-832.

7. Antioxidant and antimicrobial activity evaluation and essential oil analysis of Semenovia tragioides Boiss. from Iran / A. Bamoniri [et al.] // Food Chemistry. 2010. N 12. P. 3.

8. Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oils of Semenovia dichotoma (Boiss.) Manden., Johreniopsis seseloides (C.A.Mey) M.Pimen and Bunium cylindricum (Boiss. et Hohen.) Drude., Three Umbelliferae Herbs Growing Wild in Iran / S. Masoudi [et al.] // Journal of Essential Oil Research. 2005. Vol. 17(6). P. 691-694, doi: 10.1080/10412905.2005.9699034.

9. Флора Казахстана / Н.В. Павлов [и др.]. Т. 6. 1963.

SUMMARY

MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL STUDY AND PROSPECTS FOR THE USE OF THE PLANT *SEMENOVIA TRANSILIENSIS L.*

Kuanyshov A.G., PhD student. 1st year of study, **Bolatbekova A., Dautbaeva K.**, 2nd year students
Academic advise: **Ibragimova L.N.**, PhD, associate professor
S.D. Asfendiyarov Kazakh National Medical University, «Technology of pharmaceutical production»
Almaty, Tole bi, 94, Republic of Kazakhstan
Roman Lesyk, professor, Lviv National Medical University, Ukraine
Katarzyna Gawel-Beben, Associate professor, University of Information Technology and Management, Poland
E-mail: akuanyshov@gmail.com

The paper presents information on the morphological and anatomical features of the plant *Semenovia transiliensis L.* and the results of a patent information review of the genus *Semenovia* with a study of the chemical composition of plants and their activity.

Keywords: *Semenovia transiliensis L., Semenovia transiliensis, morphological characters, genus Semenovia, chemical composition, activity.*

REFERENCES

1. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety // Front Pharmacol. 2014. N 4. P. 177. doi:10.3389/fphar.2013.00177
2. Байтенов М.С. Флора Казахстана. Т. 1. 1999. С. 312.
3. Украинская У.А., Клюйков Е.В. Систематика и география видов рода Semenovia Regel&Herder (Apiaceae) Средней Азии и Казахстана // Актуальные вопросы сохранения биологического разнообразия. Интродукция растений. 2015. С. 233-242.
4. Phytotoxic furanocoumarins from the shoots of Semenovia transiliensis / S. Sondhia [et al.] // Nat Prod Commun. 2012. Vol. 7(10). P. 1327-30.
5. Khoddami M., Sheikh H.M., Hassanshahian M. Antibacterial Activity of Semenovia suffruticosa (Essential Oil) Against Pathogenic Bacteria and Determination of Chemical Composition of Essential Oils by Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis in Four Regions of Kerman. // J Diet Suppl. 2019. Vol. 16(5). P. 530-540. doi: 10.1080/19390211.2018.1472167.
6. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of Semenovia frigida and Chaerophyllum bulbosum from Iran / S. Masoudi [et al.] // Chemistry of Natural Compounds. 2011. N 47. P. 829-832.
7. Antioxidant and antimicrobial activity evaluation and essential oil analysis of Semenovia tragioides Boiss. from Iran / A. Bamoniri [et al.] // Food Chemistry. 2010. N 12. P. 3.
8. Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oils of Semenovia dichotoma (Boiss.) Manden., Johreniopsis seseloides (C.A.Mey) M.Pimen and Bunium cylindricum (Boiss. et Hohen.) Drude., Three Umbelliferae Herbs Growing Wild in Iran / S. Masoudi [et al.] // Journal of Essential Oil Research. 2005. Vol. 17(6). P. 691-694, doi: 10.1080/10412905.2005.9699034.
9. Флора Казахстана / Н.В. Павлов [и др.]. Т. 6. 1963.

УДК 543.544:582.711.16(045)

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОРТОВ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ, КУЛЬТИВИРУЕМОЙ В ПИТОМНИКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ СПХФУ

Ланг Д.Д., студ. 5 курса
Руководитель: **Скляревская Н.В.**, к. фарм. н, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: lang.darya@pharminnotech.com

В ходе исследования был проведен сравнительный качественный и количественный анализ биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье родиолы розовой, культивируемой в питомнике лекарственных растений СПХФУ, методами высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Были определены образцы *Rhodiola rosea* с большим количественным содержанием салидрозида.

Ключевые слова: *родиола розовая, Rhodiola rosea, корневища и корни, адаптоген, ВЭЖХ, ВЭТСХ, салидрозид.*

Родиола розовая (*Rhodiola rosea* L.) – многолетнее травянистое растение из семейства толстянковых (Crassulaceae). Также известна под названиями золотой корень, арктический корень. Родиола розовая имеет дизъюнктивный евро-азиатский ареал. Встречается в горах Западной Европы (Альпы, Карпаты), Центральной и Восточной Сибири, на Дальнем Востоке, включая Сахалин и Камчатку, в горах Южной Сибири (Алтай, Саяны, горные системы Тувы и Забайкалья). Произрастает в полярно-арктической области, высокогорном поясе, на альпийских и субальпийских лугах. На Среднем Урале родиола розовая распространена в горных тундрах и на гольцах, каменистых склонах и осыпях в Ивдельском предгорном округе [1].

Rhodiola rosea является официальным растением в ряде стран, в том числе и в России. Лекарственным растительным сырьем являются корневища и корни, заготавливаемые в фазу цветения и плодоношения [2].

Родиола розовая на данный момент является одним из наиболее используемых адаптогенов растительного происхождения. Согласно многочисленным исследованиям *Rhodiola rosea* также обладает нейро-, кардио-, гепатопротекторными свойствами, оказывает антиоксидантное, стимулирующее действие на нервную систему, нормализует эндокринную деятельность, а также обладает антиастенической активностью [2]. Корневища и корни родиолы розовой содержат эфирное масло, жиры, воски, стеролы (β–ситостерин, даукостерин), гликозиды, органические кислоты (щавелевая, лимонная, яблочная, галловая, янтарная), фенольные соединения: дубильные вещества; фенилэтаноиды, фенилпропаноиды и их гликозиды (тирозол, *п*-кумаровый спирт, коричный спирт, кофейная кислота, салидрозид, вималин, розин, розавин, триандрин, розарин); флаволигнаны (ларицирезинол, родиолин); флавоноиды (родионин, родионидин, родиолгин, родалин, трицин и др.), монотерпены (розиридин, розиридол) [2, 3].

Основным источником растения в коммерческих целях является горный Алтай и южные регионы предгорного Алтая. Численность популяции уменьшается из-за массовой заготовки сырья при возрастающей популярности родиолы розовой среди населения, увеличения антропогенной нагрузки и горнодобывающей деятельности. *Rhodiola rosea* включена в Красную книгу Российской Федерации – охраняется по всему ареалу, кроме Красноярского и Алтайского края, Магаданской области и Республики Тыва. И в настоящий момент заготовка растения ограничена, так как восстановление ресурсов происходит в течение длительного времени. Поэтому очень важно проводить разработку и исследование сырьевой базы и выявление сорта родиолы розовой с максимальным содержанием биологически активных веществ для дальнейшего культивирования [4, 5].

Целью исследования является сравнение различных сортов родиолы розовой, культивируемой в питомнике лекарственных растений СПХФУ, по содержанию основных биологически активных соединений.

Задачами данного исследования являлись:

1. Проведение качественного анализа биологически активных веществ в подземных органах родиолы розовой методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ).

2. Определение количественного содержания салидрозида в образцах сырья *Rhodiola rosea* методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Объектами исследования были 20 образцов корневищ и корней родиолы розовой, заготовленных в 2020 и 2021 гг. в питомнике лекарственных растений СПХФУ. Сырье, собранное в 2020 г., было высушено воздушно-теневым способом. Образцы 2021 г. сушили с использованием тепловой сушилки при температуре 60° С. Высушенное сырье измельчали на электрорезке ТУ 37-53 тип 622-1-М, просеивали через сито с отверстиями диаметром 0,25 мм.

Извлечения получали по следующей методике: около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 70-80 мл 70% этилового спирта, закрывали пластмассовой пробкой и экстрагировали в течение 30 мин в ультразвуковой ванне «Сапфир-4.0 ТТС» (Россия). Охлажденное до комнатной температуры извлечение вместе с частичками корневищ и корней, смывая их спиртом 70 %, количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводя спиртом 70 % до метки и тщательно перемешивали. Около 3-5 мл полученного раствора фильтровали через бумажный фильтр, отбрасывая первые 1-2 мл фильтрата. Полученный раствор использовали для анализа.

Изучение качественного состава подземных органов *Rhodiola rosea* проводили методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии на приборе *CAMAG* (Швейцария) [6]. Извлечения наносили на пластинки Merck HPTLC plates Silica gel 60 F 254. Использовали системы растворителей: этилацетат–метанол–муравьиная кислота–вода (77:13:10:2) и хлороформ–спирт 96%–вода (25:16:1), стандартными образцами были тирозол, салидрозид, розарин. Детектирование хроматограмм проводили в видимом и УФ-свете при длинах волн 254 и 366 нм.

Количественное определение салидрозида проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе Shimadzu LC-20 (Япония), снабженном диодно-матричным детектором. Разделение проводили на колонке Luna C18, размером 250x4,6 мм, заполненной обращенно-фазным октадецилсилильным сорбентом с частицами 5 мкм. В качестве элюентов применяли смесь 0,05% трифторуксусной кислоты и ацетонитрила, изменение состава подвижной фазы проводили в градиентном режиме. Объем вводимой пробы составлял 20 мкл. Регистрировали хроматограммы при длине волны 254 нм. Расчет содержания салидрозида проводили с использованием метода внешнего стандарта [7]. Обработку результатов проводили с помощью программы LabSolutions.

Методом ВЭТСХ были исследованы водно-спиртовые извлечения из различных сортов родиолы розовой 2020 и 2021 гг. заготовки. Спиртовые растворы наносили на пластины для ВЭТСХ по 15 и 20 мкл. Затем пластины помещали в автоматическую камеру *Twin Trough Chamber CAMAG ADC 2* с системами растворителей, указанными выше. Элюирование прекращалось автоматически, когда фронт растворителей достигал 70 мм от линии старта. Изображение пластин получали с помощью *CAMAG TLC Visualizer 2* в видимом и УФ-свете при длинах волн 254 и 366 нм. Методом ВЭТСХ в различных образцах корневищ и корней родиолы розовой обнаружили от 3 до 10 зон адсорбции, среди которых идентифицировали тирозол, салидрозид, розарин. Было установлено, что лучшее разделение веществ происходило в системе растворителей этилацетат–метанол–муравьиная кислота–вода (77:13:10:2).

Все образцы подземных органов родиолы розовой 2020 и 2021 гг. заготовки анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Хроматограммы салидрозида и извлечения, полученного из образца №1 корневищ и корней *Rhodiola rosea*, представлены на рисунках 1, 2.

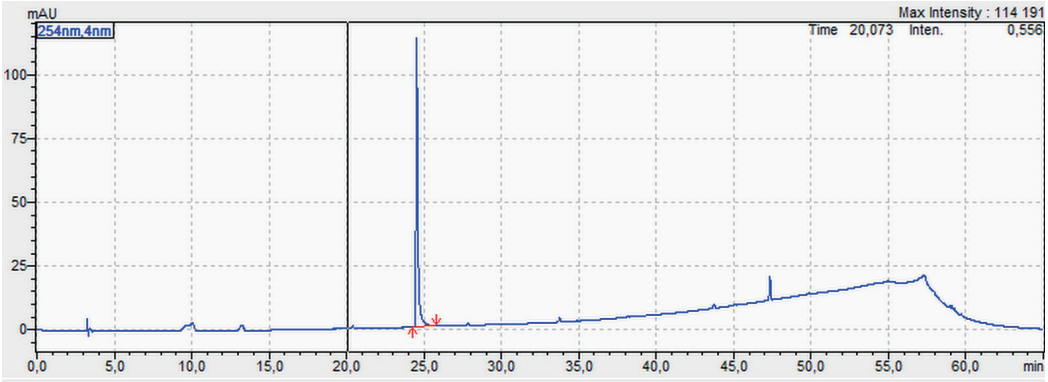


Рисунок 1. ВЭЖХ-хроматограмма раствора стандартного образца салидрозида

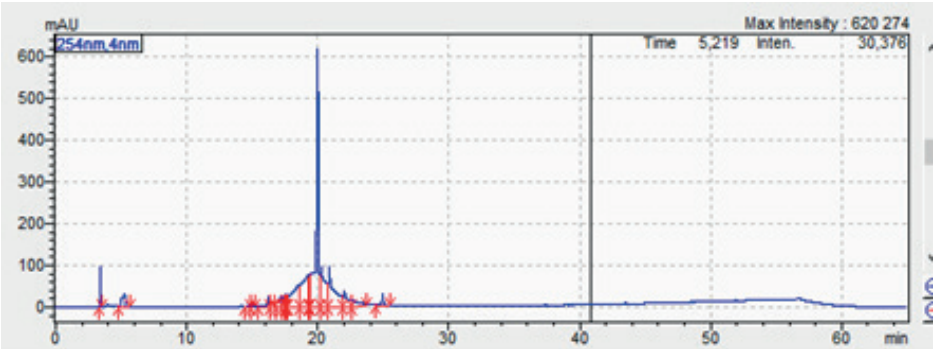


Рисунок 2. ВЭЖХ-хроматограмма раствора образца №1 2021 г. заготовки

Результаты количественного определения салидрозида в корневищах и корнях *Rhodiola rosea* методом ВЭЖХ представлены на рисунке 3.

Содержание салидрозида в различных сортах родиолы розовой составило от 0,027 % до 0,173% (2020 г. заготовки) и от 0,081% до 0,394 % (2021 г. заготовки). Максимальное содержание салидрозида отмечено в образцах №1 (0,394 %) и №2 (0,377 %), собранных в 2021 г.

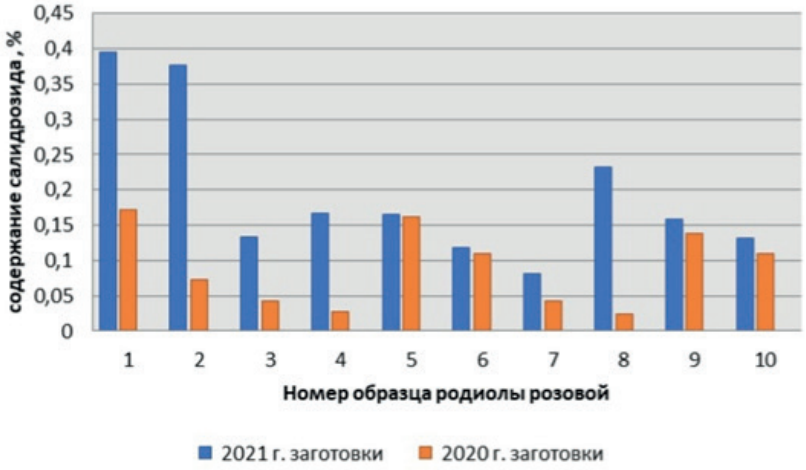


Рисунок 3. Содержание салидрозида в образцах корневищ и корней родиолы розовой

Таким образом, в результате качественного анализа 20 образцов различных сортов родиолы розовой методом ВЭТСХ были обнаружены тирозол, салидрозид и розарин. Методом ВЭЖХ определено содержание салидрозида в каждом образце. Содержание салидрозида в корневищах и корнях *Rhodiola rosea* 2020 г. заготовки меньше, чем в сырье, заготовленном в 2021 г. По-видимому, это отличие связано с условиями сушки и хранения подземных органов родиолы розовой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белозерова Л.И., Хадарцев А.А., Платонов В.В. Сравнительная характеристика химического состава женьшеня, элеутерококка и родиолы розовой // Вестник новых медицинских технологий, электронный журнал. 2017. №4. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitelnaya-harakteristika-himicheskogo-sostava-zhenshenya-eleuterokokka-i-rodioly-rozovoy (Дата обращения 14.02.2022).

2. Panossian A, Wikman G, Sarris J. Rosenroot (Rhodiola rosea): traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy // Phytomedicine. 2010. Vol. 17. N 7. P. 481-493. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.02.002.

3. Li Y., Pham V., Bui M., Song L., Wu C., Walia A., Uchio E., Smith-Liu F., Zi X. *Rhodiola rosea* L.: an herb with anti-stress, anti-aging, and immuno-stimulating properties for cancer chemoprevention // Current Pharmacology Reports. 2017. Vol. 3. N 6. P. 384-395. https://doi.org/10.1007/s40495-017-0106-1.

4. Бабенко Л. В., Смирнова Е. В. Возможности повышения качества рассады родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) // Биология растений и садоводство: теория, инновации. 2018. Т. 146. С. 26-31. https://doi.org/10.25684/NBG.scbook.146.2018.04.

5. Астафьев М. В., Саксонов С. В. Эколого-морфологическое изучение родиолы розовой, произрастающей в Самарской области // Бюл. Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2007. Т. 16. № 1-2 (19-20). С. 283-288.

6. CAMAG: World Leader in Planar Chromatography [Электронный ресурс]. URL: https://www.camag.com/ (Дата обращения 10.02.2022).

Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание, т. 4. ФС.2.5.0036.15 «*Родиолы розовой корневища и корни*». URL: http://femb.ru/record/pharmacopea14 . (Дата обращения 10.02.2022).

SUMMARY

COMPARATIVE ANALYSIS OF VARIETIES OF RHODIOLA ROSEA, CULTIVATED IN THE SPCPU MEDICINAL PLANTS NURSERY

Lang D.D., 5th year student
Academic advise: **Sklyarevskaya N.V.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: lang.darya@pharminnotech.com

During the research, a comparative qualitative and quantitative analysis of biologically active substances in the medicinal plant material of *Rhodiola rosea*, cultivated in the SPCPU medicinal plants nursery, was carried out using high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) and high-performance liquid chromatography (HPLC). Samples of *Rhodiola rosea* with a high quantitative content of salidroside were identified.

Keywords: *Rhodiola rosea*, *rhizomes and roots, adaptogen, HPLC, HPTLC, salidroside.*

REFERENCES

1. Belozerova L.I., Khadartsev A.A., Platonov V.V. Comparative characteristics of the chemical composition of Ginseng, Eleutherococcus and Rhodiola rosea // Bulletin of New Medical Technologies, Electronic journal. 2017. N 4. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitelnaya-harakteristika-himicheskogo-sostava-zhenshenya-eleuterokokka-i-rodioly-rozovoy (Date of treatment 02/14/2022). [in Russian]

2. Panossian A, Wikman G, Sarris J. Rosenroot (Rhodiola rosea): traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy // Phytomedicine. 2010. Vol. 17. N 7. P. 481-493. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.02.002.

3. Li Y., Pham V., Bui M., Song L., Wu C., Walia A., Uchio E., Smith-Liu F., Zi X. *Rhodiola rosea* L.: an herb with anti-stress, anti-aging, and immuno-stimulating properties for cancer chemoprevention // Current Pharmacology Reports. 2017. Vol. 3. N 6. P. 384-395. https://doi.org/10.1007/s40495-017-0106-1.

4. Babenko L. V., Smirnova E.V. The possibilities of improving the quality of seedlings of Roseroot (*Rhodiola rosea* L.) // Plant biology and horticulture: theory, innovations. 2018. Vol. 146. P. 26-31. https://doi.org/10.25684/NBG.scbook.146.2018.04. [in Russian]

5. Astafyev M. V., Saksonov S. V. Ecological and morphological study of *Rhodiola rosea* growing in the Samara region // Samara Luka: problems of regional and global ecology. 2007. Vol. 16. N 1-2 (19-20). P. 283-288. [in Russian]

6. CAMAG: World Leader in Planar Chromatography [Electronic resource]. URL: https://www.camag.com / (Date of treatment 02/10/2022).

7. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition, vol. 4. FS.2.5.0036.15 «Rhodiola rosea rhizomes and roots». URL: http://femb.ru/record/pharmacopea14. (Date of treatment 02/10/2022).

УДК 615.074:615.322

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ ОРТИЛИИ ОДНОБОКОЙ

Лёзина А.В., асп. 3 года обучения (ORCID: 0000-0002-4738-8570),
Кислов Г.Л., студ. 4 курса (ORCID: 0000-0003-1549-7120)
Научные руководители: **Тернинко И.И.**, док. фарм. наук, доцент, профессор кафедры фармацевтической химии, начальник ИЛ(ЦККЛС) (ORCID: 0000-0002-2942-1015),
Дубенская Г.И., канд. биологических наук, доцент кафедры фармакогнозии,
Бабушкина Е.В., старший преподаватель кафедры фармакогнозии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: gennadij.kislov@spcpu.ru

Методом цифровой микроскопии изучены морфолого-анатомические особенности строения лекарственного растительного сырья ортилии однобокой (*Orthilia secunda L.*). Выявлены основные макро- и микроскопические диагностические признаки, которые могут быть использованы в качестве параметра стандартизации травы ортилии однобокой.

Ключевые слова: *ортилия однобокая, трава, листья, стебли, микроскопия, диагностические признаки.*

Ортилия однобокая (*Orthilia secunda L.*, сем. вересковые – *Ericaceae*) – многолетнее травянистое растение, распространенное в лесах холодного и умеренного пояса Северного полушария [1]. Применяется в народной медицине как биологически активная добавка (БАД) в виде чаев при заболеваниях женской репродуктивной системы [2-6]. В научной литературе [7, 8] имеются сведения о морфолого-анатомическом строении сырья ортилии однобокой, однако их число незначительно, и они не несут достаточного количества информации о диагностических признаках Ортилии однобокой, заготовленной в различных регионах произрастания.

Целью настоящей работы являлось изучение морфолого-анатомических особенностей строения травы (листьев и стеблей) Ортилии однобокой, как одного из показателей качества (критерий «Подлинность») лекарственного растительного сырья (ЛРС).

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. приготовление микропрепаратов листа, стебля Ортилии однобокой;
2. проведение микроскопического исследования;
3. определение диагностических признаков ЛРС Ортилии однобокой.

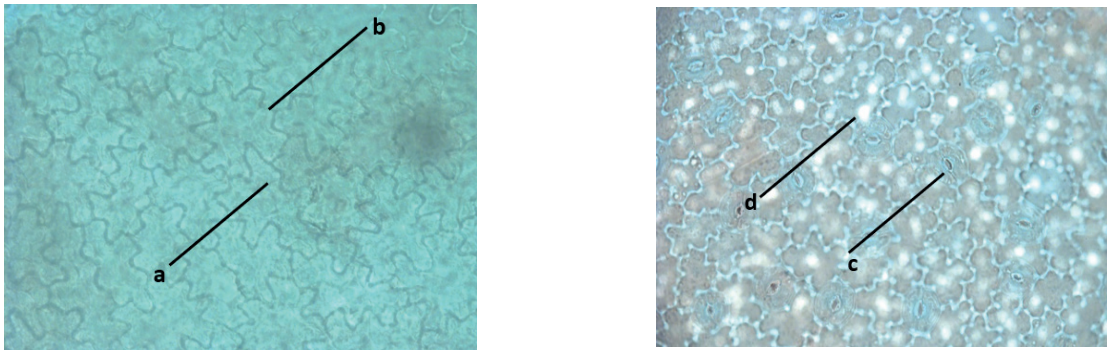
Материалом исследования служили трава (листья и стебли) ортилии однобокой (место сбора – Северная часть Казахстана, район Кокшетау, июль 2020 г.). Траву заготавливали в фазу плодоношения, поэтому элемент «цветки», характерный для ЛРС «трава» отсутствует.

Препараты листьев с поверхности готовили по методике, приведенной ГФ РФ XIV издания ОФС.1.5.3.0003.14 [9]: кипятили и просветляли в 5% растворе натрия гидроксида, разведенным водой в отношении 1:1 в течение 5 минут. Затем размягченное сырье промывали водой и снимали эпидермис препаровальной иглой с обеих сторон листа.

Для приготовления поперечных срезов листьев, стеблей и черешков воздушно-сухое сырье предварительно размачивали путем кипячения в воде, а затем размягчали в смеси спирта этилового 96%, глицерина ректифицированного и воды очищенной в соотношении 1:1:1. Материал настаивали в течение суток. Фиксацию материала и пропитывание смолой проводили по методике, используемой в лаборатории анатомии и морфологии ФГБУН БИН РАН и представленной в работе Лужанина В.Г. [10]. Кусочки материала помещали в пробирки с раствором формальглутара, откачивали из них воздух с помощью насоса Камовского (для лучшего проникновения фиксатора) и колбы Бунзена при открытых пробках. Откачку воздуха прекращали, когда из материала переставали выделяться пузырьки и при открытой пробке у колбы Бунзена все кусочки материала в пробирках находились на дне и не всплывали. Пробирки с материалом, закрытые корковыми пробками, хранили в холодильнике не больше 20 дней. В первый день материал отмывали от формальглутара в течение 1 часа в трех сменах фосфатного буфера с pH 7,4 и проводили постфиксацию раствором 2% четырехокиси осмия. Раствор осмия наливали в пробирки так, чтобы материал был покрыт целиком. Пробирки с кусочками материала в растворе осмия ставили в холодильник на ночь. На второй день материал промывали фосфатным буфером с pH 7,4 2 раза и обезвоживали в серии ацетонов возрастающих концентраций. После обезвоживания начинали постепенно пропитывать материал эпоксидной смолой. На третий день материал извлекали из пробирок и раскладывали в ванночки с чистой смолой, затем ванночки с материалом оставляли в эксикаторе, на дне которого находился безводный хлорид кальция ($CaCl_2$). Через двое суток ванночки с материалом помещали в термостат, нагретый до 60°С. Через 30 минут проверяли ориентацию кусочков материала в смоле, если было необходимо, то их ориентацию исправляли. Поперченые срезы листа и стебля (толщиной 2 мкм) получали на автоматическом ультрамикротоме Reichert Ultracut E.

Исследование микроскопических особенностей проводили с помощью бинокулярного цифрового микроскопа марки «Zeiss» (Германия) Axio Scope.A1 с увеличениями (×5, ×10, ×20, ×40), фотографировали с помощью встроенной камеры AxioCam MRCS5, обработку проводили в программе Zen lite 2011.

На препаратах листа с поверхности (рисунок 1А, 1Б) видны клетки эпидермиса с неравномерно утолщенными (четковидно утолщенными) извилистыми клеточными стенками. Клетки эпидермы верхней и нижней стороны листа сходны по форме. Устьица овально-округлой формы располагаются только на нижней стороне листовой пластинки (рисунок 1Б). Устьичный аппарат аномоцитного типа имеет от 2 до 6 околоустьичных клеток.



(А) (Б)

Рисунок 1. Препарат листа ортилии однобокой с поверхности.
А – верхняя сторона листовой пластинки; Б – нижняя сторона листовой пластинки
a – эпидермис, b – утолщения клеточной стенки, c – устьица, d – друзы

На поперечных срезах листа заметна кутикула, особенно развитая на верхней стороне листа. Для мезофилла листа характерно отсутствие разделения на палисадную и губчатую ткань. На рисунке 2 видно гомогенное строение хлоренхимы, состоящей из округлых клеток, расположенных в 4-5 слоев. В центральной жилке листа заметен закрытый коллатеральный проводящий пучок.

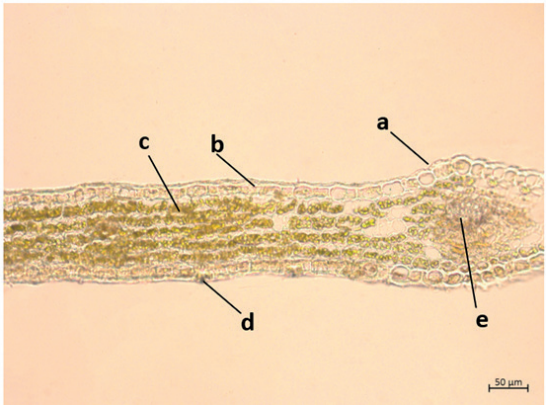
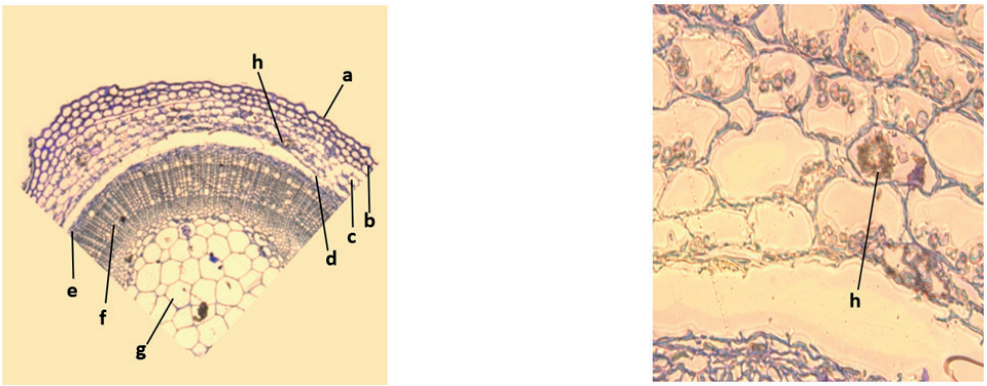


Рисунок 2. Поперечный срез листа ортилии однобокой
a – кутикула, b – клетки мезофилла, c – хлоренхима, d – устьица, e – закрытый коллатеральный проводящий пучок

Стебель ортилии имеет вторичное непучковое строение – флоэма и ксилема располагаются кольцами (рис. 3 А). Покровная ткань стебля – эпидерма, покрытая кутикулой (рис. 3 А). Под ней располагаются 3-4 ряда клеток уголковой колленхимы. Первичная кора состоит из 4-5 рядов паренхимных клеток. В клетках коры заметны крупные включения – друзы оксалата кальция (рис. 3 Б).

Камбиальный слой слабо заметен. Нижние части стеблей ортилии развиваются в течение нескольких вегетационных периодов, поэтому в ксилеме заметны годичные кольца в количестве 2-3 (рис. 3 А). Клетки сердцевины тонкостенные, крупные (рис. 3А).



(А) (Б)

Рисунок 3 А, Б – Поперечный срез стебля ортилии однобокой
a – эпидерма + кутикула, b – колленхима, c – первичная кора, d – флоэма, e – камбий,
f – ксилема, g – клетки сердцевины, h – друзы

Заключение. В результате микроскопического исследования травы ортилии однобокой установлены основные диагностические признаки сырья: четковидное утолщение клеточных стенок эпидермиса, отсутствие разделения на палисадную и губчатую ткань у мезофилла листа, гомогенное строение хлоренхимы, аномоцитный тип устьичного аппарата, друзы оксалата кальция, закрытый коллатеральный проводящий пучок в жилке листа, вторичное непучковое строение стебля. Данные микродиагностические признаки могут быть использованы в качестве параметра стандартизации «Подлинность» травы ортилии однобокой.

Источник финансирования. Испытания проводили с использованием парка оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.31 Фармакогнозия
76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. Плантариум определитель растений онлайн, Orthilia secunda (L.) Описание таксона [Электронный ресурс]. URL: https://www.plantarium.ru/page/view/item/26053.html (Дата обращения 04.03.2022).

2. Телятьев В.В. Целебные клады Восточной Сибири. Иркутск: Вост.-Сиб. Изд-во, 1990. 400 с.

3. Фармакотерапевтическое действие ортилии однобокой // Фармация на рубеже третьего тысячелетия: Материалы науч.-практ. конф. Хабаровск, 2006. С.65-67.

4. Кахерская Ю.С., Федосеева Г.М. Перспективы использования одного из видов рода Ортилия в медицинской практике // Актуальные проблемы фармации: Межрегион. сб. научн. тр. РязГМУ (к 40-летию основания фармфакультета Рязмедуниверситета им. ак. И.П. Павлова). Рязань, 2006. С.89-92.

5. Химическое и фармакологическое исследование ортилии однобокой Orthilia secunda (L.) House / Е.А. Ботоева [и др.] //Сибирский медицинский журнал. 2003. Т. 36. N 1. С. 69-72.

6. Кахерская Ю.С., Горячкина Е.Г., Федосеева Г.М. Сравнительная морфолого-анатомическая характеристика сырья ортилии однобокой и грушанки круглолистной // Сибирский медицинский журнал. 2008. Т. 76. N 1. С. 84-86.

7. Stoyanov K., Raycheva Tz. Anatomical investigation of the leaf in Bulgarian representatives of Pyrolaceae family Jubilee scientific conference «State-of-the-art and problems of agricultural science and education", Agricultural University – Plovdiv // Scientific Works. 2005. Vol. 50(5). P. 119-124.

8. Пензина Т.Н. Морфолого-анатомические признаки ортилии однобокой // Актуальные проблемы фармации: Сб. научн. ст. Алтайского гос. мед. Ун-та. Барнаул, 1995. С.201-205.

9. ОФС.1.5.1.0002.15 «Трава» // Государственная фармакопея РФ. XIV изд. Том II. [Электронный ресурс]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/405 (Дата обращения 04.03.2022).

10. Лужанин В.Г., Родионов А.В., Яковлев Г.П. Молекулярно-филогенетическое исследование рода Ononis L. (Fabaceae) во флоре России и сопредельных государств // Ботанический журнал. 2013. Т. 98. N 5. С. 629-637.

SUMMARY

ANATOMICAL AND MORPHOLOGICAL STUDY OF THE HERB ORTILIA SECUNDA

Lezina A.V., 3rd year post-graduate student, **Kislov G.L.**, 4th year student
Academic advice: **Terninko I.I.,** Doctor of Pharmacy, assistant professor, Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Head of Research Laboratory (DQCC), **Dubenskaya G.I.**, PhD, assistant professor, assistant professor department of pharmacognosy, **Babushkina E.V.**, senior lecturer department of pharmacognosy
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail gennadij.kislov@spcpu.ru

Morphological and anatomical features of the structure of medicinal plant raw materials of *Orthilia secunda L.* were studied by digital microscopy. The main macro- and microscopic diagnostic signs that can be used as a parameter of standardization of the herb *Ortilia secunda L.* have been identified.

Keywords: *Orthilia secunda L., grass, leaves, stems, microscopy, diagnostic signs.*

REFERENCES

1. Plantarium plant determinant online, Orthilia secunda (L.) Description of the taxon [Internet]. URL: https://www.plantarium.ru/page/view/item/26053.html (Accessed 04.03.2022). (in Russian)

2. Telyatev V.V. Healing treasures of Eastern Siberia. Irkutsk East.-Sib. Publishing house, 1990. 400 p. (in Russian)

3. Pharmacotherapeutic effect of ortilia lopsided // Pharmacy at the turn of the third millennium: Materials of scientific and practical conference. Khabarovsk, 2006. P. 65-67. (in Russian)

4. Kakherskaya Yu.S., Fedoseeva G.M. Prospects of using one of the species of the genus Ortilia in medical practice // Actual problems of pharmacy: Mezhregion. collection of scientific tr. of Ryazan State Medical University (to the 40th anniversary of the founding of the pharmaceutical faculty of the Ryazan State University named after I.P. Pavlov). Ryazan, 2006. P. 89-92. (in Russian)

5. Chemical and pharmacological study of one-sided orthilia Orthilia secunda (L.) House / E.A. Botoeva [et al.] // Siberian Medical Journal. 2003. Vol. 36(1). P. 69-72. (in Russian)

6. Kakherskaya Yu.S., Goryachkina E.G., Fedoseeva G.M. Comparative morphological and anatomical characteristics of raw materials of one-sided ortilia and round-leaved pear // Siberian Medical Journal. 2008. Vol. 76(1). P. 84-86. (in Russian)

7. Stoyanov K., Raycheva Tz. Anatomical investigation of the leaf in Bulgarian representatives of Pyrolaceae family Jubilee scientific conference «State-of-the-art and problems of agricultural science and education", Agricultural University – Plovdiv // Scientific Works. 2005. Vol. 50(5). P. 119-124.

8. Penzina T.N. Morphological and anatomical signs of one-sided ortilia // Actual problems of pharmacy: Collection of scientific articles of the Altai State Medical University. Un-ta. Barnaul, 1995. P. 201-205. (in Russian)

9. OFS.1.5.1.0002.15 «Grass» // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. Vol. II. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/405 (Accessed 04.03.2022). (in Russian)

10. Luzhanin V.G., Rodionov A.V., Yakovlev G.P. Molecular phylogenetic study of the genus Ononis L. (Fabaceae) in the flora of Russia and neighboring states // Botanical Journal. 2013. Vol. 98(5). P. 629-637. (in Russian)

УДК 615.074: 615.322

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ГАЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ТРАВЕ *ORTHILIA SECUNDA L.*

Лёзина А.В., асп. 3 года обучения (ORCID: 0000-0002-4738-8570), **Толстикова А.А.**, студ. 4 курса
Руководитель: **Тернинко И.И.**, докт. фарм. наук, доцент, профессор кафедры фармацевтической химии, начальник ИЛ(ЦККЛС) (ORCID: 0000-0002-2942-1015)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: alena.lezina@pharminnotech.com

Методом УФ-спектрофотометрии установлено количественное содержание галловой кислоты и суммы полифенольных соединений в траве ортилии однобокой. Установлено значительное превалирование галловой кислоты в сумме полифенольных соединений (6,64% против 7,01%, соответственно), следовательно, данное соединение должно быть выбрано в качестве целевого при стандартизации травы ортилии однобокой. Показано, что оптимальной специфичностью обладает метод с расчетом по Фирордту, который дает возможность количественной оценки, направленной на целевой компонент.

Ключевые слова: *ортилия однобокая, галловая кислота, полифенольные соединения, спектрофотометрия, количественное определение, дифференциальная спектрофотометрия.*

Ортилия однобокая (матка боровая) *Orthilia secunda L.* – многолетнее травянистое растение семейства Вересковые (*Ericaceae*), районированная во влажных, темных лесных фитоценозах [1], преимущественно в Западной и Восточной Сибири, на территории Малой и Средней Азии [2]. Лекарственным растительным сырьем (ЛРС) является собранная в фазу плодоношения и высушенная трава, которая в Российской Федерации применяется в качестве биологически активной добавки (БАД) при заболеваниях гинекологического профиля (эндометриоз, дисменорея, бесплодие) [3]. Из литературных источников [4] следует, что ЛРС ортилии содержит в своем составе флавоноиды (кемпферол, гиперозид), дубильные вещества (один из возможных структурных компонентов – галловая кислота), кумарины, фенольные соединения (арбутин, гидрохинон). Однако данные о маркерных соединениях, количественном содержании групп БАВ и отдельных соединений, а также критериях стандартизации данного ЛРС малочисленны. Ранее [5] методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) нами было установлено наличие галловой кислоты в траве ортилии однобокой как мажоритарного компонента, что создало предпосылки для выбора этого соединения в качестве целевого при стандартизации, однако количественная оценка содержания галловой кислоты проведена не была.

Цель исследования – количественное определение суммы полифенольных соединений (ПФС) и галловой кислоты (ГК) в спиртовых и водных извлечениях травы ортилии однобокой методом УФ-спектрофотометрии. Для достижения цели был поставлен ряд задач:

• определить количественно сумму ПФС в пересчете на галловую кислоту в спиртоводном извлечении;

• установить содержание ГК в водном извлечении;

• проанализировать полученные результаты и определить наиболее специфичный метода анализа с последующей рекомендацией выбора целевого компонента для стандартизации сырья ортилии однобокой;

Материалом исследования служило воздушно-сухое ЛРС – трава ортилии однобокой *Orthila secunda L.*, заготовленная в Северном Казахстане (район Кокшетау) в августе 2018 года и высушенная методом воздушно-теневой сушки.

Методика получения водного извлечения для количественного определения галловой кислоты (Тринеева О.В., Сливкин А.И. [6]): точную навеску (около 5 г) исследуемого измельченного сырья помещали в коническую колбу вместимостью 500 мл, заливали нагретой до кипения водой в количестве 200 мл, кипятили с обратным холодильником при периодическом перемешивании в течение 30 минут. Затем извлечение процеживали через несколько слоев марли, не дожидаясь охлаждения, в мерную колбу вместимостью 200 мл и доводили объем раствора водой до метки. 1 мл полученного раствора помещали в мерную колбу объемом 25 мл, доводили до метки боратным буферным раствором с pH 9,0. Из 25 мл раствора брали аликвоту 1 мл и помещали в мерную колбу на 10 мл, доводили до метки буфером. Трехкратно измеряли оптическую плотность полученного раствора относительно боратного буферного раствора с pH 9,0 при длинах волн 275±2 нм и 305±2 нм.

Предварительно регистрировали УФ-спектры на спектрофотометре СФ-2000 (Россия).

Содержание ГК в пересчете на абсолютно сухое сырье (%) определяли по методу Фирордта по формулам (1, 2)

$$C_{ГК} = \frac{A_2^{\lambda 2}\times A^{\lambda 1} - A_2^{\lambda 1}\times A^{\lambda 2}}{(A_1^{\lambda 1}\times A_2^{\lambda 2} - A_1^{\lambda 2}\times A_2^{\lambda 1})\times l} = \frac{619{,}43\times A^{\lambda 1} - 348{,}99\times A^{\lambda 2}}{(426{,}44\times 619{,}43 - 141{,}804\times 348{,}99)} = \frac{619{,}43\times A^{\lambda 1} - 348{,}99\times A^{\lambda 2}}{0{,}21\times 10^6}, \quad (1)$$

где $C_{гк}$ – концентрация ГК;

$A_1^{\lambda 1}$ – величина удельного показателя поглощения ГК при 275 нм, равная 426,44;

$A_1^{\lambda 2}$ – величина удельного показателя поглощения ГК при 305 нм, равная 141,804;

$A_2^{\lambda 1}$ – величина удельного показателя поглощения танина при 275 нм, равная 348,99;

$A_2^{\lambda 2}$ – величина удельного показателя поглощения танина при 305 нм, равная 619,43;

$A^{\lambda 1}$ – оптическая плотность исследуемого извлечения при длине волны 275±2 нм;

$A^{\lambda 2}$ – оптическая плотность исследуемого извлечения при длине волны 305±2 нм;

l – толщина слоя, см^3

$$X_{ГК}, \% = \frac{C_{ГК}\times V_{мк1}\times V_{мк2}\times V_{мк3}\times 100}{a\times(100-W)\times V_{a1}\times V_{a2}} = \frac{C_{ГК}\times 200\times 25\times 10\times 100}{a\times(100-W)\times 1\times 1} = \frac{C_{ГК}\times 0{,}5\times 10^7}{a\times(100-W)}, \quad (2)$$

где $X_{гк}$ – содержание ГК, %;

$V_{мк1}$ – $V_{мк3}$ – объем мерных колб, взятых для разведения, мл;

a – масса сырья, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %;

V_{a1} и V_{a2} – объемы аликвот извлечения, мл.

Методика (Тутельян В.А. [7]) получения спиртового извлечения для определения содержания суммы ПФС: точную навеску около 5,0 г измельченного сырья помещали в круглодонную колбу со шлифом, добавляли 50 мл 40% спирта этилового и кипятили на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 минут. Горячую вытяжку процеживали через комок ваты. Вату переносили в колбу для экстрагирования, добавляли 25 мл 40% спирта этилового. Экстракцию проводили дважды, в описанных выше условиях, по 15 мин. Полученные вытяжки объединяли и помещали в мерную колбу ёмкостью 100 мл, доводили объем раствора 40% спиртом этиловым до метки. 1 мл полученного раствора помещали в мерную колбу на 25 мл, доводили объем 40% спиртом этиловым до метки и перемешивали. Далее брали аликвоту 1мл, помещали в мерную колбу объемом 10 мл, доводили до метки спиртом 40%, перемешивали. Трижды измеряли абсорбцию полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 270 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 40% спирт.

Содержание суммы полифенольных соединений в пересчете на галловую кислоту в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле (3):

$$X_{ПФС,}\% = \frac{A\times V_{мк1}\times V_{мк2}\times V_{мк3}\times 100}{A_{1см\,ГК}^{1\%}\times a\times(100-W)\times V_{a1}\times V_{a2}} = \frac{A\times 100\times 25\times 10\times 100}{540\times a\times(100-W)\times 1\times 1} = \frac{A\times 0{,}25\times 10^7}{540\times a\times(100-W)}, \quad (3)$$

где $A_{1см\,ГК}^{1\%}$ – коэффициент удельного поглощения раствора кислоты галловой в 40% спирте при длине волны 270 нм, равный 540;

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

А – масса навески, г.

Результаты. Предварительно в ходе исследования были получены УФ- спектры водного (рис. 1) и спиртового извлечений (рис. 2) травы ортилии однобокой для оценки наличия поглощения в детектируемой области, характерного для целевых компонентов. Параллельно снимали спектры растворителей (боратного буфера и спирта 40%) для оценки параметра «Специфичность» аналитической методики в части отсутствия интерференционного влияния растворителя.

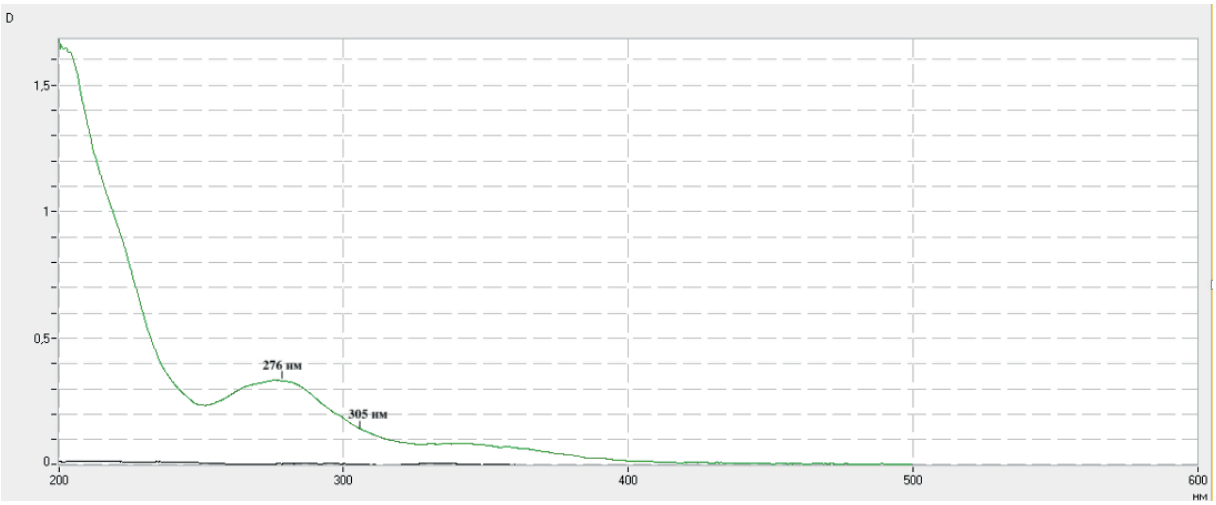


Рисунок 1. УФ-спектр водного извлечения травы ортилии однобокой (зеленый) относительно спектра боратного буфера pH=9,0 (черный)

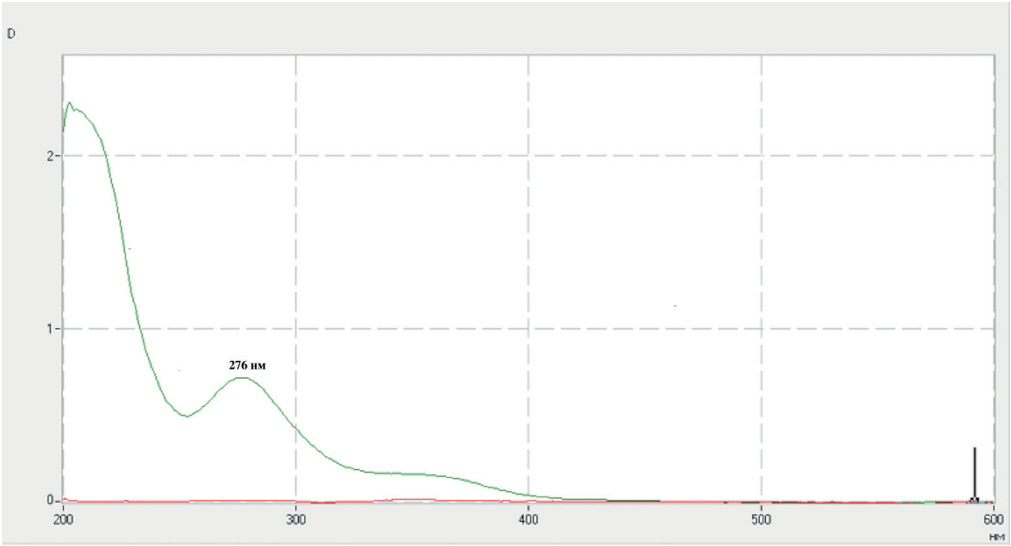


Рисунок 2. УФ-спектр 40% спиртового извлечения травы ортилии однобокой (зеленый) относительно спектра спирта 40% (красный)

Из рисунков 1, 2 следует, что ни боратный буфер, ни спирт этиловый 40% не имеют поглощения в УФ-области, следовательно не влияют на точность метода. Экстремумы спектров лежат в пределах 275±2 нм, что характерно для ГК, следовательно, данные методики могут быть использованы для ее количественного определения в траве ортилии.

Результаты количественного содержания ГК и ПФС в пересчете на галловую кислоту представлены в таблице.

Таблица – Количественное содержание ГК и суммы ПФС в пересчете на ГК в траве ортилии однобокой

Целевое соединение / группа БАВ	$x_{ср} \pm \Delta x$, % (n=6)
Галловая кислота	6,64±0,15%
Сумма полифенольных соединений	7,01±0,20%

Из полученных данных следует, что на долю галловой кислоты приходится около 90% полифенольных соединений травы ортилии однобокой. Исходя из этого, можно утверждать, что метод количественного определения ГК с расчетом по методу Фирордта является наиболее точным и специфичным, и может применяться для оценки качества ЛРС ортилии однобокой.

Заключение. В ходе исследования спектрофотометрическими методами установлено количественное содержание ГК и ПФС в ЛРС ортилии однобокой. Обнаружено значительное превалирование ГК в сумме полифенольных соединений (6,64% против 7,01%, соответственно), следовательно, она должна быть выбрана в качестве целевого соединения при стандартизации ЛРС ортилии однобокой. Однако специфичность оценки суммы ПФС в пересчете на ГК не показательна. Поэтому оптимально использовать более специфичный метод с расчетом по Фирордту, который дает возможность выделить целевой компонент.

Источник финансирования. Испытания проводили с использованием парка оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.31 Фармакогнозия
76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. Устенова Г. О. Правила сбора, заготовки и хранения лекарственного растения ортилии однобокой (Orthilia secunda) // Вестник КазНМУ. 2018. N 1. С.345-347.

2. Beatty G. E., Provan J. Comparative phylogeography of two related plant species with overlapping ranges in Europe, and the potential effects of climate change on their intraspecific genetic diversity // BMC Evolutionary Biology. 2011. Vol. 11(29). DOI:10.1186/1471-2148-11-29.

3. Фадеева Н.И. Сравнительная оценка эффективности разных фитопрепаратов, содержащих ортилию однобокую (Orthília secúnda), в лечении хронического эндометрита // Бюллетень медицинской науки. 2017. N 7. С. 43-46.

4. Ботоева Е.А. О химико-фармакологической характеристике фитосредств, использованных для экспериментальной фармакотерапии повреждений матки // Вестник БГУ. Медицина и фармация. 2011. N 12. С.147-153.

5. Лёзина А.В., Тернинко И.И., Крысько М.В. Идентификация и количественное определение арбутина в траве ортилии однобокой (Orthilia secunda) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. N 10(4) С.122-128. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-122-128.

6. Патент РФ № 2015127130, 06.07.2015. Способ идентификации и раздельного количественного определения танина и галловой кислоты при совместном присутствии в растительном сырье и фитопрепаратах без предварительного разделения/ О.В. Тринеева, А.И. Сливкин // Патент России №2613878. 2017. Бюл. №9.

7. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. Р 4.1.1672-03. М., 2004. С. 94-95.

SUMMARY

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF THE SUM OF POLYPHENOL COMPOUNDS AND GALLIC ACID IN THE HERB *ORTHILIA SECUNDA L.*

Lezina A.V., PhD student 3 years of study (ORCID: 0000-0002-4738-8570), **Tolstikova A.A.**, student 4 courses
Scientific adviser: **Terninko I. I.**, Doctor of Pharmacy, assistant professor,
Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Head of Research Laboratory (DQCC) (ORCID: 0000-0002-2942-1015)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: alena.lezina@pharminnotech.com

Quantitative content of gallic acid and polyphenolic compounds in the herb of *Ortilia secunda L.* was determined by UV spectrophotometry. A significant prevalence of gallic acid in the sum of polyphenolic compounds was found (6.64% vs. 7.01%, respectively), therefore, this compound should be chosen as the target for standardization of the herb *Ortilia secunda L.* It is shown that the method with the calculation according to Fierordt has the optimal specificity, which allows a quantitative assessment aimed at the target component.

REFERENCES

1. Ustenova G. O. Rules for the collection, preparation, and storage of the medicinal plant Orthilia secunda. Vestnik KazNMU. 2018. N1 P.345-347. (In Russian).

2. Beatty G. E., Provan J. Comparative phylogeography of two related plant species with overlapping ranges in Europe, and the potential effects of climate change on their intraspecific genetic diversity // BMC Evolutionary Biology. 2011. Vol. 11(29). DOI:10.1186/1471-2148-11-29.

3. Fadeeva N.I. Comparative assessment of the effectiveness of different herbal remedies containing Orthília secúnda in the treatment of chronic endometritis // Byulleten' meditsinskoy nauki = Bulletin of Medical Science. 2017. N 7. P. 43-46. (In Russian).

4. Botoeva E.A. On the chemical and pharmacological characteristics of herbal remedies used for experimental pharmacotherapy of uterine injuries. Vestnik BGU. Meditsina i farmatsiya = The Bryansk State University Herald. 2011. N 12. P. 147-153. (In Russian).

5. Lezina A.V., Terninko I.I., Krysko M.V. Identification and quantitative determination of arbutin in the herb of Orthilia secunda // Drug development & registration. 2021. Vol. 10(4). P. 122-128. (In Russian). https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-122-128

6. RF patent No. 2015127130, 07/06/2015. The method of identification and separate quantitative determination of tannin and gallic acid in the joint presence in plant materials and phytopreparations without prior separation/ O.V. Trineeva, A.I. Slivkin //Patent of Russia No. 2613878. 2017. Bull. №9. (In Russian).

7. Guidance on methods of quality control and safety of biologically active food additives. R 4.1.1672-03. Moscow, 2004. P. 94-95. (In Russian).

УДК 61:615.4

ИЗУЧЕНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА КОРНЕЙ POLYGONATUM OFFICINALE И СОПЛОДИЙ ALNUS GLUTINOSA (L.)

Макарова Д.Ю., Орлова П.В., студ. 4 курса
Научный руководитель: **Новикова Е.К.**, к.ф.н., ст.преп.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: darya.makarova@spcpu.ru, polina.orlova@spcpu.ru

В работе приведены результаты проведения качественных реакций купены аптечной корней и ольхи лекарственной шишек. Обнаружены такие биологически активные вещества как кумарины, полисахариды (слизь) и сапонины (глицирризиновая кислота) у купены и танин, сапонины, эллаговая кислота, флаваноиды, танниды у ольхи.

Ключевые слова: *купена аптечная, ольха лекарственная, корень, шишки, качественные реакции, биологически активные вещества.*

В настоящее время особенно заметно в фармацевтической отрасли возрастает роль препаратов растительного происхождения, которые обладают значительными преимуществами перед лекарствами, произведенными синтетическим путем: возможность более длительного применения, высокая биодоступность и приемлемая для большинства категорий населения цена [1]. Существует необходимость изучения различных растений с целью обнаружения биологически активных веществ для дальнейшей разработки фармацевтической субстанции.

Цель данного исследования состоит в изучении фитохимического состава купены аптечной корней и ольхи лекарственной шишек. Задачей данного исследования является проведение качественных реакций на основные группы БАВ.

Объектом исследования являются корни купены аптечной и шишки ольхи лекарственной. Были получены извлечения для проведения анализа.

В колбу вместимостью 250 мл были загружены измельченные корни купены массой 5,0 г и 100 мл спирта с концентрацией 70 % (1:20). Затем смесь подверглась нагреванию с обратным холодильником и кипятилась в течение 30 мин. Полученное извлечение охлаждалось и отфильтровывалось. Затем были проведены качественные реакции [2].

Измельченные соплодья ольхи массой 5,0 г были загружены в плоскодонную колбу вместимостью 250 мл и залиты горячей водой объемом 100 мл. Смесь подвергалась кипячению в течение 5 минут, готовое извлечение было охлаждено и отфильтровано. Затем были проведены качественные реакции. [3]

Таблица – Результаты качественных реакций

Биологически активные вещества	Качественная реакция	Купены аптечной корни	Ольхи лекарственной шишки
Кумарины	Последовательность реакции: 1. Добавление 10% раствора гидроксида натрия. 2. Прибавление дистиллированной воды. 3. Подкисление 10% раствором соляной кислоты.	1. Возникновение желтого окрашивания 2. Прозрачный раствор 3. Появление помутнения	Отсутствие видимых изменений
Флаваноиды	Добавление 2,5 % раствора ацетата свинца.	Отсутствие видимых изменений	1. Возникновение оранжевого окрашивания 2. Образование осадка, что указывает на наличие таннидов
Сапонины	1. Подкисление до pH ≈ 1, активное встряхивание. 2. Подщелачивание до pH ≈ 13, активное встряхивание.	1. Образование пены 2. Образование пены	1. Образование пены 2. Образование пены
Глицирризиновая кислота	Добавление концентрированной серной кислоты	Образование коричневого осадка	-
Полисахариды	Постепенное прибавление извлечения в 96% этиловый спирт	Образование белого осадка	-
Слизь	Нанесение раствора едкого натра на сырье	Появление желтого окрашивания	-
Дубильные вещества	Добавление раствора железоаммонийных квасцов	Отсутствие видимых изменений	Появление темно-синего окрашивания
Эллаговая кислота (свободная)	Добавлении нескольких кристаллов нитрита натрия и трех-четырех капель уксусной кислоты	-	Появление красно-фиолетовой окраски

В работе было проведено исследование фитохимического состава лекарственного растительного сырья. Обнаружено, что в своем составе корни купены лекарственной содержат кумарины, полисахариды (слизь), сапонины (глицирризиновую кислоту), а у шишек ольхи лекарственной содержатся флаваноиды, сапонины, танин, танниды, эллаговая кислота.

ЛИТЕРАТУРА

1. Новикова Е.К., Каухова И.Е., Чачин Д.А. Production and standardization of extracts from bidens tripartite, solidago canadensis and agrimonia eupatoria // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2017. Т. 15, N. S1. С. 31–32.
2. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (дата обращения: 05.03.2022)
3. Каухова И.Е., Новикова Е.К., Чачин Д.А. Разработка условий экстрагирования череды трехраздельной травы, золотарника канадского травы, репешка обыкновенного травы // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018. N 3(24). С. 64–67.

SUMMARY

STUDY OF THE QUALITATIVE COMPOSITION OF THE POLYGONATUM OFFICINALE ROOTS AND ALDER MEDICINAL CONES.

Makarova D.Yu., Orlova P.V., stud. 4 courses
Academic advise: **Novikova E.K.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences, senior lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: darya.makarova@spcpu.ru, polina.orlova@spcpu.ru

The article presents the results of qualitative reactions of polygonatum officinale roots and alder officinalis cones. Such biologically active substances as coumarins, polysaccharides (mucus) and saponins (glycyrrhizic acid) have been found in polygonatum officinale and tannin, saponins, ellagic acid, flavanoids, tannins in alder.

Keywords: *polygonatum officinale, medicinal alder, root, cones, qualitative reactions, biologically active substances.*

REFERENCES.

1. Novikova E.K., Kaukhova I.E., Chachin D.A. Production and standardization of extracts from bidens tripartite, solidago canadensis and agrimonia eupatoria // Abstracts. Phitopharm. 2017. Vol. 15(S1). P. 31–32. (in Russian)
2. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. 2018. [Электронный ресурс] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (Accessed 05.03.2022). (in Russian)
3. Kaukhova I.E., Novikova E.K., Chachin D.A. Development of extraction conditions for the stretch of bidens tripartite, solidago canadensis and agrimonia eupatoria herbs // Development and registration of medicines. 2018. N 3(24). P 64–67. (in Russian)

УДК 544.08

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ПОЛЯРИМЕТРИИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ДЕКСИБУПРОФЕНА

Малков С.Д., студ. 3 курса, **Зарифи К.О.**, студ. 3 курса
Научный руководитель: **Широкова И.Ю.,** ст. преп. каф. физической и коллоидной химии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: sergej.malkov@spcpu.ru, kseniya.zarifi@spcpu.ru

Современные технологии позволили разделить рацемат, состоящий из двух право- и левовращающихся оптических изомеров – энантиомеров S (+) и R (-). Исследована возможность использования метода поляриметрии для качественного и количественного анализа S-(+)-ибупрофена.

Ключевые слова: *рацемическая смесь, оптические изомеры, поляриметрия, оптическая активность, ибупрофен, дексибупрофен.*

Ибупрофен был открыт в 1961 г. доктором Стюартом Адамсом. Прошло уже полвека с тех пор, как Стюарт Адамс доказал, что ибупрофен обладает противовоспалительными свойствами [1]. С тех пор ибупрофен превратился в один из наиболее широко используемых анальгетических жаропонижающих противовоспалительных препаратов. Ибупрофен является нестероидным противовоспалительным препаратом (НПВП), обладающим анальгетическим, противовоспалительным и жаропонижающим воздействием за счет неизбирательной блокады ЦОГ1 и ЦОГ2 и оказывает ингибирующее влияние на синтез простагландинов. Однако, как и множество других лекарственных средств, имеет побочные эффектами, такие как: тошнота, диспепсия, диарея, запор, желудочно-кишечные изъязвления, кровотечения, головная боль, головокружения, сыпь. Среди таких анальгетиков, как аспирин и парацетамол, ибупрофен наименее токсичен и редко ассоциируется со смертями от случайного или преднамеренного злоупотребления или с серьезными побочными реакциями [2].

Проблема заключается в том, что при применении высоких доз данного препарата может увеличиваться риск сердечной недостаточности, почечной и печеночной недостаточности [3]. Ибупрофен – (2RS)-1[4-(2-метилпропил)фенил] пропионовая кислота- это рацемическая смесь, состоящая из двух оптических изомеров право- и левовращающихся– энантиомеров S (+) (рис. 1) и R (-) (рис. 2). Клиническая эффективность ибупрофена обуславливается наличием энантиомера формы S (+). При приеме рацемата ибупрофена форма R (-) частично метаболизируется в кишечнике и печени форму S (+). S (+) форма является в 2 раза более эффективной, чем R (-) [4]. Отсюда возникает актуальность поиска способов разделения рацемической смеси на оптические изомеры и методов дальнейшего контроля качества.

В связи с этим, целью данной работы является проведение качественного и количественного анализа S-(+)-ибупрофена (дексибупрофена) методом поляриметрии.

В настоящее время на рынке ЛС ибупрофен представлен разнообразными лекарственными формами. Возможен не только пероральный прием ибупрофена, но и топическое его применение в виде геля, ректальное (в виде суппозиториев) и парентеральное (в виде растворов для внутривенного введения). Современные технологии позволили разработать и новые лекарственные формы – капсулы, содержащие раствор ибупрофена.

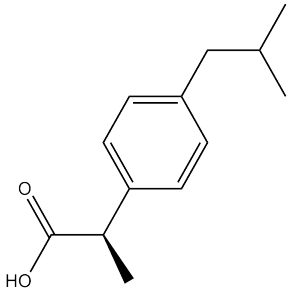


Рисунок 1. (R)-(-)-ибупрофен

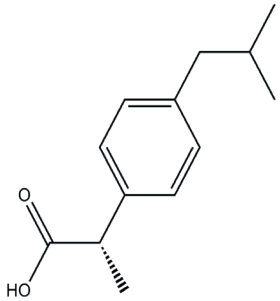


Рисунок 2. (S)-(+)-ибупрофен

Так как ибупрофен содержит два изомера, один из которых в организме неактивен (а именно (R)-(-)-ибупрофен), возникает потребность в их разделении. В настоящее время используется несколько способов разделения оптических изомеров.

Первым способом разделения энантиомеров является хиральная хроматография, но у нее есть большой минус. Нет ни одной достаточно удовлетворительной теории, позволяющей до проведения эксперимента заранее оценить эффективность разделения изомеров. При решении задачи необходимо предварительно проверить экспериментально применимость имеющихся хиральных колонок; если положительного результата не удается добиться, ставится задача подбора нового сорбента.

Вторым, более эффективным способом, разделения рацемата используемым в том числе для оценки оптической чистоты веществ, является капиллярный электрофорез. Он позволяет добиваться хорошего разрешения даже при малых значениях коэффициента селективности α, характерных для энантиоразделений. Метод капиллярного электрофореза основан на разделении заряженных компонентов смеси в кварцевом капилляре под действием приложенного электрического поля. Разделение достигается вследствие различия в подвижностях молекул, зависящих от заряда и ионного радиуса [5].

Полученный оптический изомер, S-(+)-ибупрофен, является одним из образцов, изученных в данной работе.

Образец №1. Субстанция ибупрофена, в соответствии с фармакопеей, характеризуется следующими свойствами: Белый или почти белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы, легко растворим в ацетоне, метаноле, метиленхлориде, практически нерастворим в воде. В ультрафиолетовых спектрах поглощения 0,05 % растворов субстанции и стандартного образца ибупрофена в 0,1 М растворе натрия гидроксида в области от 240 до 300 нм максимумы и плечо наблюдаются при одних и тех же длинах волн (соответственно, 264 ± 2 нм, 272 ± 2 нм и 258 ± 2 нм). Угол вращения. От – 0,05 до + 0,05 º (2,5 % раствор субстанции в метаноле, ОФС «Поляриметрия») [6].

Образец №2. Таблетки «Ибупрофен» Велфарм

Международное непатентованное наименование: Ибупрофен

Лекарственная форма: таблетки, покрытые пленочной оболочкой

Состав на одну таблетку: действующее вещество: ибупрофен – 400 мг; вспомогательные вещества: повидон-К90 (коллидон 90 F), целлюлоза микрокристаллическая, тальк, кросповидон (коллидон ЦЛ, коллидон CL-M), кальция стеарат, кремния диоксид коллоидный (аэросил), крахмал кукурузный; оболочка: опадрай белый 03F180011(гипромеллоза, титана диоксид, макрогол).

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «Велфарм» (ООО «Велфарм»), г. Курган, проспект Конституции, д.11, Россия

Образец №3. Таблетки «Зотек»

Состав и форма выпуска: овальные двояковыпуклые таблетки, сверху покрытые белой пленочной оболочкой с чертой для разделения с одной стороны.

Одна таблетка Зотека содержит дексибупрофена 300 мг, вспомогательными веществами в составе препарата являются микрокристаллическая целлюлоза, диоксид кремния коллоидный безводный, тальк, кальция кроскармеллоза, гипромеллоза, диоксид титана (Е 171).

Производитель: Эвертоджен Лайф Саенсиз Лтд для «Органосин Лайф Саенсиз», Индия.

Образец №4. Таблетки «Адвил»

Международное непатентованное наименование: ибупрофен

Лекарственная форма: таблетки, покрытые пленочной оболочкой

Состав на 1 таблетку: активное вещество: ибупрофен 400 мг; вспомогательные вещества: кукурузный крахмал, прежелатинизированный крахмал, кроскармеллоза натрия, кремния диоксид коллоидный, кислота стеариновая, натрия лаурилсульфат, гипромеллоза Е 15, макрогол 6000, титана диоксид Е 171, оксид железа красный Е 172, тальк, опакод черный S-1-27794 (промышленный метилированный спирт 740Р, шеллак, железа оксид черный Е172, Н-бутил спирт, очищенная вода, пропиленгликоль, изопропиловый спирт).

Производитель:Вайет Ледерле С.п.А., Италия,

Владелец РУ«Пфайзер Корпорэйшн Австрия ГмбХ», Австрия,

Разделенные изомеры обладают оптической активностью, которую следует измерять в целях контроля качества продукта. Одним из методов определения оптической активности является поляриметрия.

В настоящее время для изучения веществ, обладающих хиральностью, широко используются методы спектрополяриметрии: дисперсия оптического вращения и круговой дихроизм. С помощью этих методов измеряют в зависимости от длины волны способность оптически активного хромофора вращать плоскополяризованный свет и по-разному поглощать поляризованный по кругу вправо и влево свет. В основе методов лежат физические законы взаимодействия поляризованного света с оптически активными молекулами.

В основе поляриметрии лежит свойство оптически активных молекул вращать плоскость поляризации плоскополяризованного света. Впервые проявление оптической активности было замечено в 1811 г. Араго при изучении влияния кварцевой пластинки на поляризованный свет. Несколько лет спустя Био показал, что это явление присуще не только кристаллическим веществам. Растворы некоторых природных соединений также обладают свойством вращения плоскости поляризации плоскополяризованного света [6].

Плоскополяризованный свет можно представить, как наложение двух составляющих, а именно циркулярно поляризованного света влево и вправо, обладающих одинаковой интенсивностью. Поскольку циркулярно поляризованный свет является хиральным объектом, он взаимодействует с хиральной молекулой, характер взаимодействия будет отличаться для различных оптических изомеров.

Закон Био связывает оптическую активность с величиной удельного вращения, которую можно определить, измерив угол поворота плоскости поляризации при прохождении света через раствор с известной концентрацией в кювете поляриметра при заданной длине пути света в растворе (обычно для D-линии в спектре натрия λ = 589 нм):

$$[\alpha]^{T} \lambda = 100\ \alpha / Lc,$$

где α – наблюдаемое значение угла вращения,

T – температура,

L – длина оптического пути (длина кюветы),

c – объемная концентрация вещества г/100 мл.

Удельное вращение [α] соединения меняется с длиной волны света, при которой проводится измерение.

Трудности при определении угла оптического вращения.

При измерении угла оптического вращения необходимо подобрать навеску, растворитель, обеспечивающий устойчивость раствора, наличие и способы удаления нерастворимых примесей, содержащихся в образце.

В данной работе угол вращения измеряли на двух приборах. Сахариметр-поляриметр универсальный СУ-4. Имеет диапазон измерений (при длине волны λ=589,3 нм) от -40 до +120 ºS, порог чувствительности, ºS, не более 0,05, пределы допускаемой основной погрешности ±0,05ºS.

Портативной поляриметр П-161М. Прибор имеет высокую точность вне зависимости от внешних условий. Диапазон измерения угла вращения плоскости поляризации, -20……+20 град. пределы допускаемой основной погрешности ±0,1 град.

Субстанцию ибупрофена, образец№1, предварительно растворяли в воде. Для количественного определения ибупрофена в таблетках образцов №2-4, покрытых оболочкой, взяли точную навеску порошка растертых таблеток, поместили в мерную колбу вместимостью 20 мл и растворили в 50 мл этанола, затем довели объем до метки. После тщательного перемешивания раствор отфильтровали и фильтрат поместили в кювету прибора (для сахариметра СУ-4 длина кюветы 20 см, для сахариметра П-161М – 10 см). Далее провели измерения угла оптического вращения.

В результате проведенных испытаний было обнаружено, что оптический угол субстанций ибупрофена (образец№1), таблеток (образцы№2,4) равен или очень близок к нулю. Данные эксперимента подтверждают присутствие рацемата ибупрофена и отсутствие оптически активных веществ во вспомогательных веществах. Угол оптического вращения образца №3 составил +3,5.

Таблица – Результаты исследования угла оптического вращения образцов

Образцы	Образец №1	Образец №2	Образец №3	Образец №4
α, град.	0	0	+3,5	

Полученное значение позволит в дальнейшем найти удельное вращение компонентов рацемата, не обнаруженное в литературе.

Результаты исследования угла оптического вращения образцов показали его наличие только в образце №3, что связано с наличием S-(+)-ибупрофена, обладающего оптической активностью.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

ЛИТЕРАТУРА

1. Ayres J.G. Ibuprofen. The American Society of Health-System Pharmacists // The Lancet : journal. 1987. Vol. 1(8541). P. 1082. doi:10.1016/S0140-6736(87)90499-5.

2. Бушра Р. Обзор клинической фармакологии ибупрофена // Н.: Oman Med J. 2010. Vol. 25(3). P. 155-1661. DOI: 10.5001 / omj.2010.49.

3. Rizzi A. Fundamental aspects of chiral separations by capillary electrophoresis // Electrophoresis. 2001. V. 22. P. 3079–3106.

4. Василенко И.А. Оптические изомеры в фармацевтике //Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. N 1(10). С.92-104

5. Артасюк Е.М. Способ определения ибупрофена //Медицинский вестник Башкортостана. 2006. N 1. С. 187-189.

6. ФС 42-2823-92 «Ибупрофен». С. 3.

SUMMARY

DEXIBUPROFEN QUANTITATIVE ANALYSIS BY THE POLARIMETRY METHOD.

Malkov S.D., 3rd year student, **Zarifi K.O.**, 3rd year student
Research supervisor: **Shirokova I.Yu.**, Assistant of the Department of Physical and Colloidal Chemistry
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: sergej.malkov@spcpu.ru, kseniya.zarifi@spcpu.ru

Modern technologies have made it possible to separate a racemate consisting of two right- and left-rotating optical isomers – enantiomers S (+) and R (-). The possibility of using the polarimetry method for qualitative and quantitative analysis of S-(+)-ibuprofen is investigated.

Keywords: *racemic mixture, optical isomers, polarimetry, optical activity, ibuprofen, dexibuprofen.*

REFERENCES

1. Ayres J.G. Ibuprofen. The American Society of Health-System Pharmacists // The Lancet : journal. 1987. Vol. 1(8541). P. 1082. doi:10.1016/S0140-6736(87)90499-5.

2. Bhushan R. Resolution of enantiomers of ibuprofen by liquid chromatography: a review // Bhushan R, Martens J., 1998. – 12(6) – 309-316. 10.1002/(SICI)1099-0801(199811/12)12:6<309::AID-BMC763>3.0.CO;2-K [<309:: AID-BMC763>

3. FA 42-2823-92 «Ibuprofen». P. 3 (in Russian)

4. Rizzi A. Fundamental aspects of chiral separations by capillary electrophoresis // Electrophoresis. 2001. V. 22. P. 3079–3106.

5. Vasilenko I.A. Optical isomers in pharmaceuticals // Development and registration of medicines. 2015. N 1(10). P. 92-104 (in Russian)

6. Artasyuk E. M. Method of ibuprofen determination // Medical Bulletin of Bashkortostan. 2006. N 1. P. 187-189 (in Russian)

УДК 54: 543.544.5.068.7

ПОДБОР ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТАФАМИДИСА И ДИФЛУНИЗАЛА

Михайлова П.А., студ. 3 курса, **Адамова А.А.**, студ. 3 курса,
[а]**Генералова Ю.Э.**, ст. преп. каф. аналитической химии
Руководитель: [б]**Морозкина С.Н.**, доцент, [б]**Снетков П.П.**, инженер,
[б]**Успенская М.В.**, директор центра химической инженерии
[а]Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.14, Российская Федерация
[б]Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., д. 47А, Российская Федерация
E-mail: aleksandra.adamova@spcpu.ru

Изучена возможность совместного определения тафамидиса и дифлунизала. Проведен подбор условий для проведения высокоэффективной жидкостной хроматографии данных фармацевтический субстанций на основе общих физико-химических свойств анализируемых веществ. Проведена валидация методики количественного анализа при подобранных оптимальных хроматографических условиях.

Ключевые слова: *высокоэффективная жидкостная хроматография, тафамидис, дифлунизал, хроматографические условия, валидация методики, ацетонитрил, трифторуксусная кислота.*

На сегодняшний день одной из наиболее острых проблем науки и медицины является отсутствие подходящего лечения орфанных заболеваний. Открытая в 50-х годах прошлого века транстиретиновая семейная амилоидная полинейропатия (ТСАП) не является исключением: первое фармакологическое средство для лечения ТСАП было лицензировано в Европе всего лишь 10 лет назад, а в России – в 2017 г. Одними из таких препаратов являются дифлунизал и тафамидис.

Фармацевтические субстанции тафамидиса и дифлунизала обладают одинаковой фармакологической активностью, поэтому существует интерес в их совместном использовании (например, в составе систем доставки). Однако, исходя из таблицы 1, тафамидис и дифлунизал существенно различаются по своим физико-химическим свойствам, а, следовательно, совместное количественное определение двух этих субстанций является проблемой, которую необходимо решить.

Цель исследования – подобрать оптимальные хроматографические условия, пригодные для совместного определения тафамидиса и дифлунизала.

Задачи, поставленные для достижения поставленной цели:

• провести обзор источников литературы;

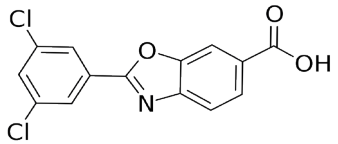
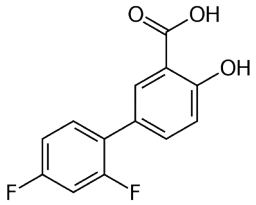
• выбрать оптимальные условия проведения анализа;

• проверить разработанные хроматографические условия по некоторым валидационным показателям (линейность и сходимость);

• провести количественное определение дифлунизала и тафамидиса в гелях гиалуроновой кислоты.

Объектами исследования являются дифлунизал и тафамидис – белые кристаллические порошки, а также гели этих веществ в полимерной матрице.

Таблица 1 – Основные характеристики тафамидиса и дифлунизала [1,2]

	Тафамидис (2-(3,5-дихлорфенил)-1,3-бензоксазол-5-карбоновая кислота)
	Молярная масса 308,11 г/моль
	Растворимость в органических растворителях: ДМСО – 5 мг/мл; Этанол – 1 мг/мл
	pKa=3,6
	Максимумы светопоглощения λ max = 214, 301, 310, 324 нм
	Дифлунизал (5-(2,4-дифторфенил)-2-гидроксибензолкарбоновая кислота
	Молярная масса 250,20 г/моль
	Растворимость в органических растворителях: ДМСО – 25 г/л Этанол – 25 г/л ДМФ – 30 г/л
	pKa=2,69
	Максимумы светопоглощения λ max = 228, 253 нм

Растворители и реактивы:

• этанол 95 %;

• вода дистиллированная;

• диметилсульфоксид (ДМСО);

• ацетонитрил

• 0,03 % раствор трифторуксусной кислоты (ТФУК).

Для проведения исследования использовались следующие оборудование и материалы:

• аналитические весы САРТОГОСМ CE224-C (ООО «Сартогосм», Россия);

• спектрофотометр Shimadzu UV-1240 mini (Shimadzu, Япония);

• хроматограф жидкостной Миллихром-А02, оснащённый ультрафиолетовым детектором (ООО ИХ «ЭкоНова», Россия);

• хроматографическая колонка Prontosil 120-5, C18, 75×2 мм (ООО ИХ «ЭкоНова», Россия).

За основу была взята методика проведения высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), а также оценка пригодности подобранных нами условий в Фармакопее XIV издания [3]. Кроме того, мы опирались на более ранние исследования в области оптимизации хроматографических условий. Так, при исследовании смеси диклофенак-дифлунизал в качестве подвижной фазы были использованы 0,05 М фосфорной кислоты, ацетонитрил и метанол в соотношении 40:48:12 [4]. При хроматографическом исследовании тафамидиса выбор подвижной фазы варьировался во всех исследованных источниках. Например, встречался вариант использования смеси 0,001М раствора формиата аммония и ацетонитрила в соотношении 50:50 [5]. Контроль прецизионности проводился в соответствии с ГОСТ Р ИСО 21748–2012 [6].

В первую очередь нами были сняты спектры поглощения объектов исследования. Для этого был приготовлен водно-спиртовой раствор дифлунизала концентрацией С=1,00 мг/мл. Тафамидис показал крайне низкую растворимость как в воде, так и в этаноле, в связи с чем его навеску массой 4,7 мг растворили в 10,0 мл ДМСО и воде до концентрации $C=9{,}4*10^{-3}$ мг/мл.

Таблица 2 – Спектральные характеристики дифлунизала и тафамидиса в УФ области спектра

λ_{max}, нм	Оптическая плотность А	Молярный коэффициент поглощения ε, л/моль*см	Удельный коэффициент поглощения α, мл/мг*см
Водный раствор дифлунизала (С=10,0 мкг/мл)			
205,0	1,363	34 102	136
252,0	0,571	14 286	57,1
306,0	0,121	3027	12,1
Водный раствор тафамидиса (С=9,4 мкг/мл)			
310,0	0,314	10 295	33,4

На основании результатов исследования спектральных свойств анализируемых веществ, оптимальными значениями длин волн для их определения при проведении ВЭЖХ являются 270 нм и 310 нм – для дифлунизала и тафамидиса соответственно. Также использовалось значение длины волны 230 нм для выявления ДМСО на хроматограмме.

Для приготовления исследуемого раствора из исходных растворов тафамидиса и дифлунизала концентрацией 1 мг/мл, растворенных в ДМСО и этаноле соответственно, приготовили смесь аналитов концентрацией 10 мкг/мл. В качестве растворителей использовались этанол и вода в соотношении 1:1.

Ранее было проведено изучение хроматографического поведения аналитов. Одним из компонентов подвижной фазы использовали ТФУК, так как она подавляет диссоциацию молекулы тафамидиса, и он дольше удерживается на сорбенте. Для дифлунизала наилучшие хроматографические параметры достигаются при использовании в качестве подвижной фазы с pH=3.0. Уксусная кислота, обладающая таким же значением pH, имеет недостаточную ионную силу для подавления диссоциации дифлунизала, в то время как ТФУК имеет большую ионную силу и более полно подавляет диссоциацию соединения. В качестве органического компонента подвижной фазы использовался ацетонитрил.

В итоге нами были выбраны следующие условия проведения совместного определения двух фармацевтических субстанций на ВЭЖХ:

- подвижная фазыа: 0,03 % трифторуксусной кислоты и ацетонитрил в соотношении 30:70;
- термостат колонки 40°С;
- скорость потока – 0,1 мл/мин;
- длины волн детектора – 230, 270 и 310 нм

Типичная хроматограмма и характеристики пиков представлены на рисунке 1 и в Таблице 3 соответственно.

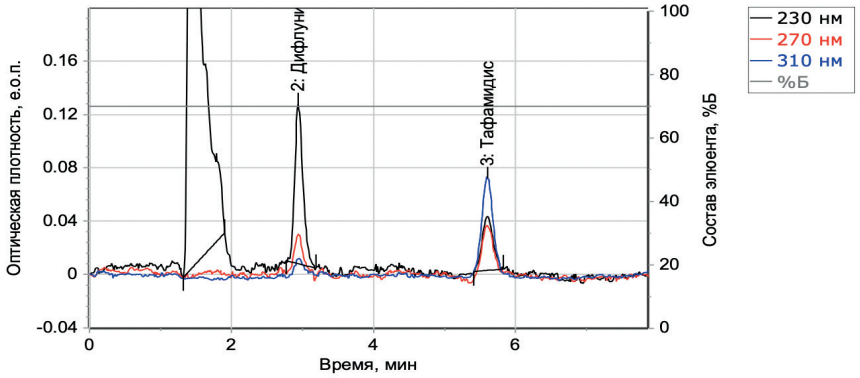


Рисунок 1. Хроматограмма смеси 10 мкг/мл тафамидиса и дифлунизала

Таблица 3 – Хроматографические параметры пиков

	Асимметрия пика As	Число теоретических тарелок N
Дифлунизал	1,33	3213
Тафамидис	1,02	5910

На полученной хроматограмме пики характеризуются оптимальными хроматографическими параметрами.

Далее была проведена проверка выбранной методики анализа смеси тафамидиса и дифлунизала на сходимость получаемых результатов. Для этого был приготовлен раствор с концентрацией 20 мкг/мл, который был 5 раз проанализирован в выбранных хроматографических условиях. Для полученных времен удерживания и площадей пиков тафамидиса и дифлунизала был проведены расчеты среднего арифметического ($\bar{x}$), стандартного отклонения (σ) и относительного стандартного отклонения (RSD). Результаты проверки сходимости приведены в Таблице 4.

Таблица 4 – Результаты проверки методики на сходимость

Компонент смеси	Дифлунизал		Тафамидис	
	t, мин	S	t, мин	S
	2,96	10,3	5,54	8,92
	2,92	9,81	5,41	8,50
	2,92	10,9	5,42	8,56
	2,92	9,66	5,42	8,29
	2,94	10,1	5,45	8,67
$\bar{x}$	2,93	10,2	5,45	8,59
σ	0,01789	0,4968	0,05357	0,2306
RSD	0,61	4,9	0,98	2,7

Для выбора аналитической области была проверена линейность отклика. Для этого приготовлена серия растворов из смеси двух компонентов разных концентраций: 1, 5, 10, 15, 20, 25 и 30 мкг/мл. Результаты представлены на рисунке 2.

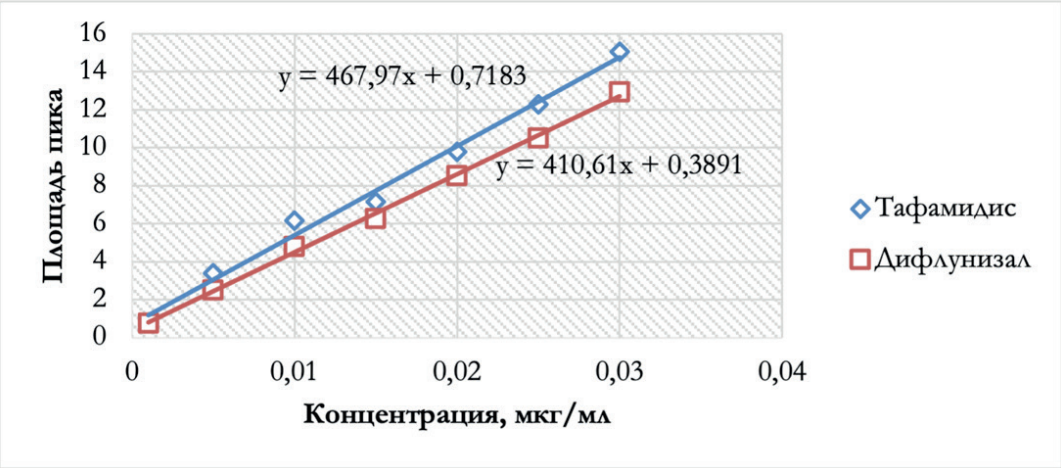


Рисунок 2. График зависимости площади пика дифлунизала и тафамидиса от концентрации раствора

Для полученных зависимостей были рассчитаны коэффициенты корреляции, значения которых составили 0,9952 для дифлунизала и 0,9989 для тафамидиса. Полученные значения близки к 1, что говорит о высокой корреляции измеряемых величин.

Данная методика была применена для проведения количественного анализа гелей состава, представленного в Таблице 5.

Таблица 5 – Состав анализируемых гелей

Дифлунизал	10 мг (0,093%)	Тафамидис	25 мг (0,233%)
Вода	5 мл	Вода	5 мл
Гиалуроновая кислота	190 мг	Гиалуроновая кислота	190 мг
ДМСО	5 мл	ДМСО	5 мл

Для проведения количественного определения к навески гелей дифлунизала и тафамидиса в гиалуроновой кислоте (точная навеска около 100 мг) добавляли по 10 мл растворителя (смесь воды с этанолом 1:1), обрабатывали на УЗ бане в течение 5 минут, отфильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и провели хроматографический анализ в выбранных условиях. Наблюдали пики с временами удерживания чистых образцов, характеризующиеся сопоставимыми хроматографическими характеристиками (асимметрия, эффективность), что свидетельствует о специфичности методики. Типичные хроматограммы растворов (первый пик – ДМСО) – на рисунках 3 и 4, результаты анализа – в Таблице 6.

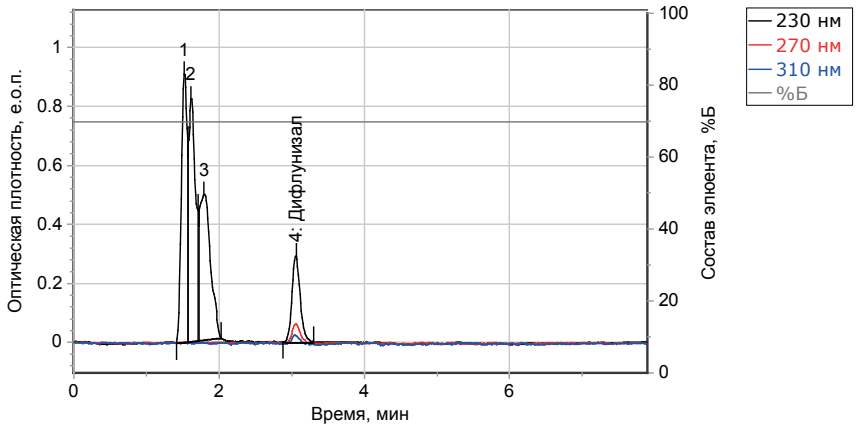


Рисунок 3. Хроматограмма раствора геля дифлунизала

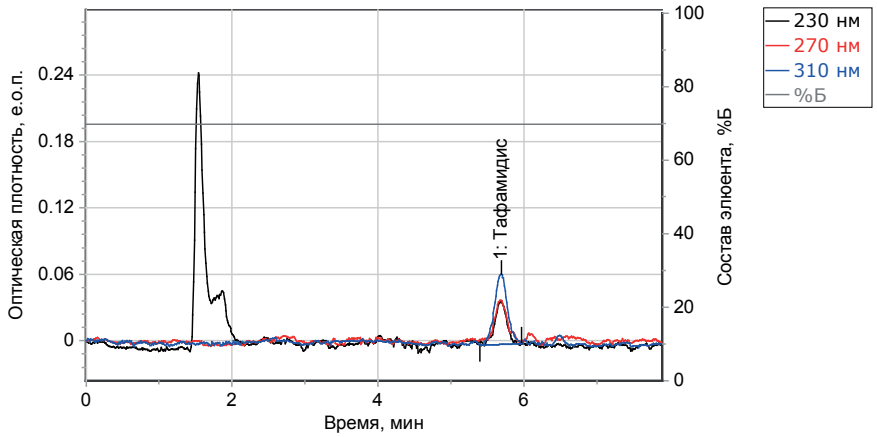


Рисунок 4. Хроматограмма раствора геля тафамидиса

Таблица 6 – Результаты количественного определения

	Дифлунизал	Тафамидис
Теоретически рассчитанная концентрация, %	0,093	0,233
Экспериментально полученная концентрация, %	0,088 ± 0,008	0,235 ± 0,007

В результате исследования были подобраны единые оптимальные условия для проведения количественного определения методом ВЭЖХ смеси двух фармацевтических субстанций: дифлунизала и тафамидиса. Для методики показаны линейность и сходимость получаемых результатов. В настоящее время продолжается валидация данной методики анализа.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант №21-74-20093).

ЛИТЕРАТУРА

1. PubChem Bethesda (MD) // National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-2022. [Internet]. URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov

2. Cayman Chemical [Internet]. URL: https://www.caymanchem.com

3. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Изд. 14-е. В 4-х тт. [Электронный ресурс] URL: http://resource.rucml.ru/feml/ pharmacopeia

4. Rasha A Shaalan, Tarek S. Belal Validated Stability-Indicating HPLC-DAD Method for the Simultaneous Determination of Diclofenac Sodium and Diflunisal in Their Combined Dosage Form // Scientia Pharmaceutica. 2013. Vol. 81(3). P. 713–731. doi:10.3797/scipharm.1301-24

5. Development and validation of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the assay of tafamidis in rat plasma: Application to a pharmacokinetic study in rats / H.-C. Hyun [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2017. Vol. 137. P. 90-95. http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.01.020

6. ГОСТ Р ИСО 21748–2012 Статистические методы. Руководство по использованию оценок повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценке неопределенности измерений [Электронный ресурс] URL: https://docs.cntd.ru/document/1200096852

SUMMARY

SELECTION OF CHROMATOGRAPHIC CONDITIONS FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF TAFAMIDIS AND DIFLUNISAL

Mihajlova P.A., 3d year student, **Adamova A.A.**, 3d year student,
[a]**Generalova Y.E.**, senior lecturer, dep. of Analytical Chemistry
Academic advises: [b]**Morozkina S.N.**, docent, [b]**Snetkov P.P.**, engineer,
[b]**Uspenskaya M.V.**, director of the chemical engineering center
[a]St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
[b]ITMO University; 47A, Kronverksky Pr., St. Petersburg, Russian Federation
E-mail: aleksandra.adamova@spcpu.ru

Studies of the possibility of joint determination of tafamidis and diflunisal. The selection of conditions for high-performance liquid chromatography of these pharmaceutical substances was carried out based on the general physicochemical properties of the analyzed substances. The method of quantitative analysis was validated under the selected chromatographic conditions.

Keywords: *high-performance liquid chromatography, tafamidis, diflunisal, chromatographic conditions, validation, acetonitrile, trifluoroacetic acid.*

REFERENCES

1. PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-2022. Available at: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov
2. Cayman Chemical [Internet]. Available at: https://www.caymanchem.com
3. State Pharmacopoeia of the Russian Federation 14 ed. V. 1-4. [Internet] URL: http://resource.rucml.ru/feml/ pharmacopeia (in Russian)
4. Rasha A Shaalan, Tarek S. Belal Validated Stability-Indicating HPLC-DAD Method for the Simultaneous Determination of Diclofenac Sodium and Diflunisal in Their Combined Dosage Form // Scientia Pharmaceutica. 2013. Vol. 81(3). P. 713–731. doi:10.3797/scipharm.1301-24
5. Development and validation of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the assay of tafamidis in rat plasma: Application to a pharmacokinetic study in rats / H.-C. Hyun [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2017. Vol. 137. P. 90-95. http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.01.020
6. GOST R ISO 21748–2012 Statistic methods. Guidance on the use of estimates of repeatability, reproducibility and trueness in assessing measurement uncertainty. [Internet] URL: https://docs.cntd.ru/document/1200096852 (in Russian)

УДК 61:615.322

ИЗУЧЕНИЕ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ВВЕДЕНИЯ ТЕРПЕНОИДСОДЕРЖАЩИХ РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРУ IN VITRO НА ПРИМЕРЕ АРАЛИИ СЕРДЦЕВИДНОЙ (ARALIA CORDATA THUNB.)

Некрасова Д.А., аспирант 1 года обучения
(ReseacherID: AAR-8854-2020)
Научные руководители: **Повыдыш М.Н.,** докт. Биол. наук, зав. кафедрой биохимии
(ORCID: 0000-0002-7768-9059; ResearcherID: AAR-4392-2020)
Пивоварова Н.С., канд. фарм. наук, доцент каф. промышленной технологии лекарственных препаратов
(ReserchерID: ADD-2428-2022)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: nekrasova.darya@pharminnotech.com

В данной работе отражены начальные результаты по получению и поддержанию каллусных культур аралии сердцевидной: установлены условия каллусообразования, предприняты попытки по установлению состава питательной среды для длительного культивирования клеток, проведен предварительный ВЭТСХ-анализ интактного растения.

Ключевые слова: *клеточные культуры, каллусные культуры, in vitro, аралия сердцевидная, тритерпеноиды, ВЭТСХ.*

Растения рода *Aralia* широко используются в традиционной медицине Дальнего Востока, Китая, Японии, Кореи и Вьетнама [1]. Первые упоминания о представителях рода датированы XVII веком, некоторые виды были завезены и культивированы в Европе в 1600-х-1700-х годах.

Многочисленные исследования показывают, что растения обладают ценными видами активности – адаптогенной, противовоспалительной, гепатопротекторной, противодиабетической [2].

Аралия сердцевидная (*Aralia cordata* Thunb.) – многолетнее травянистое растение, близкое по своим фармакологическим свойствам к аралии маньчжурской (*Aralia mandshúrica* Rupr. et Maxim.), из-за чего в середине XX века оба вида были признаны взаимозаменяемыми. В настоящее время аралия сердцевидная внесена в Красную книгу России.

Угрожающий статус аралии сердцевидной объясняется сложностью возобновления естественной популяции, связанной с наличием периода морфофизиологического покоя и природной недоразвитостью зародыша.

Ограниченность природного ареала, трудоемкость условий культивирования и фармакологическая ценность химических компонентов сырья, ставят вопрос о целесообразности получения клеточных культур указанного растения.

Клеточные технологии делают возможным выращивание изолированных органов, тканей и клеток растений в условиях *in vitro*. В настоящее время технологии широко используются в декоративном растениеводстве и овощеводстве, однако их применимость в области лекарственного растениеводства остается вопросом открытым и требует отдельного изучения, связанного с особенностями накопления целевых групп вторичных метаболитов в культуре.

В 1961 г. в Санкт-Петербургском государственном химико-фармацевтическом университете (СПХФУ) (тогда химико-фармацевтическом институте) под руководством Адель Федоровны Гаммерман и Раисы Георгиевны Бутенко была создана одна из первых в стране групп по *in vitro* культивированию клеток лекарственных растений. В настоящее время в коллекции СПХФУ успешно культивируются каллусные культуры женьшеня настоящего, панакса пятилистного, женьшеня японского, полисциаса папоротниколистного [3].

Грамотный подход к культурам растительных клеток и тканей может позволить вести работы по получению БАВ в течение всего года вне зависимости от природных условий, а контроль за условиями культивирования позволит увеличить их выход. Перечисленные преимущества клеточных технологий открывают большие перспективы для фармацевтической промышленности.

Целью работы является изучение биосинтетической активности клеточных культур аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.), сопоставление химического состава полученных объектов с таковым у интактного растения.

Поставленные задачи исследования:

1. Подбор условий культивирования для введения в культуру аралии сердцевидной;
2. Изучение факторов, влияющих на процесс каллусогенеза;
3. Проведение анализа ростовых и биосинтетических (накопление терпеноидов) характеристик культур в динамике культивирования, а также при изменении условий выращивания;
4. Подбор условий и качественный анализ биологически активных веществ интактного растения аралии сердцевидной.

Первичными эксплантами для получения каллусных культур аралии служили части листа интактного растения, культивируемого в Ботаническом институте имени В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН).

Экспланты стерилизовали и высаживали в условиях ламинар-бокса на питательную среду Мурасиге-Скуга с добавлением 0,5 мг/мл 2,4-Д и 0,5 мг/мл кинетина. В ходе культивирования наблюдали дедифференцировку тканей листа с получением первичного каллуса.

На 30 сутки первичный каллус пересаживали на питательную среду Мурасиге-Скуга с добавлением различных фитогормонов, последующие пассажи проводили на питательные среды для древесных растений указанного состава (таблица 1).

Культивирование всех объектов осуществляли в темновой комнате при температуре 23-26 °С и относительной влажности воздуха 65-70 %.

Таблица 1 – Состав питательных сред для культивирования каллуса аралии сердцевидной

Среда	Состав фитогормонов
MS	2 мг/л 2,4-Д + 1 мг/л кин
	1 мг/л 2,4-Д + 0,5 мг/л НУК
BT	0,5 мг/л кин + 0,5 мг/л 6-БАП
WPM	2 мг/л 2,4-Д + 1 мг/л кин

MS – среда Мурасиге-Скуга, 2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, кин – кинетин, WPM – woody plant media.

Части каллусных культур, представляющих собой конгломераты клеток, отбирали во время каждого пассажа и переносили в пробирку с водой очищенной, после чего наносили на предметное стекло, добавляли краситель – нейтральный красный – и выдерживали в течение пяти минут для дальнейшей микроскопии.

Фитохимический анализ проводили с использованием системы CAMAG HPTLC PRO SYSTEM (Швеция).

Оценка прироста биомассы осуществлялась визуально: было отмечено, что более активное деление клеток происходит на питательной среде MS с добавлением 2 мг/л 2,4-Д и 1 мг/л кинетина. Пригодность сред BT и WPM для длительного поддержания клеточных культур в настоящее время устанавливается.

Микроскопический анализ каллуса аралии после окрашиваний нейтральным красным показал, что подавляющее большинство обнаруженных клеток являются жизнеспособными, отдельные конгломераты находились в процессе деления.

Следует заметить, что в культуре клеток все еще сохраняются обширные области, богатые пластидами, что связано с продолжающимся процессом дедифференцировки.

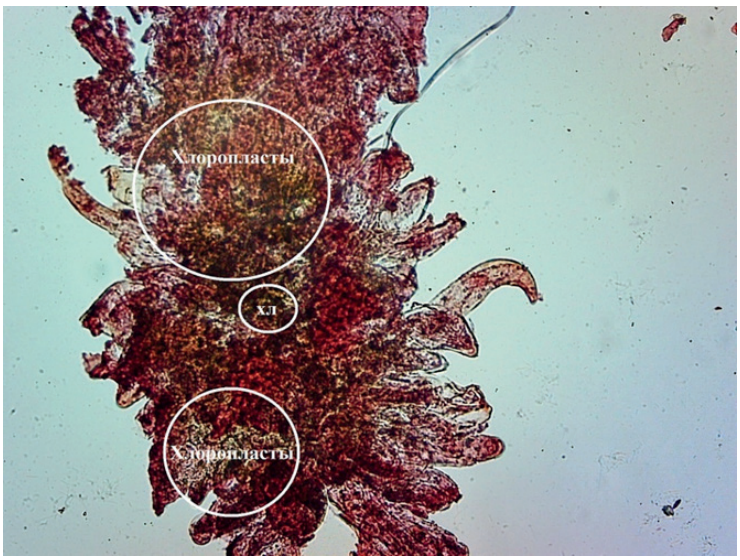
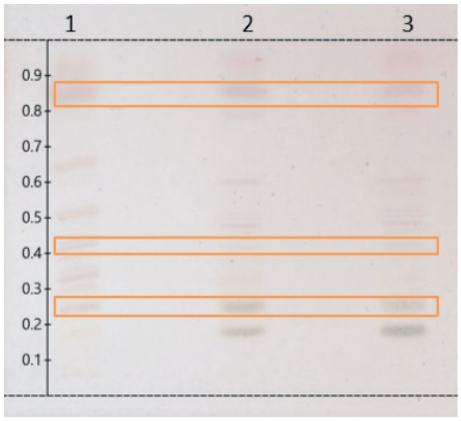


Рисунок 1. Микроскопия каллусной культур аралии сердцевидной

Параллельно проводился фитохимический анализ извлечения из интактного растения методом ВЭТСХ в системе хлороформ – этилацетат – метанол – вода (15:40:22:9), который позволил обнаружить два гинзенозида: Rb_2 (R_f = 0,25) и Rd (R_f = 0,43) – соединений, наличие которых в литературе было описано только для аралии маньчжурской (рисунок 2). Детектирование проводили в видимом свете после проявления 20% H_2SO_4.

Выбор системы объясняется наличием тритерпеноидов в качестве мажорных компонентов сырья аралии. Данная система описана в качестве стандартной для анализа различных видов женьшеня с приведением R_f стандартных веществ, тогда как специфичные условия для разделения вторичных метаболитов аралии методом ВЭТСХ в литературе не описаны.



1 – интактное растение аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.);

2 – каллус женьшеня настоящего (*Panax ginseng* C.A.Mey.);

3 – каллус женьшеня пятилистного (*Panax quinquefolius* L.)

Рисунок 2. Предварительный фитохимический анализ интактного растения аралии сердцевидной

В ходе проведенного исследования было установлено, что определенные нами условия являются оптимальными для получения каллуса аралии сердцевидной, однако требуется проведение дополнительных работ по подбору условий для длительного поддержания клеточных культур.

Анализ интактного растения методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии позволил установить характеристики, гарантирующие высокую степень разделения биологически активных веществ, что делает возможным последующее изучение накопления вторичных метаболитов непосредственно в культуре клеток после накопления необходимого количества биомассы.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.31 Фармакогнозия

ЛИТЕРАТУРА

1. Clement J.A.., Clement E.S. The medicinal chemistry of genus Aralia // Current topics in medicinal chemistry. 2014. N 24. P. 2783-2801. https://doi.org/10.2174/1568026615666141208110021.

2. Wang Z., Wan K., Hu J. Study on pharmacological activities of plants of Aralia genus // Chinese pharmaceutical journal. 2002. N 37. P. 86-90.

3. Коллекция штаммов лекарственных растений СПХФУ, как научная база для разработки инновационных лекарственных средств / Н.С. Пивоварова [и др.] // Тезисы докладов XI Международной конференции «Биология клеток растений in vitro и биотехнология». 2018. С. 182-183.

SUMMARY

STUDY OF THE PROSPECTS OF INTRODUCING TERPENOID-CONTAINING PLANTS INTO CULTURE IN VITRO ON THE EXAMPLE OF ARALIA CORDATA THUNB.

Nekrasova D.A., 1st year postgraduate (ReseacherID: AAR-8854-2020)
Academic advises: **Povydysh M.N**., Doctor of Biology, chairholder of Biochemistry department
(ORCID: 0000-0002-7768-9059; ResearcherID: AAR-4392-2020)
Pivovarova N.S., Candidate of pharmaceutical science, associate professor of Industrial drug technology department
(ResercherID: ADD-2428-2022)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: nekrasova.darya@pharminnotech.com

The first results of our work with calluses of Aralia cordata Thunb. are present in this article: described callus formation conditions, established constituents of the nutrient media for a long-time cultivation of plant cells and reported results of the HPTLC analysis of the intact plant.

Keywords: *cell culture, calluses, in vitro, Aralia cordata, triterpenoids, HPTLC.*

REFERENCES

1. Clement J.A.., Clement E.S. The medicinal chemistry of genus Aralia // Current topics in medicinal chemistry. 2014. N 24. P.2783-2801. https://doi.org. 10.2174/1568026615666141208110021.
2. Wang Z., Wan K., Hu J. Study on pharmacological activities of plants of Aralia genus // Chinese pharmaceutical journal. 2002. N 37. P. 86-90.3.
3. Kollekciya shtammov lekarstvennyh rastenij SPCPU, kak nauchnaya baza dlya razrabotki innovacionnyh lekarstvennyh sredstv / N.S. Pivovarova [et al.] // Tezisy dokladov XI Mezhdunarodnoj konferencii «Biologiya kletok rastenij in vitro i biotekhnologiya». 2018. P.182-183. (in Russian)

УДК 543–4

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ КУЛОНОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ

Новикова О.Н., студ. 3 курса, **Малюченко К.А.**, студ. 4 курса
Научный руководитель: **Алексеева Г.М.**, канд. хим. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: olga.novikova@spcpu.ru

В статье продемонстрированы возможности использования применения кулонометрического титрования для количественного определения фармацевтических субстанций.

Были сделаны выводы о преимуществе в количестве исходных веществ, подготовке титранта, универсальности в кулонометрического титрования по сравнению с классическим титриметрическим анализом.

Ключевые слова: *контроль качества, титриметрический анализ, количество электричества, кулонометрия, аскорбиновая кислота, анальгин.*

Цель исследования – доказать преимущества кулонометрического титрования фармацевтических субстанций по сравнению с классическим титрованием.

Задачи, поставленные для достижения поставленной цели:

- провести литературный обзор;
- подобрать оптимальные условия для проведения кулонометрического титрования:
- провести количественное кулонометрическое титрование аскорбиновой кислоты и метамизола натрия;
- сравнить классическое и кулонометрическое титрование.

Совершенствование методик анализа фармацевтических субстанций является одной из основных задач контроля качества лекарственных средств. Разработанные методики для количественного определения фармацевтических субстанций должны, как правило использовать прямые (абсолютные) методы анализа. Классическим прямым методом анализа является титриметрический метод анализа, который рекомендован ГФ 14 издания [1]. Метод объемного титрования не требует использования стандартных образцов. и не требует эталонирования, так как в качестве эталона в данном случае выступают химически чистые вещества в виде титрованных растворов.

Реализация титриметрического метода анализа требует приготовление и стандартизацию растворов титрантов и выбор фиксирования конечной точки титрования с применением визуальных или инструментальных методов. Одним из основных показателей качества фармацевтических субстанций является количественное содержание действующего вещества. Количественное определение лекарственных веществ осуществляется с использованием химических, физических, физико-химических и биологических методов. В фармакопейной статье «Титрованные растворы» представлены требования к исходным веществам, которые используются для приготовления титрованных растворов и стандартизации, а также способы приготовления и установления концентрации титрованных растворов Одним из преимуществ титриметрических методов анализа является отсутствие дорогостоящего оборудования. В этих методах используются для определения конечной тоски титрования индикаторы. Для них существуют определённые требования: окраска индикатора должна быть интенсивной, изменение окраски должно быть быстрым, чётким и обратимым, окраска индикатора должна меняться в узком интервале изменения показателей титрования. Использование индикаторов может вызвать систематическую погрешность. Объективность оценки количественного содержания действующего вещества в фармацевтической субстанции синтетического или минерального происхождения во многом определяется выбором метода анализа.

Более эффективным титриметрическим методом анализа является кулонометрия[2, 3]. Кулонометрия – метод анализа, основанный на измерении количества электричества, израсходованного на электропревращение определяемого вещества при электролизе его раствора. Главным достоинством этого метода является высокая точность анализа, не требует приготовление и стандартизацию титранта. Это безэталонный, абсолютный метод. Необходимое условие использования электрохимической реакции в кулонометрическом анализе состоит в том, чтобы практически все расходуемое количество электричества затрачивалось на превращение только определяемого вещества, т.е. побочные электрохимические реакции должны отсутствовать.

Основой метода является закон Фарадея, устанавливающий связь между количеством вещества, выделившегося на электроде, и количеством израсходованного при этом электричества:

$$P = MQ/nF,$$

P – масса электрохимически превращенного вещества, г;

M – молекулярная масса, г/моль;

Q – количество электричества, Кл;

n – число электронов, участвующих в электрохимической реакции;

F – число Фарадея (96485), необходимое для превращения одного эквивалента вещества.

Кулонометрическое титрование основано на электрогенерации титранта, который реагирует количественно с определяемым веществом. Так как кулонометрическое титрование проводят при постоянном значении тока, то количество электричества рассчитывают по формуле:

$$Q = It,$$

t – время, затраченное на электропревращение веществ.

Нами разработана методика количественного определения фармацевтических субстанций: метамизола натрия (анальгин) и аскорбиновой кислоты. Определение лекарственных субстанций проводилось методом окислительно-восстановительного кулонометрического титрования. Титрант йод два образовывался за счет электорохимической реакции на аноде: РЕАКЦИЯ Титрование проводили на кулонометрическом анализаторе «ЭКСПЕРТ-006» при постоянной силе тока 50 мА.

Рисунок 1. Анализатор кулонометрический «ЭКСПЕРТ-006»

Методика количественного кулонометрического определения аскорбиновой кислоты.

Точную навеску фармацевтической субстанции аскорбиновой кислоты около 0,13 г помещали в мерную колбу на 100,0 мл и доводили водой очищенной до метки. 1 мл исследуемого раствора помещали в кулонометрическую ячейку, добавляли 70 мл 0,2 н серной кислоты и 5 мл 0,25 н йодида калия.

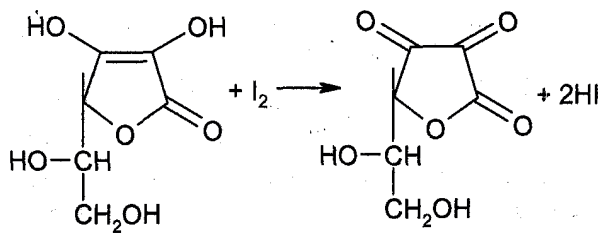


Рисунок 2. Взаимодействие аскорбиновой кислоты и йода

По данным проведенного эксперимента содержание действующего вещества аскорбиновой кислоты в фармацевтической субстанции составило (99,4 ±0,2)%.

Методика количественного кулонометрического определения метамизола натрия

Точную навеску фармацевтической субстанции метамизола натрия около 0,4 г помещали в мерную колбу на 100,0 мл и доводили водой очищенной до метки. 1 мл исследуемого раствора помещали в кулонометрическую ячейку, добавляли 70 мл 0,2 н серной кислоты и 5 мл 0,25 н йодида калия.

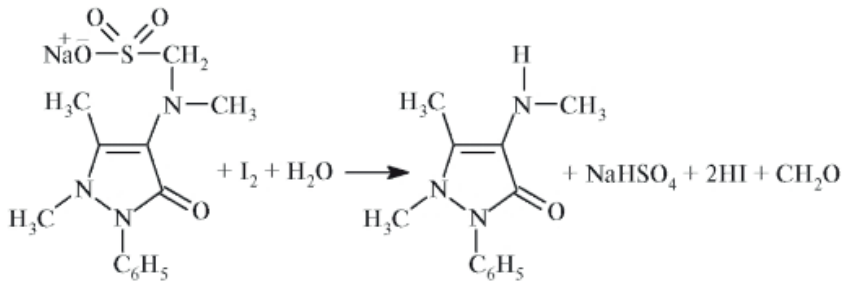


Рисунок 3. Взаимодействие аскорбиновой кислоты и йода

Рассчитанное значение действующего вещества анальгина в анализируемом образце составило (99,3 ±0,1)%

Результаты полученных экспериментальных исследований показывают преимущества кулонометрического титрования по сравнению с классическим титриметрическим анализом благодаря универсальности метода, малому расходу анализируемых веществ, отсутствию трудозатрат на приготовление и стандартизацию титранта и высокую точность полученных результатов анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (Дата обращения 01.03.2022).

2. Ермаков С.С., Наволоцкая Д.В., Семенова Е.А. Новые электродные материалы и технологии измерений в вольтамперометрии, амперометрии и кулонометрии // Журнал аналитической химии. 2019. Т.74. N 10. С. 761-773

3. Могилевский А.Н. Прецизионная кулонометрия при контролируемом потенциале. Инструментальные погрешности/ А.Н. Могилевский // Журнал аналитической химии. 2000. Т.55. N 11. С.1201-1205

SUMMARY

QUANTITATIVE COULOMETRIC DETERMINATION OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES

Novikova O.N., 3th year student, **Malyuchenko K.A.**, 4th year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: olga.novikova@spcpu.ru

The article demonstrates the possibilities of using coulometric titration for the quantitative determination of pharmaceutical substances.

Conclusions were drawn about the advantage of coulometric titration in comparison with classical titrimetric analysis.

Keywords: *quality control, titrimetric analysis, amount of electricity, coulometry, ascorbic acid, analgin.*

REFERENCES

1. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. 2018. [Internet] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (Accessed 01.03.2022) (in Russian)

2. Ermakov S.S., Navolotskaya D.V., Semenova E.A. New electrode materials and measurement technologies in voltammetry, amperometry and coulometry. Journal of Analytical Chemistry. 2019 Vol.74. No. 10. P.761-773 (in Russian)

3. Mogilevsky A.N. Precision coulometry at reduced potential. Instrumental errors // Zhurn. analyte chemistry. 2000. Vol. 55(11). P.1201-1205 (in Russian)

УДК 615.453.7

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ПАСТИЛОК С ВИТАМИНАМИ

Огородникова А.П., студ. 5 курса
Научный руководитель: **Криштанова Н.А.**, к. фарм. н, доцент каф. фармацевтической химии
(ORCID: 0000-0002-4761-2077)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ogorodnikova.anastasiya@pharminnotech.com

В ходе исследования был проведен один из этапов разработки комплексного поливитаминного комплекса, а именно изготовление пастилок с рибофлавином и разработка методики контроля качества пастилок с рибофлавином.

Ключевые слова: *пастилки, рибофлавин, поливитаминный комплекс, контроль качества, количественное определение.*

Витамины – значимые составляющие рациона человека любого возраста. В современном мире невозможно получить необходимое количество всех витаминов с обычным рационом, что объясняет высокую распространенность гиповитаминозов у детей. По данным ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи, дефицит большинства витаминов, даже в сбалансированном рационе, может достигать 20–30%. Первичная витаминная недостаточность связана с экологически неблагоприятной средой, активным потреблением высококалорийных продуктов питания, содержание витаминов в которых крайне мало. Вторичная витаминная недостаточность формируется при нарушении всасывания витаминов в условиях заболеваний внутренних органов (печени, желчевыводящих путей, поджелудочной железы, тонкой кишки), при эндокринопатиях, генетических дефектах ферментных систем, нарушениях транспорта витаминов и их метаболизма на фоне приема лекарств, а также при нарушении экскреции витаминов. Гиповитаминоз значительно снижает устойчивость организма к инфекционным и неинфекционным заболеваниям, а выраженные дефициты могут приводить к различным патологическим состояниям, включая опасные для жизни [1,2].

В связи с этим, сейчас актуальна разработка витаминных комплексов для детей. В качестве одного из этапов разработки комплексного поливитаминного лекарственного препарата предложены пастилки с рибофлавином.

Рибофлавин в форме коферментов участвует в окислительно-восстановительных реакциях, способствует повышению восприимчивости цвета зрительным анализатором и темновой адаптации. Недостаточное потребление витамина В2 сопровождается нарушением состояния кожных покровов, слизистых оболочек, нарушением светового и сумеречного зрения. Физиологическая потребность для взрослых – 1,8 мг/сутки или 0,75 мг/1000 ккал. Физиологическая потребность для детей – от 0,4 до 1,8 мг/сутки.

В качестве оптимальной лекарственной формы выбрана твердая дозированная лекарственная форма, представляющая собой упруго – пластичную основу с равномерно распределенным в ней действующим веществом / веществами [3].

Достоинствами пастилок являются:

• Возможность маскировки горького вкуса фармацевтической субстанции;

• Интересный для покупателя внешний вид и вкус лекарственного средства, что позволяет использовать пастилки в педиатрической практике;

• Индивидуальное дозирование, что позволяет применять такие лекарственные формы всем возрастным категориям пациентов, в том числе детям и пожилым, для которых часто необходима коррекция дозировки;

• Простота технологии изготовления, дешевизна вспомогательных компонентов и оборудования, которая может использоваться в условиях рецептурно-производственного отдела в аптеках.

Из недостатков следует упомянуть невозможность использования термолабильных фармацевтических субстанций, поскольку исходная смесь расплавляется и заливается в формы. Также в состав большинства пастилок промышленного производства входит сахар, поэтому есть необходимость коррекции состава для больных с сахарным диабетом [4].

Цель. Изготовление пастилок с рибофлавином и разработка методик контроля их качества.

Задачи:

1. Подобрать оптимальный состав для изготовления пастилок в условиях аптеки;
2. Подобрать технологию изготовления пастилок с учетом требования по однородности дозирования;
3. Разработать методики контроля качества пастилок.

Для выбора оптимального состава пастилок была проведена серия экспериментов, в которых менялось соотношение входящих ингредиентов (таблица 1). В качестве формообразующего вещества использовался желатин П-11.

Критериями отбора служили необходимые органолептические свойства: внешний вид, однородность, отсутствие видимых частиц, стабильность формы при комнатной температуре.

Таблица 1 – Составы жевательных плацебо-пастилок с желатином

№ состава / Компоненты	1	2	3
Желатин, г	5,0	5,0	5,0
Вода очищенная, мл	60	35	10
Результат	Непрочные, водянистые пастилки. Долго застывают в холодном месте (2 часа). Простота дозирования. Деформируемость при комнатной температуре	Упруго-пластичные, плотные пастилки. Простота дозирования. Застывают в холодном месте в течение 15 минут.	Твердые, жесткие пастилки. Сложность дозирования (застывают при комнатной температуре)

В качестве действующего вещества был выбран рибофлавин. Данная субстанция растворима в горячей воде в соотношении 1:5000, что учитывалось при введении в желатиновую массу.

Изготовление лекарственной формы проводилось по общим правилам. Желатин после набухания в воде очищенной нагревался до 60 градусов. После в желатиновую массу добавлялся раствор рибофлавина при перемешивании до однородной консистенции сиропа, далее массу с помощью дозатора переносили в формы [5].

Получившиеся пастилки оценивали по органолептическим характеристикам.

В качестве основного метода анализа субстанции рибофлавина в пастилках нами была предложена спектрофотомерия. Определение количественного содержания рибофлавина в пастилках проводилось с использованием стандартного образца при аналитической длине волны λ= 445 нм на спектрофотометре ОКБ Спектр СФ-2000.

Для приготовления раствора стандартного образца 0,04 мг рибофлавина помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили до метки водой очищенной, затем брали аликвоту 1 мл полученного раствора, помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки водой очищенной. Снимался спектр стандартного образца в области от 300 до 600 нм (рис. 1). При λ= 445 нм оптическая плотность составила 0,38.

Перед началом испытаний необходимо было совершить пробоподготовку. Пастилку растворяли в мерной колбе на 50 мл при нагревании, не допуская кипения, охлаждали, доводили до метки водой очищенной, брали из полученного раствора аликвоту 10мл и переносили в мерную колбу на 25 мл, доводили до метки водой очищенной. Далее снимался спектр испытуемых образцов в области от 300 до 600 нм (рис. 2).

Формула расчета количественного содержания:

$$q\,(x) = \frac{A(x) * a\,(co) * V^{м.п.}(co) * V^{м.к.1}x * V^{м.к.2}x}{A(co) * a\,(x) * V^{м.п.}(x) * V^{м.к.1}(co) * V^{м.к.2}(co)} * m$$

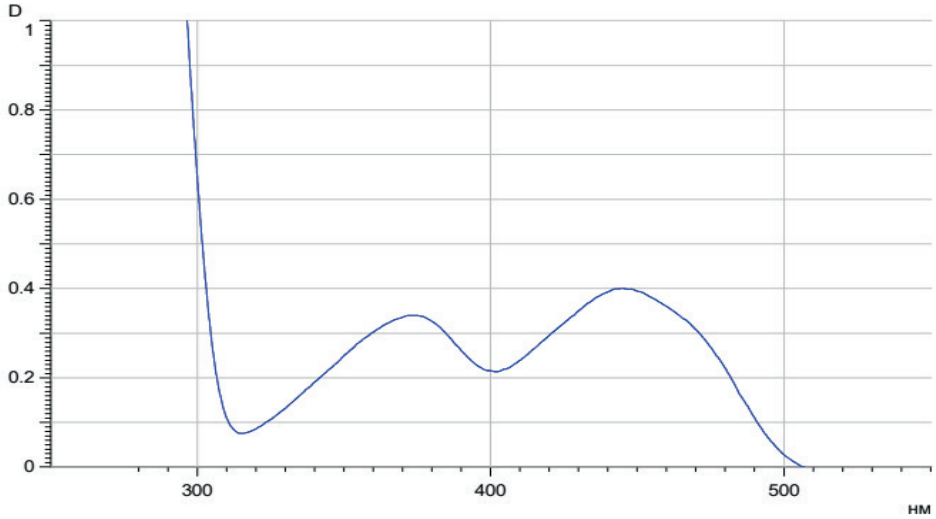


Рисунок 1. Спектр стандартного образца рибофлавина

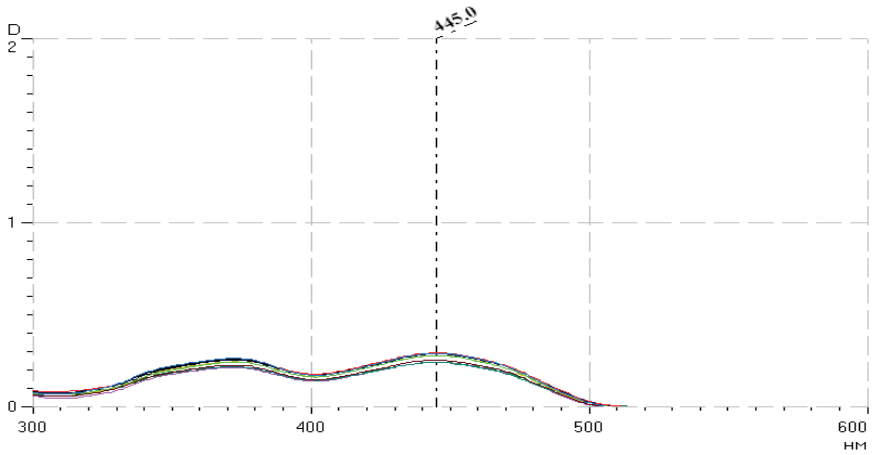


Рисунок 2. Спектры испытуемых образцов пастилок с рибофлавином

Методика количественного определения была проверена по параметру линейность. В аналитической области измеряли аналитический сигнал для проб с различной концентрацией рибофлавина. На основании полученных результатов была получена зависимость аналитического сигнала от количества рибофлавина в пастилках (рис.3).

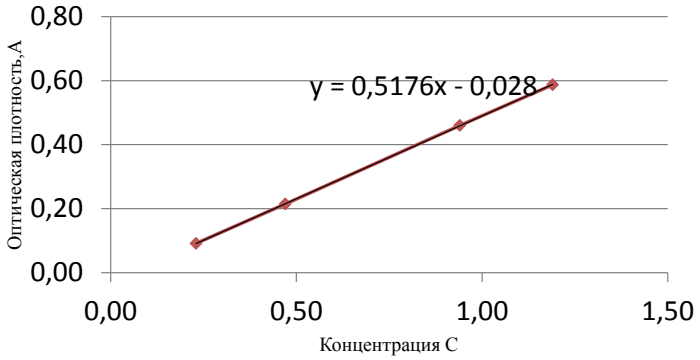


Рисунок 3. Зависимость аналитического сигнала от количества рибофлавина в пастилках

Качество технологии оценили с помощью показателя однородность дозирования. Для испытания было отобрано 10 пастилок, с каждой из которых проводилась пробоподготовка по методике, описанной выше. Далее было проведено количественное определение всех пастилок методом спектрофотомерии.

Статистическая обработка данных, полученных в испытании на однородность дозирования, проводилась в электронном виде при помощи программного обеспечения Microsoft Excel 2010 (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты испытания «однородность дозирования» пастилок с рибофлавином

Обозначение	Определение	Пояснение	Формула/ значение
n	Объем выборки	Первый этап	10
i	Номер единицы препарата по порядку анализа		От 1 до 10
X i	Содержание действующего вещества в единице испытуемого препарата	Результаты рассчитывают в % от номинального значения содержания действующего вещества	X_1= 88,8% X_2= 101,3% X_3 = 99,6% X_4 = 92,8% X_5 = 100% X_6 = 97,7% X_7 = 99,8% X_8 = 87,3% X_9 = 95,7% X_{10} = 100%
X	Среднеарифметическое значение	Вычисляют при n = 10	95,7
k	Константа приемлемости для f степеней свободы (f = n -1) при доверительной вероятности P, равной 95%	При n = 10	2.4
s	Стандартное отклонение	Вычисляется соответственно объему выборки	4,7
M	Эталонное значение дозы, % от её номинального значения	При 98,5 ≤≤ 101,5%	98,5

Обозначение	Определение	Пояснение	Формула/ значение
AV	Первый показатель приемлемости, %	Вычисляется соответственно значению M	14
L1	Максимально допустимое значение AV, %	Должно выполняться условие AV ≤ L1 при n =10	15,0

Таким образом, был подобран состав для экстемпорального изготовления пастилок с рибофлавином. Выбрано наиболее оптимальное соотношение желатина и воды очищенной №2 (таблица 1), так как деформируемость таких пастилок минимальна, лекарственная форма упруго-пластичная, не разрушается при надавливании. Указанный состав не требует дополнительного включения глицерина.

Для изготовления пастилок предложена технология с наименьшим количеством ингредиентов (рибофлавин, желатин и вода очищенная) для упрощения рецептуры.

По результатам испытания на однородность дозирования было доказано, что показатель приемлемости не превышает допустимого значения, значит, выбранная методика дозирования массы для пастилок по формам с помощью дозатора является удовлетворительной.

Для количественного анализа выбран метод спектрофотомерии в видимой области спектра, после соответствующей пробоподготовки. Подтвержден показатель линейность, так как коэффициент корреляции r = 0,999594 ≥ 0,98, следовательно, наблюдается подтверждение наличия линейной связи между оптической плотностью и концентрацией рибофлавина.

Получены пастилки с рибофлавином для экстемпорального изготовления. Методика их получения отвечает критериям: быстрота, отсутствие дополнительного оборудования, однородность дозирования Разработан метод контроля качества пастилок с рибофлавином с помощью спектрофотомерии в видимой области спектра, который отвечает показателю линейность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коденцова В.М., Намазова-Баранова Л.С., Макарова С.Г. Национальная программа по оптимизации обеспеченности витаминами и минеральными веществами детей России. Краткий обзор документа // Педиатрическая фармакология. 2017. №6 С. 478–493.

2. Ясаков Д.С., Ерешко О.А., Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Леоненко С.Н. Эффективность применения витаминных комплексов в виде мармеладных пастилок у здоровых детей и детей с аллергическими заболеваниями дошкольного и школьного возраста // Педиатрическая фармакология. Т 15. 2018. № 5. С. 416-423.

3. Государственная фармакопея РФ XIV. URL:http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения: 10.02.22)

4. Гундорина А.Д. Криштанова Н.А.Лекарственная форма пастилки: понятие и возможности применения. // Инновации в здоровье нации: сборник материалов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2019. С. 147-149

5. Калинин Д.А., Лабутина С.В., Соколова А.В. Разработка оптимального состава и технологии пастилок для рассасывания из лекарственного растительного сырья // Материалы 63-й Всероссийской межвузовской студенческой научной конференции с международным участием Молодежь, наука, медицина. 2017. С. 656-657

SUMMARY

VITAMIN LOZENGES DEVELOPMENT BACKGROUND

Ogorodnikova A., 5th year student
Academic advise: Krishtanova N.A., candidate of pharmaceutical sciences, docent
(ORCID: 0000-0002-4761-2077)
St.Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St.,St.Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: ogorodnikova.anastasiya@pharminnotech.com

In the course of the study, one of the stages of the development of a complex multivitamin complex was carried out, namely the manufacture of pastilles with riboflavin and the development of a method for controlling the quality of pastilles with riboflavin.

Keywords: *lozenges, riboflavin, multivitamin complex, quality control, quantification.*

REFERENCES

1. Kodentsova V.M., Namazova-Baranova L.S., Makarova S.G. National program to optimize the supply of vitamins and minerals to children in Russia. Brief overview of the document // Pediatric pharmacology. 2017. No. 6 P. 478–493.

2. Yasakov D.S., Ereshko O.A., Vrzhesinskaya O.A., Kodentsova V.M., Leonenko S.N. The effectiveness of the use of vitamin complexes in the form of marmalade lozenges in healthy children and children with allergic diseases of preschool and school age // Pediatric pharmacology. T 15. 2018. No. 5. P. 416 – 423.

3. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV. URL:http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (date of access: 10.02.22)

4. Gundorina A.D. Krishtanova N.A. Dosage form of lozenges: the concept and possibilities of application. // Innovations in the health of the nation: collection of materials of the VII All-Russian scientific and practical conference with international participation. 2019. P. 147-149

5. Kalinin D.A., Labutina S.V., Sokolova A.V. Development of the optimal composition and technology of lozenges for resorption from medicinal plant materials // Proceedings of the 63rd All-Russian Interuniversity Student Scientific Conference with International Participation Youth, science, medicine. 2017. P.656-657

УДК 61.615.1

ПОИСК ЭТАЛОННОГО МЕТОДА ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА НАСТОЕК

Оготоева Д.Д., асп. 1 года обучения
Руководитель: **Плетенева Т.В.**, докт. хим. наук, проф.
(ORCID: 0000-0001-7297-980X, ResearcherID: P-8922-2015)
Российский университет дружбы народов (РУДН)
117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, Российская Федерация
E-mail: crok16@mail.ru

Поляриметрическим методом установлено, что настойки являются оптически активными средами. Настойки валерианы отдельных серий разных производителей имеют только левое вращение. Настойки боярышника и пустырника разных производителей в тех же разведениях имеют более низкие абсолютные значения угла вращения плоскости поляризованного света и знакопеременны. Полученные результаты позволяют рекомендовать поляриметрический метод для идентификации настойки валерианы в группе настоек выбранного фармакологического класса.

Показано, что настойка валерианы как дисперсная система может быть охарактеризована методами динамического светорассеяния (DLS) и малоуглового рассеяния лазерного света (LALLS). Размерные спектры в нано- и микрометровом диапазоне, снятые в течение 14 суток позволили оценить стабильность настоек. Значения электрокинетического потенциала частиц дисперсной фазы в 30 мВ позволили характеризовать водные разведения настойки как более стабильные системы по сравнению со спиртовыми.

Разработаны методики определения подлинности и дисперсности настойки валерианы, открывающие перспективы создания эталонного подхода к оценке качества настоек оптическими методами.

Ключевые слова: *настойка валерианы лекарственной, хиральность, поляриметрия, DLS, LALLS, электрокинетический потенциал.*

В научных публикациях активно обсуждается нестабильность некоторых активных компонентов настойки валерианы, что требует ужесточения контроля качества вплоть до пересмотра требований, существующих на сегодняшний день [1]. Согласно Европейской фармакопее (Ph.Eur) X издания «Valerianae tinctura», оценку подлинности проводят методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ), определяя валереновую и ацетоксивалереновую кислоты с использованием стандартных образцов соответствующих кислот [2]. Но в Государственной фармакопее (ГФ) РФ отсутствуют статьи на отдельные настойки, а в общей статье «Настойки» (ОФС.1.4.1.0019.15) – показатель «подлинность» не рассматривается [3]. На практике качество настойки оценивают по количеству сухого остатка после удаления растворителей. Статья ГФ РФ «Валерианы лекарственной корневища с корнями» (ФС.2.5.0009.15) регламентирует установление подлинности сырья по валереновой и ацетоксивалереновой кислотам методом ТСХ [4]. Но в отсутствие стандартных образцов в качестве эталонов допускается использование соединений других химических классов, что противоречит требованиям аналитического метода.

Таким образом, разработка доступных неразрушающих методик контроля качества настоек оптическими методами является актуальной задачей, решение которой открывает перспективы разработки эталонного метода оценки качества, в первую очередь подлинности и стабильности.

Цель работы – разработать методики контроля подлинности и дисперсности настоек седативного и кардиотонического действия оптическими методами на примере настойки валерианы.

Для достижения поставленной цели следовало решить следующие задачи:

- Проанализировать основные нормативные и научные данные по контролю качества настоек, включая зарубежные фармакопеи.
- Исследовать возможность применения поляриметрического метода для оценки подлинности настоек.
- Охарактеризовать стабильность настоек валерианы как дисперсной системы методом динамического и статического рассеяния света, включая измерения дзета (ξ)-потенциала.

Объекты исследования – готовые лекарственные формы «Настойка валерианы», «Настойка пустырника», «Настойка боярышника» нескольких серий различных производителей. Растворители – этанол медицинский, 95%; высокоомная очищенная вода (установка Milli-Q® Integral). Исследование оптической активности настоек осуществляли поляриметрическим методом (POL-1/2, Atago, Japan). Измерение размера частиц дисперсной фазы в нанометровом диапазоне и

ξ-потенциала проводили методом динамического светорассеяния – DLS (Zetasizer Nano ZS, Malvern, UK). Для оценки дисперсности в микрометровом диапазона использовали официнальный метод – малоугловое рассеяние лазерного света – LALLS (Malvern 3600E, UK).

1.Оптическая активность настойки валерианы в сравнении с настойками пустырника и боярышника. Анализ литературных данных свидетельствует о том, что в растительном сырье, из которого готовят настойку валерьяны, содержатся биологически активные соединения с одним или несколькими хиральными центрами. Среди них встречаются как левовращающие: валереновая кислота, $[\alpha]^{20}_{D} = -120.4$ (1%, этанол); правовращающие: α-терпинеол, $[\alpha]^{20}_{D} = +92.45$ (1%, этанол) оптически активные соединения, так и рацемические смеси с преобладанием одного из энантиомеров: камфен, пинен, миртенол, борнеол и др. [5]. Это позволило предположить, что настойка валерианы может проявлять оптическую активность, значение которой является функцией химического состава, содержания хиральных соединений и природы растворителя.

Межсерийный анализ настойки валерианы одного из производителей (1.1) показал, что угол оптического вращения водных разведений α° на один-два порядка меньшие по сравнению со спиртовыми разведениями (рис. 1). С ростом кратности разведения снижаются различия межсерийных результатов, как для спиртовых, так и для водных разведений. Для дальнейших исследований были выбраны растворы с оптимальным разведением 1:40.

Спиртовые растворы настоек валерианы разных серий (n=5) одного из производителей (1.1) были только левовращающие со средним значением $\alpha°_{ср}=(-0.4588\pm0.0533)°$. При исследовании препаратов других производителей (1.2, 1.3) были также получены только отрицательные значения углов поворота плоскости поляризованного света (табл. 1). В то же время настойки боярышника и пустырника обладают меньшими абсолютными значениями оптической активности, чем настойки валерианы. Кроме того, для них не соблюдается постоянство знака угла оптического вращения, но средние величины $\alpha°_{ср}$ оказались положительными.

Как оказалось, измерения оптической активности необходимо проводить сразу после приготовления раствора., так как хранение настоек сопровождается образованием хиральных продуктов деградации, что отражается в увеличении оптической активности настойки в несколько раз (см. рис.1).

Из полученных результатов следует, что все настойки валерианы всегда сохраняют левое вращение, независимо от производителя и периода хранения. Напротив, настойки боярышника и пустырника характеризуются непостоянством знака вращения и низкими абсолютными значениями оптического вращения. Для последующего исследования настоек боярышника и пустырника необходимо использовать кратность разведения меньше, чем 1:40.

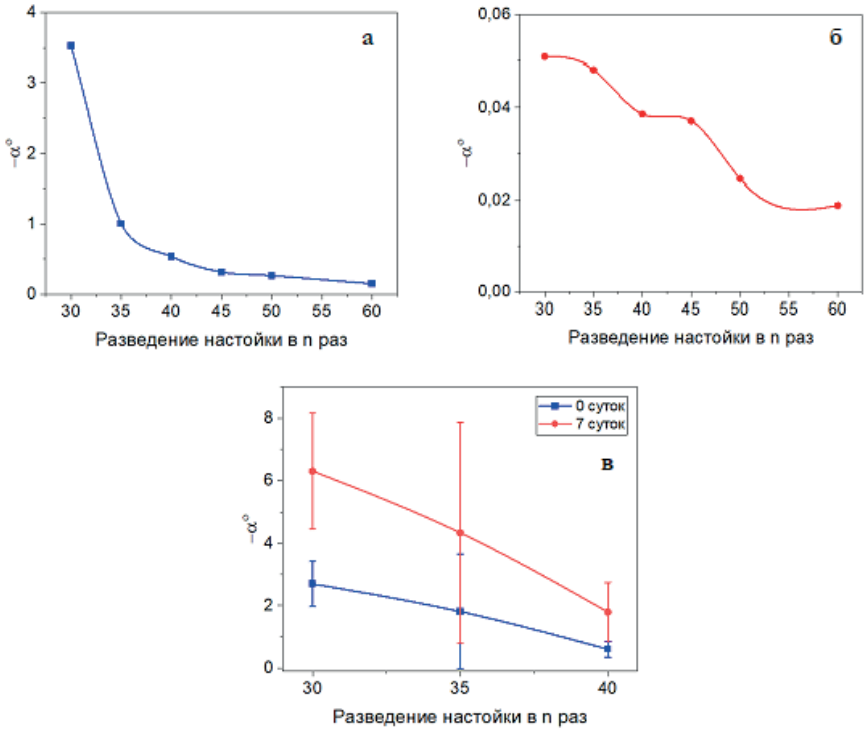


Рисунок 1. Зависимость оптической активности настойки валерианы от разведения этанолом и водой (а, б) и увеличение оптической активности настоек при их хранении с указанием стандартных отклонений межсерийных результатов (в)

Таблица 1 – Оптические активности настоек валерианы, боярышника и пустырника разных производителей

№ производителя	Настойка	α°	$\alpha°_{ср}$
1.1	Валериана	−0.5607	−0.4755
1.2		−0.0408	
1.3		−0.0583	

№ производителя	Настойка	α°	$α°_{ср}$
2.1	Боярышник	−0.0131	+0.0008
2.2		+0.0217	
2.3		−0.0061	
3.1	Пустырник	+0.0243	+0.0355
3.2		−0.0093	
3.3		+0.0916	

Проведенные исследования подлинности настоек класса седативного и кардиотонического действия позволяют рекомендовать поляриметрический метод для идентификации настойки валерианы, отличающейся левым вращением, независимо от производителя и заводской серии.

2. Размерные спектры частиц дисперсной фазы и электрокинетический потенциал в контроле качества настоек.

Исследование гомогенности настойки валерианы методом DLS показало, что в свежеприготовленных спиртовых разведениях 1:40 размер частиц дисперсной фазы не превышает 2.5 мкм и имеет единственный максимум (рис.2). В процессе старения настойки, через 7 суток, размерный спектр усложняется – в настойке появляются две размерные группы частиц, а максимумы их интенсивностей смещаются в сторону бóльших значений. Эти результаты были дополнены исследованиями в микроволновом диапазоне методом LALLS, из которых следует, что уже через 7 суток в настойке формируются более крупные частицы, доля которых для d=10 мкм не превышает 12%. Через 14 суток размерный максимум достигает 50 мкм, и одновременно формируется выраженное плечо, соответствующее частицам размером от 70 до 200 мкм. систему.

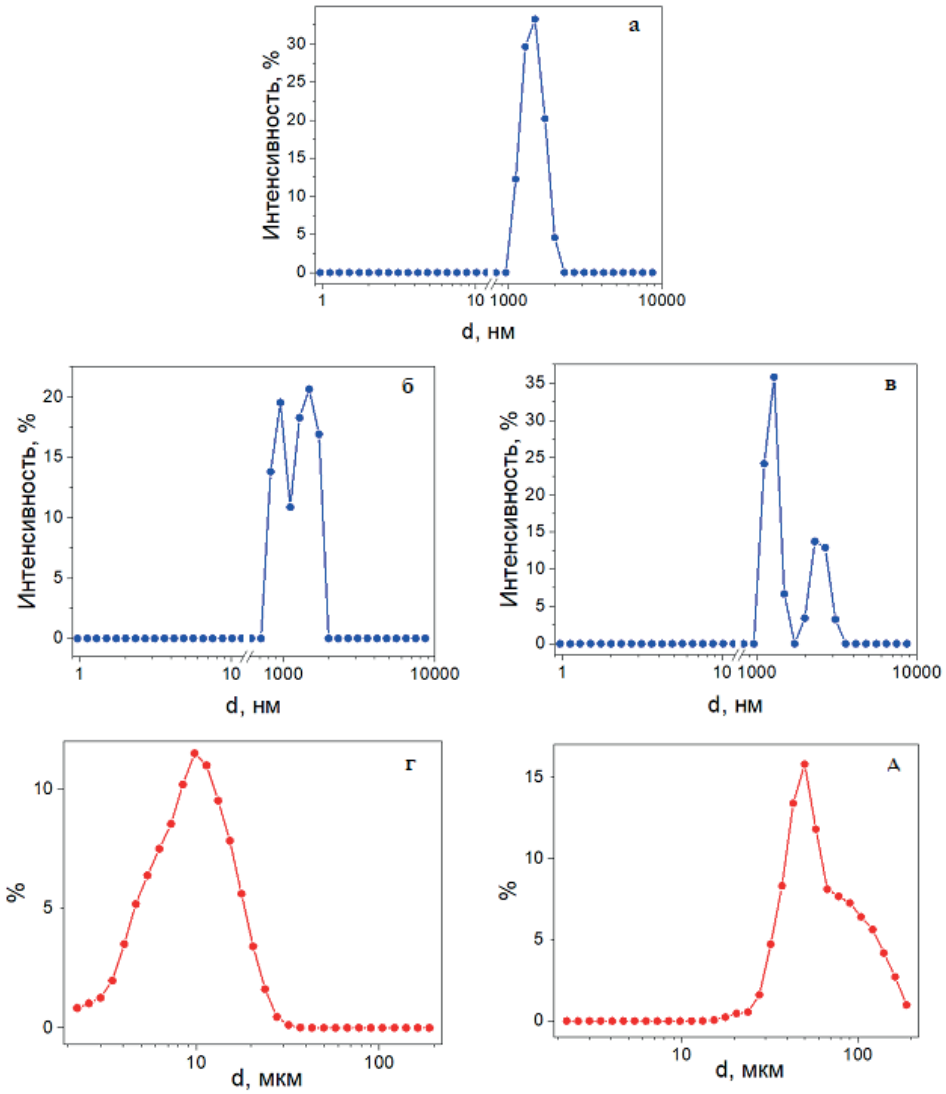


Рисунок 2. Изменение во времени размерных спектров спиртового разведения 1:40 настойки валерианы в нанометровом (а, б, в – DLS метод) и микрометровом (г, д – LALLS метод) диапазонах: а – свежеприготовленный раствор; б, г – через 7 суток; в, д – через 14 суток

Иная картина наблюдается в водных разведениях, что хорошо видно в сравнении со спиртовыми разведениями (рис.3). Методом LALLS было обнаружено, что через 7 суток в водном разведении присутствовали частицы в интервале (2–6) мкм в форме плеча, доля которых не превышала 1%.

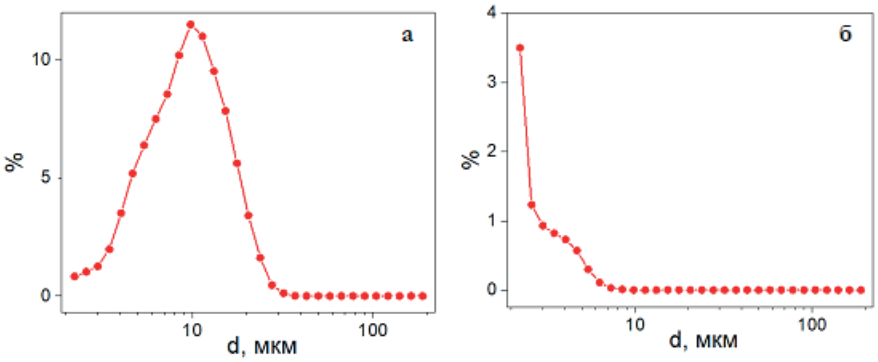


Рисунок 3. Распределение частиц дисперсной фазы через 7 суток после разведения настойки валерианы этанолом (а) и водой (б) (LALLS – измерения)

Стабильность водных разведений подтверждают также результаты измерений электрокинетического потенциала частиц дисперсной фазы (табл. 2). Значения ξ-потенциала свидетельствуют о значительной устойчивости дисперсной системы, превышая по мере разведения граничное значение стабильности в 30 мВ. Это может быть связано с существованием в полярном растворителе гигантских гетерогенных кластеров, препятствующих образованию более крупных конгломератов в настойке, разбавленной водой [6].

Таблица 2 – Изменение значений электрокинетического потенциала в спиртовых и водных разведениях настойки валерианы (метод DLS).

Разведение	Время, сут	($\zeta_{ср}$ ±SD), мВ	
		этанол	вода
1:20	0	−12.2±9.1	−26.0±6.6
1:40		−16.9±10.2	−28.2±4.8
1:60		−12.4±9.1	−30.3±5.2
1:20	7	−11.3±9.3	−20.1±3.8
1:40		−15.4±10.3	−18.1±3.3
1:60		−4.83±3.8	−30.5±3.1

Нанометровый размер частиц дисперсной фазы, содержащих биологически активные соединения, а также значения электрокинетического потенциала на уровне известных граничных значений стабильности в 30 мВ позволяют предполагать, что водные разведения настоек имеют высокую биодоступность.

Анализ нормативных материалов и научной литературы показал, что в связи с ограничением доступа к стандартным образцам настоек оценку их качества проводят по количеству сухого остатка. Исходное растительное сырье (корневище с корнями) анализируют, определяя ацетоксивалереновую и валереновую кислоты методом ТСХ. Но положение пятен характеризуют значениями факторов удерживания R_f относительно зон двух красителей – флуоресцеина и судана красного G, не являющихся структурными аналогами соединений-маркеров. Такая неопределенность в химическом анализе и отсутствие фармакопейной статьи для настоек способствуют поиску эталонных подходов к оценке качества настоек.

В настоящей работе впервые предложено рассматривать настойки как растворы, содержащие оптически активные соединения. Поляриметрическим методом показано, что настойка валерианы может быть идентифицирована по углу вращения плоскости поляризованного света. Так угол оптического вращения для настоек валерианы нескольких серий трех производителей всегда имел отрицательные значения, а его средняя величина составляла $\alpha°_{ср}$=−0.4755. Для настоек боярышника и пустырника значения α° были знакопеременными для разных производителей, а их средние значения были положительными: α°=+0.0008 и α°=+0.0355 соответственно. Таким образом, для идентификации настойки валерианы среди настоек фармакологического класса седативного и кардиотонического действия может быть рекомендован поляриметрический метод, отличающейся левым вращением, независимо от производителя и заводской серии.

Впервые качество настойки валерианы как дисперсной системы охарактеризовано методами динамического светорассеяния и малоуглового рассеяния лазерного света. Размерные спектры в нано- и микрометровом диапазонах, а также величина электрокинетического потенциала частиц дисперсной фазы позволили охарактеризовать стабильность спиртовых и водных разведений. Установлено, что водные разведения имеют бóльшую устойчивость: размер частиц дисперсной фазы находится в нанометровом диапазоне, и электрокинетический потенциал (ξ-потенциал) независимо от кратности разведения близок или превышает граничное значение стабильности дисперсных систем в 30 мВ.

Разработанные доступные методики контроля качества настоек с использованием современных оптических методов открывают перспективы разработки эталонного метода оценки качества настоек, в первую очередь их подлинности и стабильности.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.31 Фармакогнозия
76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. Shinjyo N., Waddell G., Green J. Valerian root in treating sleep problems and associated disorders—a systematic review and meta-analysis // Journal of Evidence-Based Integrative Medicine. 2020. N 25. P. 1-31. DOI: 10.1177/2515690x20967323.

2. Valerian tincture. Valerianae tincture // European Pharmacopoeia 10.0. Vol. I. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2019. P. 1664-1665.

3. Настойки. ОФС.1.4.1.0019.15 // Государственная фармакопея РФ. XIV изд. Т. 2. 2018. [Электронное издание]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/

4. Валерианы лекарственной корневища с корнями. ФС.2.5.0009.15 // Государственная фармакопея РФ. XIV изд. Т. 4. 2018. [Электронное издание]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/

5. Lunz K., Stappen I. Back to the roots—an overview of the chemical composition and bioactivity of selected root-essential oils // Molecules. 2021. Vol. 26(11). P. 3155. DOI: 10.3390/molecules26113155.

6. On the possibility of chiral structure-density submillimeter inhomogeneities existing in water / V.V. Goncharuk [et al.] // Journal of Water Chemistry and Technology. 2017. Vol. 39(6). P. 319-324. DOI: 10.3103/S1063455X17060029.

SUMMARY

SEARCH FOR A REFERENCE METHOD TO ASSESS THE QUALITY OF TINCTURES

Ogotoeva D.D., 1st year postgraduate student
Academic advice: **Pleteneva T.V.,** Doctor of Chemical science, Professor
(ORCID: 0000-0001-7297-980X, ResearcherID: P-8922-2015)
Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University),
117198, Russian Federation, 6, Miklukho-Maklaya Street, Moscow
E-mail: crok16@mail.ru

Polarimetric method established that tinctures are optically active environment. Valerian tinctures of individual series from different manufacturers have only left rotation. Tinctures of hawthorn and motherwort from different manufacturers in the same dilutions have lower absolute values of the angle of rotation of the plane of polarized light and are alternating. The results obtained allow us to recommend a polarimetric method for the identification of valerian tincture in the group of tinctures of the same pharmacological class.

It is shown that valerian tincture as a dispersed system can be characterized by dynamic light scattering (DLS) and low-angle laser light scattering (LALLS). Size spectra in the nano- and micrometer range, taken for 14 days, made it possible to evaluate the stability of tinctures. The values of the electrokinetic potential of the particles of the dispersed phase of 30 mV made it possible to characterize aqueous dilutions of the tincture as more stable systems compared to alcohol ones.

Techniques for determining the authenticity and dispersion of valerian tincture have been developed, which open up prospects for creating a reference approach to assessing the quality of tinctures by optical methods.

Keywords: *Valerian officinalis tincture, chirality, polarimetry, DLS, LALLS, electrokinetic potential.*

REFERENCES

1. Shinjyo N., Waddell G., Green J. Valerian root in treating sleep problems and associated disorders—a systematic review and meta-analysis // Journal of Evidence-Based Integrative Medicine. 2020. N 25. P. 1-31. DOI: 10.1177/2515690x20967323.

2. Valerian tincture. Valerianae tincture // European Pharmacopoeia 10.0. Vol. I. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2019. P. 1664-1665.

3. Nastoyki. OFS.1.4.1.0019.15 // Gosudarstvennaya farmakopeya RF. XIV ed. T. 2. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/ (in Russian).

4. Valeriany lekarstvennoi kornevishcha s kornyami. FS.2.5.0009.15 // Gosudarstvennaya farmakopeya RF. XIV ed. Tom 4. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/ (in Russian).

5. Lunz K., Stappen I. Back to the roots—an overview of the chemical composition and bioactivity of selected root-essential oils // Molecules. 2021. Vol. 26(11). P. 3155. DOI: 10.3390/molecules26113155.

6. On the possibility of chiral structure-density submillimeter inhomogeneities existing in water / V.V. Goncharuk [et al.] // Journal of Water Chemistry and Technology. 2017. Vol. 39(6). P. 319-324. DOI: 10.3103/S1063455X17060029

УДК 61:615.1

ИНДУЦИРОВАННОЕ РАДИОТЕПЛОВОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ

Петров Г.В., асп. 1 года обучения
Научный руководитель: **Сыроешкин А.В.**, д. б. н., зав. каф. фармацевтической и Токсикологической Химии
Российский Университет Дружбы Народов (РУДН), Медицинский институт РУДН
117198, Москва, Миклухо-Маклая, д. 8, Российская Федерация
E-mail: gleb98.2014@gmail.com

Контроль качества лекарственных препаратов, содержащих наночастицы, по показателю «подлинность» может быть затруднен классическими методами по причине низкой концентрации лекарственного вещества. В таких случаях в практике необходимо использовать комплекс методов биофармацевтического анализа – от ИФА и ПЦР до биотестирования. Этот комплекс методов биофармацевтического анализа может занимать от 4 человеко-часов на анализ одной пробы и иметь себестоимость от 10 евро за одно определение в одной пробе при условии комплектации реактивов зарубежного производства.

Ключевые слова: *биологически активные наночастицы, терагерцовый спектр, радиотепловое излучение, субтерагерцовый диапазон.*

В рамках разработки импортозамещающих технологий контроля качества мы обратились к наследию работ ИРЭ РАН (акад. Н.Д. Девятков, проф. О.В. Бецкий) по специфическим реакциям водных растворов на взаимодействие с миллиметровым диапазоном длин волн электромагнитного излучения. Критическим моментом этого взаимодействия является модуляция мерцающих диполей на поверхности супрамолекулярных структур [1, 2].

Оказалось, что целый ряд лекарственных препаратов самой различной природы (от колларгола до анаферона и моноклональных антител) излучает в гигагерцовом и субтерагерцовом диапазоне с плотностью мощности на два порядка превышающей фоновую. Критически важным является активация препарата (процедура преинкубации) – нагрев и облучение в определенном спектре видимого света.

Для препаратов, имеющих в своем составе биологически активные наночастицы, и способные к индуцированному радиотепловому излучению выявлены специфические характеристики: 1) особые терагерцовые спектры – как отражение специфической надмолекулярной организации (диспергирование приводит к вырождению спектров), 2) повышенную радиотепловую эмиссию в субтерагерцовой области – как показатель сформированного комплекса с повышенной внутренней энергией, 3) специфическую биологическую активность относительно одноклеточной модели *S. ambigua*, 4) все перечисленные свойства исчезают при высушивании порошкообразных препаратов, что прямо указывает на роль воды в формировании излучающих супрамолекулярных комплексов.

В ходе эксперимента все измерения были замерены на гигагерцовом интегральном датчике плотности потока. Модель прибора TES-92, имеющий диапазон измерения напряженности магнитного поля от 53 мкА/м до 286,4 мА/м, диапазон измерения напряженности электрического поля от 20 мВ/м до 108 В/м, а диапазон частот от 50МГц до 3,5ГГц. Обладающий достаточно быстрой скоростью отображения результатов в 400 мс. Датчик измерения трехканальный, что позволяет настроить ориентацию прибора и образца в пространстве соответствующим образом.

Образцы хранятся в эппендорфах объемом в 1,5 мл при комнатной температуре. Для измерений используется также настольный два лабораторных термостата, лазерный термометр, ртутный термометр на 60^{0}С, источник света с узким спектральным диапазоном в +/-2нм, чашки Петри, вода, полученная на установке Mili-Q.

На чашку Петри помещается образец таким образом, чтобы вся площадь чашки была заполнена, далее помещается на выключенный термостат, над чашкой Петри в штативе фиксируется гигагерцовый датчик и настраивается ориентация прибора на образец измерения, далее первые 15 минут фиксируются данные неактивированного препарата X. По прошествии 15 минут на термостате выставляется температура нагрева до 37^{0}С, измерения на время нагревания не фиксируются в отчете. На втором термостате подогревается вода, полученная на установке Mili-Q. Лазерным термометром фиксируется температура на поверхности препарата X, ртутным термометром фиксируется фактическая температуре нагрева подставки термостата. По достижению 37^{0}С прокапываем образец препарата X водой по каплям до момента полного смачивания образца, начинаем фиксировать показания прибора в отчете. По завершению эксперимента образцы препарата и его плацебо утилизируются, так как далее не пригодны к повторным исследованиям.

Таблица 1 – Измерения Препарата X, имеющий в своем строении биологически активные наночастицы. Изменения показаний при нагревании препарата до 37^{0}С и сравнение его с его плацебо препаратами

Т/обр	Препарат X μW/m²	Плацебо 1 μW/m²	Плацебо 2 μW/m²	Плацебо 3 μW/m²
1-5 мин	61,1	0,1	1,1	0,1
5-10 мин	63,4	0,3	0,5	0,4
10-15 мин	64,1	0,2	0,7	0,5
Добавление воды+Нагревание до 37^{0}С				
15-20 мин	71,1	0,4	0,6	0,3

Т/обр	Препарат X μW/m²	Плацебо 1 μW/m²	Плацебо 2 μW/m²	Плацебо 3 μW/m²
20-25 мин	72,3	0,3	0,7	0,6
25-30 мин	75,0	0,1	0,8	0,7

В таблице №1 показано сравнение измерений Препарата X с его плацебо препаратами различной технологии приготовления. Измерения проводились в одинаковых условиях для всех образцов. Все образцы помещаются в одинаковом количестве в чашки Петри, так, чтобы вся площадь чашки был занята образцами. В начале эксперимента температура равнялась 24^{0}C. По полученным данным, мы можем судить о том, что при нагревании образцов, происходит активация, что видно по показаниям в таблице. В свою очередь плацебо препараты никак не реагируют на активацию температурой и продолжают показывать значения в диапазоне от 0,1 до 1,1μW/m^2.

Рисунок 1. График измерений Препарата X при активации его температурой в 37^{0}C

На протяжении нескольких месяцев Препарат X при активации температурой показывал данные в схожих диапазонах от 67 до 71,2 μW/m^2.

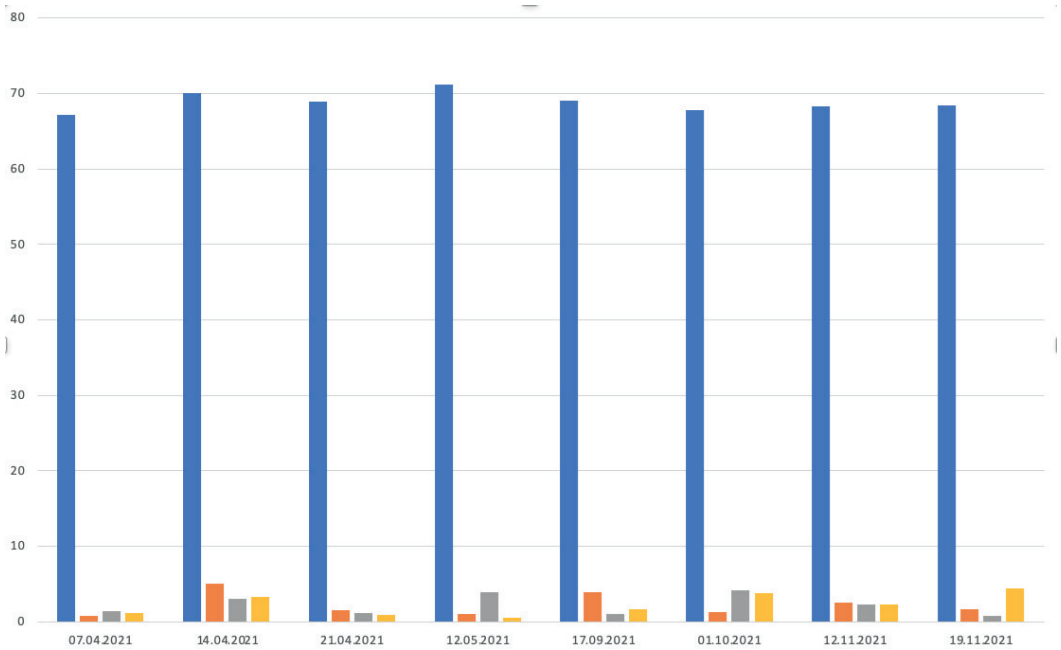


Рисунок 2. Сравнение измерений за период с 07.04.2021 по 19.11.2021 активированных действием температуры Препаратов X и его плацебо препаратов между собой

На протяжении нескольких месяцев измерения Препарата X показывают стабильный рост при активации температурой, в то время как плацебо препараты на нагревание не реагируют и показывают статичные данные от начала эксперимента и до конца его проведения.

Таблица 2 – Измерения Препарата X, имеющий в своем строении биологически активные наночастицы. Изменения показаний при активации спектром света в видимой области и сравнение его с его плацебо препаратами

Т/обр	Препарат X μW/m²	Плацебо 1 μW/m²	Плацебо 2 μW/m²	Плацебо 3 μW/m²
1-5 мин	60,0	0,3	0,9	1,3
5-10 мин	61,2	0,4	1,1	1,1
10-15 мин	60,9	0,7	1,2	1,4
Облучение в спектре видимого света				
15-20 мин	66,7	0,8	0,8	1,0
20-25 мин	64,1	0,4	1,3	1,1
25-30 мин	67,1	0,6	1,4	1,2

В таблице №2 показано сравнение измерений Препарата X с его плацебо препаратами различной технологии приготовления. Измерения так же проводились в одинаковых условиях, как и в случае эксперимента с активацией температурой. Следует отметить, что двойная активация, то есть одновременное воздействие и спектром света в видимой области, и температурное воздействие, не дает особого прироста в показаниях собственного радиотеплового излучения. Как и в предыдущем эксперименте, мы можем наблюдать, что рост показаний у Препарата X наступает после облучения, в то время как показания плацебо препаратов остаются в схожих диапазонах и не изменяются при действии спектра света.

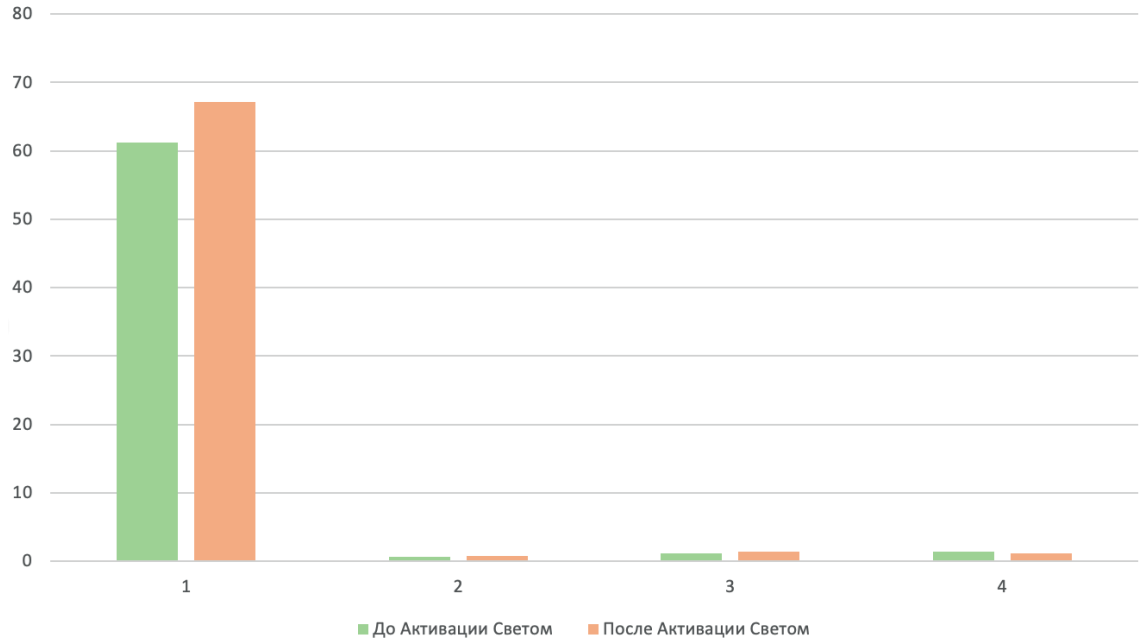


Рисунок 3. Сравнение Препарата X и его Плацебо препаратов до активации спектром видимого света и после активации

Исходя из данного графика, можно заметить, что Препарат X реагирует на активацию спектром видимого света, в отличии от его Плацебо препаратов, которые при включении источника света с узким спектральным диапазоном в +/- 2нм сохраняют показания в одинаковых диапазонах.

С нашей точки зрения, применение гигагерцовых интегральных датчиков плотности потока могло бы стать перспективным методом определения подлинности лекарственных средств с биологически активными наночастицами, при условии специфической активации их радиоизлучательной способности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Slow quasikinetic changes in water-lactose complexes during storage / M.A. Morozova [et al.] // International Journal of Applied Pharmaceutics. 2021. Vol. 13(1). P. 227-232. DOI https://dx.doi.org/10.22159/ijap.2021v13i1.39837

2. Mechanical Transformation of Compounds Leading to Physical, Chemical, and Biological Changes in Pharmaceutical Substances / A.V. Syroeshkin [et al.] // Scientific World Journal. 2018. P. 8905471. doi: 10.1155/2018/8905471.

SUMMARY

INDUCED RADIOTHERMAL RADIATION OF DRUGS CONTAINING BIOLOGICALLY ACTIVE NANOPARTICLES

Petrov G.V., P.G. 1st year student
Academic advise: **Syroeshkin A.V.,** Doctor of biological sciences,
Head of the department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry
People Friendship University of Russia
117198, Moscow, Miklukho-Maklaya st., 8, Russian Federation
E-mail: gleb98.2014@gmail.com

Quality control of medicines containing nanoparticles in terms of «authenticity» may be difficult by classical methods due to the low concentration of the medicinal substance. In such cases, it is necessary to use a set of biopharmaceutical analysis methods in practice – from ELISA and PCR to biotesting. This complex of biopharmaceutical analysis methods can take from 4 man-hours to analyze one sample and have a cost of 10 euros for one determination in one sample, provided that reagents of foreign production are completed.

Keywords: *biologically active nanoparticles, terahertz spectrum, radiothermal radiation, subterahertz range.*

REFERENCES

1. Slow quasikinetic changes in water-lactose complexes during storage / M.A. Morozova [et al.] // International Journal of Applied Pharmaceutics. 2021. Vol. 13(1). P. 227-232. DOI https://dx.doi.org/10.22159/ijap.2021v13i1.39837
2. Mechanical Transformation of Compounds Leading to Physical, Chemical, and Biological Changes in Pharmaceutical Substances / A.V. Syroeshkin [et al.] // Scientific World Journal. 2018. P. 8905471. doi: 10.1155/2018/8905471.

УДК 661.728

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ОТБЕЛКИ МИКРОКРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ, ПОЛУЧЕННОЙ МЕТОДОМ ГАЗОФАЗНОГО ГИДРОЛИЗА

Пименов С.Д., асп. 3 года обучения
(ORCID: 0000-0001-6042-0021)
Научный руководитель: **Сизов А.И.,** к.т.н., доцент
(ORCID: 0000-0001-9412-5557)
Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет,
194021, Санкт-Петербург, Институтский пер., д. 5, Российская Федерация
E-mail: chudopim@mail.ru

Одним из основных потребителей микрокристаллической целлюлозы (МКЦ) является фармацевтическая промышленность, где МКЦ используется в качестве связующего и наполнителя при прямом прессовании таблеток.

МКЦ получают кислотным гидролизом целлюлозы, при этом, как правило, происходит снижение белизны целлюлозы. Потемнение связано с деструкцией образующихся при гидролизе сахаров и последующим образованием окрашенных продуктов. Состав и свойства этих продуктов зависят от способа гидролиза целлюлозы, концентрации кислоты, температуры и времени проведения процесса. Требования фармацевтической промышленности определяют необходимость получения МКЦ с высокой белизной. Исходя из этого, целью работы являлся подбор режимов отбелки МКЦ, с использованием в качестве отбеливающих агентов гипохлорита натрия и перекиси водорода. В процессе исследования использовалась МКЦ, полученная газофазным гидролизом беленой древесной целлюлозы. Белизну и величину желтого оттенка МКЦ в процессе отбелки определяли методом цифровой цветометрии на планшетном сканере.

Ключевые слова: *отбелка, микрокристаллическая целлюлоза, отбеливающие агенты, гипохлорит натрия, перекись водорода.*

Микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) используется во многих отраслях промышленности. Одним из основных потребителей является фармацевтическая промышленность, где МКЦ используется в качестве связующего и наполнителя при прямом прессовании таблеток.

МКЦ получают кислотным гидролизом целлюлозы, при этом, как правило, происходит снижение белизны целлюлозы [1]. Потемнение определяется деструкцией образующихся при гидролизе сахаров с последующим образованием окрашенных продуктов. Состав и свойства этих продуктов зависят от способа гидролиза, температуры, концентрации кислоты и времени проведения процесса. В некоторых случаях белизна целлюлозы после гидролиза уменьшается на 20–50 % по сравнению с исходной целлюлозой [1].

МКЦ как продукт, используемый в фармацевтической промышленности, должен обладать высокой белизной и однородностью, из чего следует, что процесс отбелки является одной из основных стадий её производства.

Целью настоящей работы являлось исследование процесса отбелки МКЦ, полученной методом газофазного гидролиза хлористым водородом, с сопутствующим поиском режимов отбелки, необходимых для получения продукта с высокой белизной, что обуславливает её пригодность для использования в фармацевтической промышленности.

Задачами данного исследования являлись:

1. Достичь высоких значений белизны при проведении отбеливания МКЦ, полученной методом газофазного гидролиза целлюлозы;

2. Показать возможность осуществления качественного отбеливания МКЦ с низкими значениями исходной белизны;

3. Определить параметры отбеливания при использовании выбранных отбеливающих агентов.

В качестве целлюлозного материала для газофазного гидролиза использовалась сульфатная беленая целлюлоза из лиственных пород по ГОСТ 28172–89 Усть-Илимского ЦБК марки ЛС-0 (исходная белизна целлюлозы в соответствии с ГОСТ не менее 89 %). Вначале целлюлоза измельчалась на шредере до размера частиц 3×30 мм. Для проведения гидролиза измельченную целлюлозу влажностью 10–12 % обрабатывали 25 % газо-воздушной смесью хлористого водорода при температуре 45ºС в течение 15 мин. МКЦ суспендировали в воде и нейтрализовали до определенной величины pH концентрированным раствором едкого натра. Отбелку проводили в термостатических условиях в химическом стакане объемом 1 л, снабженным мешалкой. Через определенное время отбирали пробы суспензии, далее их фильтровали через стеклянный пористый фильтр (фильтр Шотта S1), фильтрат отбирали для анализа, а остаток МКЦ на фильтре промывали вначале подкисленной дистиллированной водой (нейтрализовали избыток щелочи соляной кислотой с нормальной концентрацией (молярной концентрацией эквивалента или нормальностью) 0,1 моль-экв/л), а затем дистиллированной водой до нейтральной реакции по метилоранжу.

В фильтрате, полученном после фильтрации отбеленной пробы суспензии, определяли концентрацию активного хлора (АХ) иодометрическим титрованием, концентрацию активного кислорода (АК) – методом перманганатометрии.

Белизну образцов МКЦ анализировали методом цифровой цветометрии на сканере с контактным датчиком изображения (CIS, ContactImageSensor) [2]. Сканирование проводилось на планшетном сканере HP 1120 ML (Китай), использовали цветовой режим TrueColor (16,5 млн цветовых оттенков), оптическое разрешение – 600 dpi.

Количественную оценку белизны осуществляли в рамках цветовой модели RGB, где яркость измеряется от 0 (min) до 255 (max) условных единиц, а цвет определяется смешиванием красного канала (R), зеленого канала (G) и синего канала (B) [5]. Белому цвету соответствует значения R – 255, G – 255, B – 255.

Для анализа и обработки изображений использовали графический редактор GIMP 2.8, позволяющий по выделяемой области получать усреднённые значения яркостей красного (R), зелёного (G) и синего (B) каналов. Для количественного выражения белизны, то есть степени приближения к идеально белому цвету, использовали величину относительной белизны:

$$W_{\text{с}} = \frac{R+G+B}{R_0+G_0+B_0} \cdot 100,$$

где Wc – относительная белизна исследуемого образца вещества по показаниям сканера, %;

R, G, B – значения яркостей красного, зеленого и синего каналов соответственно, характеризующие окраску исследуемого образца вещества, усл. ед;

R0 = G0 = B0 = 255 – значения яркостей красного, зеленого и синего каналов соответственно, обуславливающие абсолютно белый цвет вещества, усл. ед.

Помимо белизны, для визуальной оценки внешнего вида материала большое значение имеет характеристика цветовых оттенков. Целлюлозе и материалам на ее основе, как правило, свойственен желтый оттенок, который является нежелательным показателем внешнего вида, особенно для фармацевтического производства. Для его снижения применяются различные добавки, увеличивающие синюю составляющую в спектре отраженного света (ультрамарин, оптические отбеливатели).

Количественную характеристику желтого оттенка целлюлозных материалов определяли как разницу между средней яркостью всех каналов и относительной яркостью синего канала:

$$K_{\text{ж}} = \frac{(R+G+B)}{3} - B,$$

где Кж – интенсивность желтого оттенка, усл. ед;

R, G, B – значения яркостей красного, зеленого и синего каналов соответственно, характеризующие окраску исследуемого образца вещества, усл. ед;

В таблице 1 приведены данные по анализу образцов МКЦ различных иностранных производителей, полученные сканированием их на сканере HP 1102 по приведенному выше методу цифровой цветометрии. Визуально белизна образцов практически не различается, хотя RGB-спектры этих образцов фиксируют незначительное отличие в интенсивности желтого оттенка. В данной работе условия отбелки МКЦ были ориентированы на достижение значений белизны конечного продукта не менее 90 % и интенсивности желтого оттенка не более 3 усл. ед.

Таблица 1 – Белизна и интенсивность желтого оттенка образцов МКЦ различных производителей

Марка образца МКЦ	$RGB_{ср}$, усл.ед	B, усл. ед	$K_{ж}$,усл. ед	$W_{с}$, %
Образец из СПБХФУ (импорт)	253,1	251	2,1	90,9
Prosolv «JRSpharma» (Германия)	253,5	252	1,5	91,2
MCC102D^{+} «JRSpharma» (Германия)	252,5	250	2,5	90,8

Марка образца МКЦ	$RGB_{ср}$, усл.ед	В, усл. ед	$К_ж$,усл. ед	W_c, %
Vivapur 101 «JRS pharma» (Германия)	251,7	250	1,7	90,1
HiCel «Sigachi Industries» (Индия)	252,3	249	3,3	90,5

Отбелка микрокристаллической целлюлозы гипохлоритом натрия

Гипохлорит натрия как отбеливающий агент находит широкое применение в различных отраслях промышленности – текстильной, целлюлозно-бумажной и др. Широкому использованию гипохлорита способствует его низкая цена, высокие белильные свойства и возможность проведения процесса при низких температурах.

Известно, что pH среды сильно влияет на процесс отбеливания различных материалов гипохлоритом натрия, так как в зависимости от него белильными агентами выступают Cl_2 и ClO^- [5]. На рис. 1 приведена динамика изменений белизны и интенсивности желтого оттенка МКЦ при отбелке гипохлоритом натрия при pH = 2 и pH = 5,2. Как видно из приведенных данных, отбелка гипохлоритом натрия при pH = 2 протекает очень интенсивно и позволяет достичь требуемой белизны (более 90 %) менее чем за 30 мин. Интенсивность желтого оттенка МКЦ также снижается, однако, для достижения требуемой величины (не более 3 усл. ед) длительность отбелки должна быть не менее 45 мин. Полученные данные указывают на наличие в МКЦ разнородных хромофорных компонентов, которые окисляются хлором с различной скоростью.

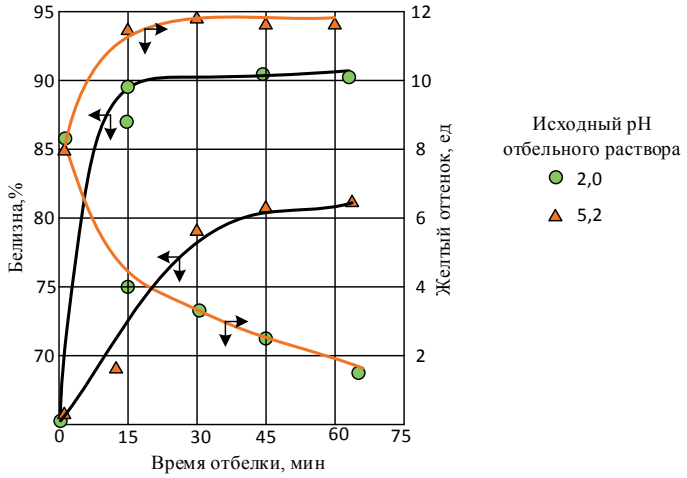


Рисунок 1. Динамика изменения белизны и интенсивности желтого оттенка образцов МКЦ при различных значениях pH отбельного раствора с гипохлоритом натрия (гидромодуль, далее ГМ = 10, *t* = 23 °C, исходная концентрация активного хлора (АХ) $C_{АХ}$ = 1000 мг/л)

Обработка МКЦ гипохлоритом натрия при pH = 5,2 показывает, что процесс имеет значительно более низкую скорость, а интенсивность желтого оттенка даже имеет тенденцию к росту.

В процессе гидролиза целлюлозы с использованием газофазного хлористого водорода может происходить значительное потемнение материала. Снижение исходной белизны при неудачно выбранном режиме гидролиза может составить более 50 %. Для оценки возможности отбелки МКЦ с очень низкой исходной белизной проведены соответствующие эксперименты (см. рис. 2). Как видно из приведенных данных, МКЦ после гидролиза может быть отбелена гипохлоритом натрия до требуемого значения белизны (не менее 90 %) даже при значениях исходной белизны около 40 %. Однако расход активного хлора при этом увеличивался почти в два раза с 3500 до 6500 мг АХ/кг МКЦ.

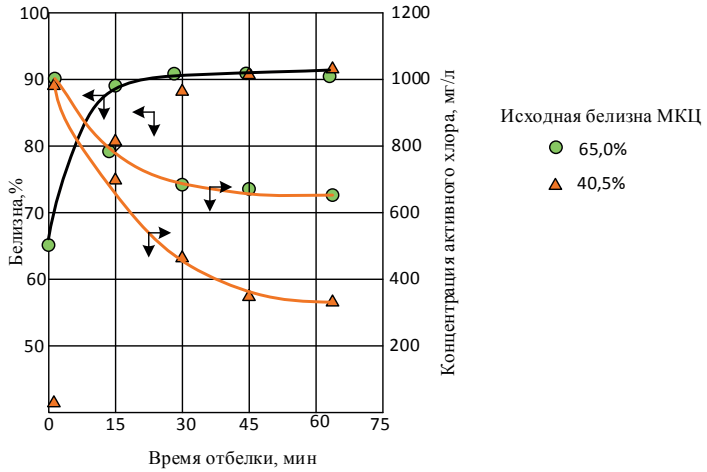


Рисунок 2. Динамика изменений белизны и концентрации активного хлора в отбельном растворе при отбелке гипохлоритом натрия образцов МКЦ с различной исходной белизной (pH = 2, *t* = 23 °C, ГМ = 10)

По данным исследования произведен расчет режима отбелки МКЦ с различной исходной белизной гипохлоритом натрия. Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Параметры режима отбелки МКЦ с различной исходной белизной гипохлоритом натрия до достижения конечной белизны 90 % и интенсивности желтого оттенка не более 3 усл. ед.

Исходная белизна МКЦ, %	pH	t, °C	ГМ	Расход активного хлора (АХ) на отбелку МКЦ, г/кг	Расход гипохлорита натрия (15 % АХ) на 1 т МКЦ, кг	Время отбелки, мин
40	2-3	20-25	10	6,1	0,32	60,0
50				5,6	0,30	60,0
60				5,2	0,27	40,0
70				4,7	0,25	40,0

Отбелка микрокристаллической целлюлозы перекисью водорода

Отбелка целлюлозы с использованием хлорсодержащих реагентов вызывает загрязнение окружающей среды токсичными хлорорганическими соединениями. Современные технологии отбелки предполагают снижение или полную замену хлорирования отбелкой пероксидами [5]. Поэтому, несмотря на высокую эффективность и простоту процесса отбелки МКЦ гипохлоритом натрия, были проведены исследования по отбелке МКЦ с использованием перекиси водорода.

В патентной литературе имеются описания способов отбелки МКЦ с использованием перекиси водорода [6]. Известно, что отбелка целлюлозы кислородом воздуха и перекисью водорода проводится только в щелочной среде и при повышенных температурах.

На рисунке 3 приведена динамика изменений белизны и интенсивности желтого оттенка при отбелке МКЦ перекисью водорода с различными исходными значениями pH отбельного раствора.

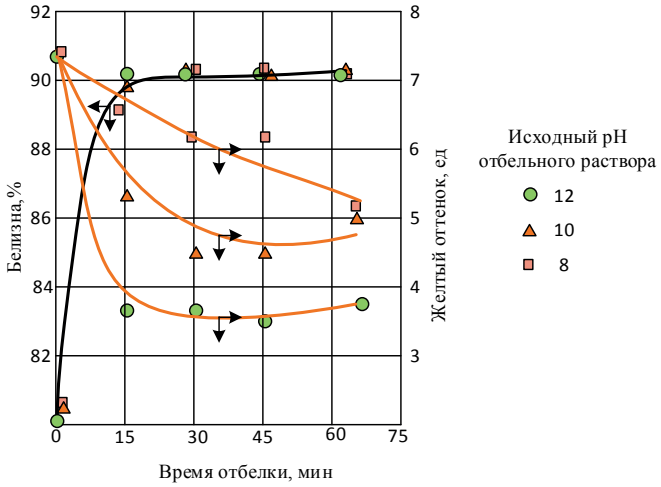


Рисунок 3 Динамика изменения белизны и интенсивности желтого оттенка при отбелке МКЦ перекисью водорода с различными исходными значениями pH отбельного раствора (исходная концентрация активного кислорода (АК) $C_{АК}$ = 2000 мг/л, *t* = 60 °C, ГМ = 10).

На рисунке 3 видно, что отбелка перекисью водорода позволяет достичь требуемой белизны МКЦ (не менее 90 %) при всех исследуемых первоначальных значениях pH, однако интенсивность желтого оттенка превышает требуемую величину (не более 3 усл. ед). Примечателен также тот факт, что при увеличении времени процесса отбелки значение интенсивности желтого оттенка (особенно при исходных величинах pH 8 и 12), несмотря на наличие остаточного активного кислорода, возрастает.

Анализируя данные рисунка 3, можно сделать предположение, что красящие вещества МКЦ состоят из двух групп компонентов. Для первой группы компонентов – легкоокисляемых активным кислородом – характерно быстрое обесцвечивание в широком диапазоне pH от 8 до 12. Эта группа определяет более 90 % общей цветности МКЦ. Вторая группа компонентов – трудноокисляемых активным кислородом – составляет менее 10 % общей цветности и определяет желтый оттенок МКЦ. Для компонентов этой группы скорость окисления в значительной степени определяется pH отбельного раствора, и при pH менее 7 снижение интенсивности желтого оттенка практически не происходит [1].

Увеличение pH отбельного раствора приводит к росту расхода активного кислорода: так, при pH = 12, расход активного кислорода на отбелку в два раза выше, чем для pH = 8, что, на наш взгляд, связано с быстрым распадом перекиси водорода в щелочной среде.

Наибольшее снижение интенсивности желтого оттенка образцов МКЦ при отбелке перекисью водорода до требуемых значений происходит при pH отбельного раствора 10–11. Однако значение интенсивности желтого оттенка МКЦ при исходной концентрации активного кислорода 2000 мг/л превышает требуемое значение и составляет более 5 усл. ед. Для снижения показателя были проведены исследования зависимости интенсивности желтого оттенка от концентрации перекиси водорода.

Данные по динамике изменения белизны и интенсивности желтого оттенка образцов МКЦ в зависимости от концентрации перекиси водорода представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Изменения белизны и интенсивности желтого оттенка МКЦ в зависимости от концентрации перекиси водорода (pH = 10–11, *t* = 60 °С, исходная белизна МКЦ – 65 %, время отбелки – 60 мин)

Концентрация АК ($C_{АК}$), мг/л	Расход АК на отбелку, г/кг МКЦ	Белизна (W_C), %	Интенсивность желтого оттенка ($K_ж$), усл. ед
2000	12,2	90,7	3,5
3700	27,0	90,6	2,9
5000	43,1	90,8	3,0

Как видно из данных таблицы 3, стабилизация pH в диапазоне 10–11 и увеличение концентрации активного кислорода до 3700 мг/л позволяют добиться необходимой белизны и интенсивности желтого оттенка МКЦ.

Известно, что скорость химических реакций зависит от температуры процесса. Для определения влияния температуры на процесс отбелки МКЦ были проведены исследования зависимости белизны и интенсивности желтого оттенка МКЦ от температуры отбелки (см. таблицу 4).

Таблица 4 – Изменения белизны и интенсивности желтого оттенка при отбелке МКЦ перекисью водорода при различных температурах (pH = 10, исходная белизна МКЦ – 65 %, исходная концентрация активного кислорода $C_{АК}$ = 2000 мг/л, время отбелки – 60 мин)

Температура отбелки (t), °С	Белизна (W_C), %	Интенсивность желтого оттенка ($K_ж$), усл. ед	Расход АК на отбелку, г/кг МКЦ
60	90,7	3,5	12,2
80	90,3	3,6	13,6
100	90,4	4,2	14,1

Как видно из данных таблицы 4, увеличение температуры отбелки практически не привело к повышению белизны и снижению желтого оттенка МКЦ. В то же время расход активного кислорода при повышении температуры отбелки возрастает, что связано, по нашему мнению, с разложением части перекиси водорода.

В таблице 5 приведены данные по отбелке перекисью водорода МКЦ с различной исходной белизной.

Таблица 5 – Параметры режима отбелки МКЦ с различной исходной белизной перекисью водорода до достижения конечной белизны МКЦ 90 % и интенсивности желтого оттенка не более 3 усл. ед.

Исходная белизна МКЦ,%	PH среды	Т,°С	ГМ	Расход активного кислорода на отбелку МКЦ, г/кг	Расход перекиси водорода(40 % АК) на 1 т МКЦ,кг	Время отбелки,мин
40	10-11	60	10	27,5	69,0	60,0
50				27,2	69,0	60,0
60				27,0	67,7	40,0
70				23,3	58,2	40,0

Показана возможность достижения высокой белизны (не менее 90 %) микрокристаллической целлюлозы, полученной гидролизом газо-воздушной смесью хлористого водорода, при использовании гипохлорита натрия или перекиси водорода в качестве отбеливающих агентов.

Качественная отбелка может быть проведена даже для очень темных образцов МКЦ с исходной белизной около 40 %.

Наибольшей эффективностью отбелки обладает гипохлорит натрия при pH отбельного раствора 2–3 и температуре 20–25 °С.

Перекись водорода позволяет добиться высокой белизны МКЦ при pH 10–11 и температуре 60 °С, однако расход активного кислорода на проведение отбелки более чем в три раза выше в сравнении с расходом активного хлора.

Показано, что красящие вещества МКЦ, полученной методом газофазного гидролиза, состоят из двух хромофорных групп, обесцвечивающихся с различной скоростью. Легкоокисляемая группа компонентов составляет около 90 % общего количества красящих веществ, а трудноокисляемые компоненты составляют около 10 % и определяют интенсивность желтого оттенка МКЦ.

Подобраны режимы проведения отбелки МКЦ с использованием гипохлорита натрия и перекиси водорода с получением образцов, имеющих белизну сравнимую с импортными образцами МКЦ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тамм Л.А., Чистоклетов В.Н., Платонов А.Ю. Теоретические основы химических превращений моносахаридов в процессах ЦБП // Ленинград, 1990. С. 35-36.

2. Байдичева О.В., Хрипушин В.В., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Цветометрия – новый метод контроля качества пищевой продукции // Пищ. пром. 2008. № 5. С. 20–22.

3. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Химическая цветометрия: возможности метода, области применения и перспективы // Т.: Успехи химии, 2001. №5. С. 411 – 428. [Электронный ресурс]. URL: https://www.uspkhim.ru/php/paper_rus.phtml (Дата обращения 16.02.2021)

4. Рудакова Л.В., Шведов Г.И., Васильева А.П., Фисунова М.К., Поплавская Б.В. Цифровые технологии для определения цвета и белизны лекарственных средств // Фармацевтические технологии и упаковка №1. Мед. бизнес, 2012. №2 (215). С. 38 – 40. [Электронный ресурс] URL: http://www.medbusiness.ru/Images/FTU_1-2012_38-40.pdf (Дата обращения 17.02.2021)

5. Хакимова Ф.Х., Ковтун Т.Н. Отбелка целлюлозы // Изд-во Перм. гос. техн. ун-та, 2010. 182 с. [Электронный ресурс]. URL: http://vestnik.pstu.ru/get/_res/fs/file.pdf (Дата обращения 15.02.2021)

6. US Patent WO2016/182867A1 (TAN, Zheng). [Электронный ресурс].
https://patentimages.storage.googleapis.com/86/07/22/63c1359a2073ef/WO2016182867A1.pdf (Дата обращения 16.02.2021)

SUMMARY

RESEARCH OF THE PROCESS OF BLEACHING OF MICROCRYSTALLINE CELLULOSE OBTAINED BY THE GAS-PHASE HYDROLYSIS METHOD

Pimenov S.D., Ph.D. 3 years of study
(ORCID: 0000-0001-6042-0021)
Academic advice: **Sizov A.I.**, Ph.D. Sciences, Associate Professor
(ORCID: 0000-0001-9412-5557)
St. Petersburg State Forestry University
Institutsky Lane, D. 5, St. Petersburg, 194021, Russian Federation
E-mail: chudopim@mail.ru

One of the main consumers of microcrystalline cellulose (MCC) is the pharmaceutical industry, where MCC is used as a binder and filler for direct pressing of tablets.

MCC is obtained by acid hydrolysis of cellulose, while, as a rule, there is a decrease in the whiteness of cellulose. Darkening is associated with the destruction of sugars formed during hydrolysis and the subsequent formation of colored products. The composition and properties of these products depend on the method of cellulose hydrolysis, acid concentration, temperature, and time of the process. The requirements of the pharmaceutical industry determine the need to obtain MCC with high whiteness. Based on this, the purpose of the work was the selection of MCC bleaching modes, using sodium hypochlorite and hydrogen peroxide as bleaching agents. During the study, the MCC obtained by gas-phase hydrolysis of bleached wood pulp was used. The whiteness and the magnitude of the yellow shade of the MCC during the bleaching process was determined by digital colorometry on a flatbed scanner.

Keywords: *bleaching, microcrystalline cellulose, bleaching agents, sodium hypochlorite, hydrogen peroxide.*

REFERENCES

1. Tamm L.A., Chistokletov V.N., Platonov A.Yu. Theoretical foundations of chemical transformations of monosaccharides in the processes of pulp and paper // Leningrad, 1990. P. 35-36.

2. Baidicheva O.V., Khripushin V.V., Rudakova L.V., Rudakov O.B. Colorimetry – a new method of quality control of food products // Pishch. prom. 2008. No. 5. P. 20–22.

3. Ivanov V.M., Kuznetsova O.V. Chemical colorimetry: the possibilities of the method, areas of application and prospects // T.:Uspekhi khimii, 2001. No. 5. P. 411 – 428. [Internet]. URL: https://www.uspkhim.ru/php/paper_rus.phtml (Accessed 02/16/2021)

4. Rudakova L.V., Shvedov G.I., Vasil'eva A.P., Fisunova M.K., Poplavskaya B.V. Digital technologies for determining the color and whiteness of medicines // Pharmaceutical Technologies and Packaging No. 1. Honey. Business. 2012. No. 2 (215). P. 38 – 40. [Internet]. URL: http://www.medbusiness.ru/Images/FTU_1-2012_38-40.pdf (Accessed 17.02.2021)

5. Khakimova F.Kh., Kovtun T.N. Pulp bleaching // Izd. Perm. state tech. un-ta, 2010. 182 p. [Internet]. URL: http://vestnik.pstu.ru/get/_res/fs/file.pdf (Accessed 02/15/2021)

6. US Patent WO2016/182867A1 (TAN, Zheng). [Internet]. https://patentimages.storage.googleapis.com/86/07/22/63c1359a2073ef/WO2016182867A1.pdf (Accessed 02/16/2021).

УДК 615.322

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ОТВАРА КОРНЕЙ ЕЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Попова Е.А., студ. 4 курса
Научные руководители: **Гуляев Д.К.**, к.ф.н., доцент кафедры фармакогнозии;
Бояршинов В.Д., асс. кафедры фармакологии
Пермской государственной фармацевтической академии
614016, Пермь, ул. Полевая, д.2, Российская Федерация
E-mail: popovaekalksvnn@gmail.com

Актуальности исследования заключается в перспективе применения отвара корней ели в качестве лекарственного средства. Проведено исследование острой токсичности и антирадикальной активности отвара корней ели обыкновенной. В ходе исследования установлено, что отвар не токсичен для лабораторных животных и не вызывает изменения в поведении животных. Установлена антирадикальная активность отвара корней ели, но при хранении сырья происходит снижение антирадикальной активности.

Ключевые слова: *корни ели, отвар, острая токсичность, антирадикальная активность, сумма окисляемых веществ.*

Ель обыкновенная – *Picea abies (L. Karst.)* является широко-распространённым древесным растением на территории Пермского края и других регионов Российской Федерации. Древесные отходы хвойных являются источником биологически активных веществ, что обуславливает актуальность исследования. Среди древесных отходов, кроме древесной зелени, коры, шишек, интерес представляет корневая система, которая является отходом лесозаготовок. Корневая система составляет примерно 20-30% от всей суммы древесных отходов и может являться источником биологически активных веществ. Корни ели находятся преимущественно в верхнем слое почвы на глубине 10–20 см, это связано со слабой развитостью стержневого корня, что упрощает заготовку сырья [6].

В результате ранее проведенного исследования установлено, что в сухом водном экстракте корней ели обыкновенной присутствуют флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, фенолкарбоновые кислоты. Из флавоноидов были идентифицированы гиперозид и кверцетин. Среди фенолкарбоновых кислот в водном экстракте корней ели обыкновенной были идентифицированы: бензойная, хлорогеновая, феруловая, кофейная кислоты. В наибольшем количестве в экстракте содержится феруловая кислота [1]. Следует отметить, что феруловая кислота обладает способностью связывать свободные радикалы, а также ингибировать ферменты, которые катализируют образование свободных радикалов [2-4]. В исследовании корейских ученых установлено, что феруловая кислота обладает выраженным антиоксидантным действием, IC_{50} для феруловой кислоты при связывании свободного радикала ДФПГ составляет 41 мкг/мл [3].

Целью исследования являлся анализ отвара корней ели как перспективного лекарственного средства.

Задачами данного исследования являлись:

1.Определение антирадикальной активности отвара корней ели обыкновенной;

2.Определение острой токсичности отвара корней ели;

3.Установление влияния хранения сырья на показатели антирадикальной активности отвара.

В качестве объекта исследования использовали отвар изготовленный согласно ОФС 1.4.1.0018.15. «Настои и отвары» Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания [5]. Сырьем для исследования являлись подземные органы ели обыкновенной – *Picea abies L.* семейство Сосновых – *Pinaceae.* Сырье заготавливали на территории Ильинского района Пермского края в августе 2019 и 2021 года. Проводили заготовку корней диаметром до 2 см. Заготовленное сырье сушили воздушно-теневым способом.

Для определения антирадикальной активности использовали реакцию со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH) (Sigma-Aldrich, США, CAS номер: 1898-66-4). К 1 мл разведения отвара корней ели обыкновенной добавляли 3 мл раствора DPPH в 95% спирте этиловом с концентрацией 5 мг/100 мл. В качестве контрольного образца измеряли оптическую плотность 3 мл раствора DPPH в 95% спирте этиловом с концентрацией 5 мг/100 мл и 1 мл воды очищенной. Измерение проводили на спектрофотометре марки СФ 2000 при 517 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм. Далее вычисляли антирадикальную активность, поглощение свободного радикала по формуле:

процент связывания радикала DPPH = $\frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100$, где

A_0 – оптическая плотность контрольного образца при 517 нм;

A_x – оптическая плотность исследуемого образца при 517 нм.

Определяли величину IC_{50} – концентрацию вещества, в пересчете на сухой остаток отвара, способную связать половинную концентрацию радикала DPPH, мкг/мл. Величина IC_{50} определяется по кривой ингибирования, получаемой при построении графиков ингибирования в процентах от концентрации вещества. В качестве субстанции сравнения использовали отвар плодов шиповника.

Анализ острой токсичности осуществляли в соответствии с методическим руководством [7]. Исследование проводили на белых беспородных мышах обоего пола массой 18-20 г, которых содержали в стандартных условиях вивария с естественным световым режимом, при комнатной температуре, без ограничений с доступом к пище (стандартный, сертифицированный комбикорм в соответствии с действующими нормами) и воде. Содержание животных отвечало тре-

бованиям Приказа Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики» и «Правилам Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986).

Исследование острой токсичности отвара корней ели обыкновенной проводили на белых мышах обоего пола сгруппированных по 6 самцов и 6 самок на каждую дозу (1,5; 2,0; 2,5 г/кг, в пересчёте на сухой остаток). Исследуемый отвар вводили однократно перорально. Общая продолжительность наблюдения за животными составляла 14 дней. Регулярно фиксировались показатели, характеризующие токсическое действие (внешний вид, поведение, симптомы интоксикации, масса тела (ежедневно), суточное потребление корма и воды (ежедневно).

При изучении острой токсичности установлено, что исследуемые дозы 1,5; 2,0; 2,5 г/кг отвара корней ели обыкновенной не привели к гибели животных, что позволяет отнести исследуемые субстанции к малотоксичным веществам. За весь период наблюдения изменений во внешнем виде и поведении не выявлено, статистически значимых изменений в массе тела и количестве потребляемого корма не установлено. Введение отвара в исследуемых дозах привело к достоверному повышению потребления воды. По-видимому, данный эффект связан с повышением диуреза у исследуемых животных. Полученные в результате исследования данные свидетельствуют о безопасности отвара корней ели обыкновенной.

Следующим этапом работы было исследование антирадикальной активности отвара корней ели. Исследование антирадикальной активности является актуальным, поскольку свободно-радикальный механизм присутствует в картине многих распространенных заболеваний. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Антирадикальная активность отвара корней ели

Исследуемый объект	Антирадикальная активность IC_{50} мкг/мл
Отвар корней ели (сырье текущего года)	34,18±5,21*
Отвар корней ели (хранение сырья 2 года)	170,36±36,90
Отвар плодов шиповника	76,75±14,62

* $p<0,05$ в сравнении с препаратом сравнения (отвар плодов шиповника)

По результатам проведенного исследования видно, что отвар корней ели проявляет выраженную антирадикальную активность. Антирадикальная активность отвара корней ели, приготовленного из свежего сырья достоверно превышает активность препарата сравнения, в качестве которого выступал отвар плодов шиповника. Также установлено, что длительное хранение сырья снижает его антирадикальную активность приблизительно в 5 раз. Снижение антирадикальной активности корней ели при хранении говорит о изменениях в содержании основных групп биологически активных веществ.

Далее нами проведено определение содержания суммы окисляемых веществ перманганатометрическим методом. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Определение суммы окисляемых веществ в корнях ели обыкновенной

Образец	Содержание суммы окисляемых веществ, %
Корни ели (сырье текущего года)	6,86±0,16
Корни ели (хранение сырья 2 года)	4,03±0,1

Как указано в таблице 2, при хранении корней ели обыкновенной происходит уменьшение содержания суммы окисляемых веществ. При хранении сырья в течение двух лет содержание суммы окисляемых веществ уменьшилось в 1,7 раза, по сравнению с содержанием в сырье текущего года

В ходе исследования установлено, что отвар корней ели не вызывает токсических эффектов при введении лабораторным животным в максимально введенной дозе 2,5 г/кг. Полученные в результате исследования данные свидетельствуют о безопасности отвара корней ели обыкновенной. Отвар проявляет выраженную антирадикальную активность, которая достоверно превышает активность отвара плодов шиповника. Однако, при хранении сырья происходит снижение антирадикальной активности отвара корней ели обыкновенной, что может быть связано с уменьшением содержания суммы окисляемых веществ.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.31 Фармакогнозия

ЛИТЕРАТУРА

1. Состав и антиоксидантная активность экстракта корней ели обыкновенной / Д.К. Гуляев [и др.] // Химия растительного сырья. 2020. N 4. С. 195–202. DOI: 10.14258/jcprm.2020047676.

2. Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application/ K. Zduńska [et al.] // Skin pharmacology and physiology. 2018. N 31. P. 332–336. doi: 10.1159/000491755.

3. Simultaneous determination of the traditional herbal formula Ukgansan and the in vitro antioxidant activity of ferulic acid as an active compound / Y. J. Kim. [et al.] // Molecules. 2018. Vol. 23(7). P. 1659-1674. doi:10.3390/molecules23071659.

4. Anti-apoptotic activity of caeic acid, ellagic acid and ferulic acid in normal human peripheral blood mononuclear cells: aBcl-2independent mechanism / K.L. Khanduja [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta (BBA). 2006. N 2. P. 283–289. doi: 10.1016/j.bbagen.2005.12.017.

5. Настои и отвары. ОФС 1.4.1.0018.15. // Государственная Фармакопея Российской Федерации. 14 изл. Т. 2. 2018 [Электронный ресурс]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/147/

6. Чиндяев А.С., Порошилов А.В. Особенности распределения корней picea obovata на осушенных низинных болотах среднего Урала // Лесной вестник. 2007. N 8. С. 91–94.

SUMMARY

THE STUDY OF ACUTE TOXICITY AND ANTIRADICAL ACTIVITY OF A DECOCTION OF THE ROOTS OF COMMON SPRUCE

Popova E.A., 4th year student
Academic advise: **Gulyaev D.K.,** Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Associate Professor of the Department of Pharmacognosy;
Boyarshinov V.D., ass. Department of Pharmacology
Perm State Pharmaceutical Academy
614016, Perm, 2, st. Polevaya, Russian Federation
Email: popovaekalksvnn@gmail.com

Annotation. The relevance of the study lies in the prospect of using a decoction of spruce roots as a medicine. A study of acute toxicity and antiradical activity of a decoction of spruce roots was carried out. The study found that the decoction is not toxic to laboratory animals and does not cause changes in the behavior of animals. The antiradical activity of a decoction of spruce roots was established, but during storage of raw materials, a decrease in antiradical activity occurs.

Keywords: *spruce roots, decoction, acute toxicity, antiradical activity, total oxidizable substances.*

REFERENCES

1. Composition and antioxidant activity of the extract of common spruce roots / D.K. Gulyaev [et al.] // Chemistry of vegetable raw materials. 2020. N 4. P. 195–202. DOI: 10.14258/jcprm.2020047676. (In Russian)

2. Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application/ K. Zduńska [et al.] // Skin pharmacology and physiology. 2018. N 31. P. 332–336. doi: 10.1159/000491755.

3. Simultaneous determination of the traditional herbal formula Ukgansan and the in vitro antioxidant activity of ferulic acid as an active compound / Y. J. Kim. [et al.] // Molecules. 2018. Vol. 23(7). P. 1659-1674. doi:10.3390/molecules23071659.

4. Anti-apoptotic activity of caeic acid, ellagic acid and ferulic acid in normal human peripheral blood mononuclear cells: aBcl-2independent mechanism / K.L. Khanduja [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta (BBA). 2006. N 2. P. 283–289. doi: 10.1016/j.bbagen.2005.12.017.

5. Infusions and decoctions. OFS 1.4.1.0018.15. // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14 ed. Vol. 2. 2018. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/147/ (In Russian)

6. Chindyaev A.S., Poroshilov A.V. Peculiarities of the distribution of picea obovata roots on drained lowland bogs of the Middle Urals // Lesnoy vestnik. 2007. N 8. P. 91–94. (In Russian)

УДК 544.77+544.35

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕЛЕОБРАЗОВАНИЯ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ КРАХМАЛА

Пушкарева А.К., студ. 2 курса
Научный руководитель: **Павлова Е.Ю.**, доцент, к.х.н.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: alisa.pushkareva@spcpu.ru

Изучены реологические свойства водных растворов крахмала в зависимости от его концентрации. Установлено, что в исследуемой области концентраций водные дисперсии крахмала представляют собой гели, обладающими тиксотропными свойствами.

Ключевые слова: *реологические свойства, тиксотропия, гель, крахмал.*

На сегодняшний день мягкие лекарственные формы приобретают все более актуальное значение в сфере фармацевтики [1,2]. Реологические свойства мазей, кремов обеспечивают в значительной степени легкость нанесения и равно-

мерное распределение их на коже или слизистой оболочке, стабильность при хранении и применении [3,4]. Изучение реологических свойств гелей на основе крахмала представляют интерес как для фармацевтики, так и для косметологии.

Крахмал $(C_6H_{10}O_5)_n$ – это полисахаридные вещества, сложные углеводы, содержащиеся в клеточных мембранах растений. Он присутствует в клубневых, корнеплодах, моркови, гречихе, в некоторых фруктах и даже листьях. В качестве основных источников крахмала используются картофель, пшеницу, кукурузу, рис, злаковые. Благодаря богатому составу крахмал стал одним из компонентов косметических средств. Это питательное вещество, которое стимулирует метаболизм, защищает от старения и помогает сохранить молодость кожи. Также это вещество помогает выводить излишки воды из организма, позволяет ему эффективнее бороться с воспалительными процессами и поддерживать иммунитет, улучшает обмен веществ и пищеварительные процессы, снижает риск появления язвенных заболеваний.

Под воздействием крахмала разглаживаются морщинки, кожа приходит в тонус, проходят воспалительные процессы, нормализуется работа сальных желез. В клетках эпидермиса активизируется процесс регенерации, кожа дольше остается молодой и здоровой. Эффективность маски обусловлена составом крахмала, в который входят: витамины группы В, витамин С, витамин РР, железо и кальций.

Цели работы:

- Определить вязкость для растворов различной концентрации при комнатной температуре.
- Исследовать зависимость вязкости гелей от приложенной нагрузки.
- Определить, являются ли исследуемые системы неньютоновскими жидкостями.
- Выяснить, обладают ли данные растворы тиксотропными свойствами.

Основная задача работы состояла в изучении реологических свойств гелей при разном содержании крахмала.

В данной работе использовали крахмал марки экстра, ГОСТ 7699. Он представляет собой белый, легкий, пушистый, мелкий порошок без запаха и вкуса, гигроскопичный;

Исследовались водные растворы (объёмом 100мл) с содержанием крахмала соответственно 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 и 0,5; 0,7 и 1,0 гр.

Для приготовления геля рассчитанную навеску крахмала помещали в определенную колбу, добавляли заданное количество воды, далее нагревали, при этом перемешивая растворы, до получения однородного прозрачного геля.

После приготовления растворов были произведены измерения концентрации на

МТ-202 (вискозиметр Брукфельда) при температуре 20-25°С. На основании результатов был составлены графики.

На рисунке 1 представлен график зависимости вязкости водных дисперсий крахмала от концентрации крахмала. Видно, что с ростом концентрации крахмала вязкость возрастает нелинейно, что свидетельствует о неньютоновской природе водных дисперсий крахмала в исследуемой области концентраций.

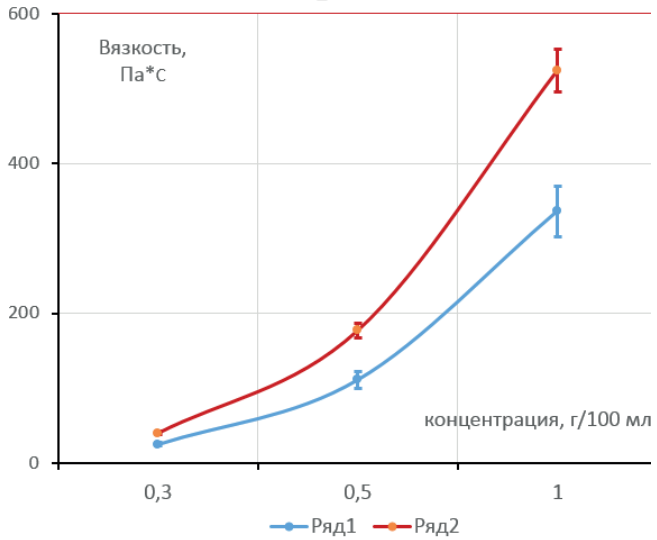


Рисунок 1. Зависимость вязкости водных дисперсий от концентрации крахмала:
ряд 2 при скорости оборотов ротора 12 об/с – исходные измерения, ряд 1 – измерения проведены после частичного разрушения структуры дисперсии при более высоких оборотах ротора

На рисунке 2 представлены результаты измерения вязкости дисперсий крахмала в зависимости от скорости вращения ротора вискозиметра. Видно, что при всех концентрациях крахмала в дисперсиях с ростом скорости вращения ротора вискозиметра вязкость уменьшается вследствие разрушения структуры геля.

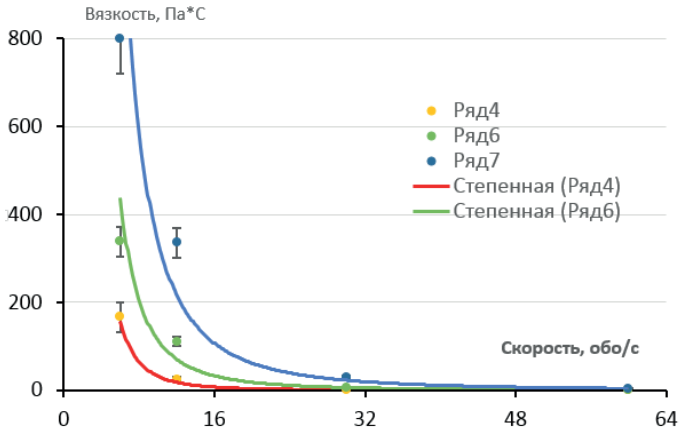


Рисунок 2. Зависимость вязкости водных дисперсий крахмала от скорости вращения ротора вискозиметра:
ряд 4 – 0,3 г/100 мл; ряд 6 – 0,5 г/100 мл; ряд 7 – 1,0 г/100 мл

На рис. 3 представлена кривая зависимости вязкости от скорости вращения ротора вискозиметра при увеличении скорости вращения (ряд 5) и при уменьшении скорости вращения ротора (ряд 7). Видно, что с ростом скорости вращения вязкость уменьшается вследствие разрушения структуры геля. При возрастании скорости вращения ротора (обратный ход измерений) вязкость возрастает вследствие восстановления структуры геля, что свидетельствует о тиксотропных свойствах водной дисперсии крахмала. Кривая вязкости при уменьшении скорости вращения идёт ниже, че при увеличении скорости вращения ротора, так как полное восстановление структуры геля происходит через некоторое время.

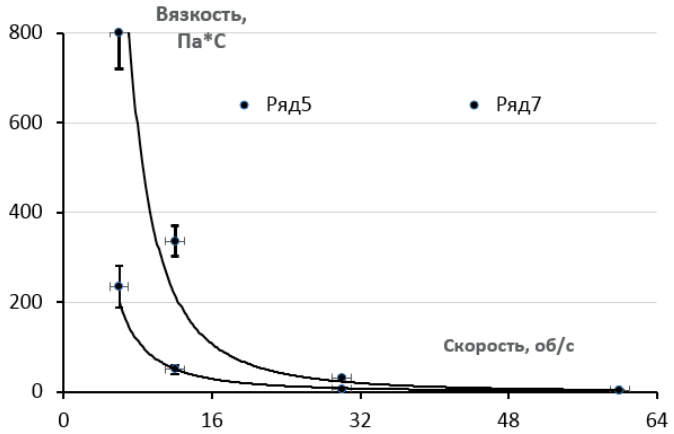


Рисунок 3. Зависимость вязкость геля крахмала от скорости вращения для геля с концентрацией крахмала – 1,0 г/мл:
ряд 5 – соответствует возрастанию скорости вращения ротора,
ряд 7 – уменьшению скорости вращения ротора после достижения максимальной скорости

Изучены реологические свойства водных растворов крахмала в зависимости от его концентрации. Установлено, что в исследуемой области концентраций водные дисперсии крахмала относятся к неньютоновским жидкостям и представляют собой гели, обладающими тиксотропными свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Космецевтика / под ред. З.Д. Дрелос. М.: Рид Элсивер, 2010. 264 с.

2. Лянунощ Н.А. Создание мягких лекарственных средств различных основах, Сообщение 2 : Исследование реологических свойств гелей. образованных карбомерами // Фармаком. 2001. N 2. С. 52-61.

3. Васильева П.А., Дмитриева И.Б., Буракова М.А. Реологические свойства гелей на основе карбопола// Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». СПб: СПХФА, 2018. С. 574-577.

4. Исследование реологических свойств гелей, образованных карбомерами / Н. А. Ляпунов, Н. В. Воловик // Фармаком. 2001. № 2.

SUMMARY

MEASURING THE VISCOSITY OF STARCH GELS WITH VARIATION THEIR CONCENTRATIONS

Pushkareva A.K., 2nd year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: alisa.pushkareva@spcpu.ru

Rheological properties of aqueous starch solutions depending on its concentration have been studied. It was found that in the studied concentration range, aqueous starch dispersions are gels with thixotropic properties.

Keywords: *rheological properties, thixotropy, gel, starch.*

REFERENCES

1. Cosmeceutics / Z.D. Drelos ed. Moscow: Reed Elsiver, 2010. 264 p.
2. Lyapunov N. A. Creation of soft medicines on various bases. Message
3. Vasilyeva P.A., Dmitrieva I.B., Burakova M.A., Rheological properties of carbopol-based gels // All-russian scientific conference of students and postgraduates with international participation «Young pharmacy - the potential of the future». St. Petersburg: SPCPA, 2018. P. 574-577.
4. Investigation of rheological properties of gels formed by carbomers / N. A. Lyapunov, N. V. Volovik // Pharmakom. 2001. № 2.

УДК 615.074

ПРОБЛЕМАТИКА ПОДХОДА К АНАЛИЗУ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Русакова А.Д., студ. 5 курса
Научный руководитель: **Ильина Т.Ю.**, к.фарм.н., доцент, **Тихонова В.В.**, ассистент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: rusakova.anastasiya@pharminnotech.com

На сегодняшний день не существует единого подхода к оценке качества готовых лекарственных препаратов, содержащих ферменты, что обусловлено особенностями их строения, физико-химическими свойствами и субстратной специфичностью. В анализе ферментов широкое применение нашли физико-химические методы: спектральные и хроматографические, используемые одновременно как для подтверждения подлинности, так и количественного определения. С целью сокращения длительности пробоподготовки и анализа в целом было предложено оценить возможности спектроскопии комбинационного рассеивания для идентификации лекарственных препаратов, действующим веществом которых является панкреатин.

Ключевые слова: *фермент, панкреатин, анализ, идентификация, комбинационное рассеивание.*

Панкреатические ферменты являются единственно возможным методом коррекции экзокринной недостаточности поджелудочной железы. Кроме того, с каждым годом наблюдается растущая потребность в данных препаратах, что подтверждается динамичным ростом продаж в стоимостном выражении, в связи с чем актуально своевременное выявление недоброкачественных лекарственных средств.

В настоящее время наиболее хорошо изученными являются хроматографические и спектральные методы анализа ферментов. Методы являются чувствительными, специфичными, однако для проведения таких анализов требуется дорогостоящее оборудование и специально обученный персонал. Более того, подготовка образцов для проведения анализа данными методами весьма трудоемка, что связано с чувствительностью ферментов к определенной среде и температуре, что в свою очередь создает необходимость тщательного соблюдения режима проведения анализа, поскольку отклонение от требуемых показателей приводит к быстрой инактивации субстанций и к искажению результатов проводимого испытания.

Метод спектроскопии комбинационного рассеивания (КР), или рамановской спектрометрии, дает возможность получить индивидуальный спектральный отпечаток, уникальный для каждой молекулы. Спектроскопия КР не требует специальной пробоподготовки и позволяет проводить исследования в твердых, жидких и газообразных средах, в том числе, через прозрачные материалы: пластмассу, стекло или кварц, что вызывает интерес для быстрой идентификации активных фармацевтических субстанций (АФС) в лекарственных препаратах.

Панкреатин представляет собой совокупность ферментов различной активности: амилазы, липазы и протеаз – трипсина и химотрипсина. Кроме того, следует отметить, что ферменты даже в одном классе обладают низкой идентичностью аминокислотных последовательностей, что вызывает затруднения как в их совместной, так и индивидуальной идентификации.

Так, протеазы, связанные с химотрипсином, образующие клан PA, являющиеся самой большой группой протеаз с общим происхождением, идентифицированным структурной гомологией, имеют общее структурное ядро из 72 ами-

нокислотных остатков, однако различаются в остальной аминокислотной последовательности [1]. Schilling O, Biniossek ML и соавт. было описано, что для людей характерно три изофермента трипсина, отличающихся друг от друга функциональностью [2]. Напротив, как отмечает Palmer, T. с соавторами, большинство аминокислотных остатков в протеазах схожи, и, несмотря на то что 40% первичной структуры ферментов различны, третичная структура ферментов практически идентична [3].

В работе Н.Н. Брандта отмечено, что вторичной структурой белка определяются полосы амид I (1640-1660 см$^{-1}$) и амид III (1200-1240 см$^{-1}$). Структура дисульфидных мостиков отражается относительной интенсивностью полос при 510, 525 и 540 см$^{-1}$. Авторами отмечено, что полоса триптофана имеет интенсивность полос при 1361 см$^{-1}$, а тирозиновый дуплет – при 830 и 850 см$^{-1}$ [4].

В более ранних исследованиях альфа-химотрипсина, проводимых K.G.Brown, S.C.Erfurth и соавторами, было установлено, что в некоторых распространенных белках существуют низкочастотные движения, чувствительные к собственной конформации молекул. В данной работе был отмечен выраженный пик молекулы альфа-химотрипсина при частоте 29 см$^{-1}$, однако, как отмечено авторами, данный пик исчезает при денатурации фермента [5].

На современном фармацевтическом рынке препараты панкреатина представлены в основном в твердых лекарственных формах – таблетках и капсулах, несильно различающихся по количеству субстанции, но заметно – по заявленной амилолитической, липолитической и протеолитической активности. Помимо монопрепаратов, на рынке существует 5 комбинаций, 4 из которых дополнительно содержат компоненты желчи и гемицеллюлазу и 1 – диметикон, что может накладывать свой отпечаток на спектре и затруднять идентификацию. Таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, и капсулы содержат разнообразные вспомогательные вещества, включая полимеры, что в свою очередь будет изменять общий вид спектра, что может препятствовать обнаружению активной субстанции.

В связи со всем вышесказанным была поставлена цель посмотреть влияние времени записи спектра на итоговый результат и упаковки анализируемого лекарственного препарата. Для реализации установленной цели были поставлены следующие задачи: снять спектры с таблетки лекарственного препарата Мезим® форте с разным временем анализа, а также таблетки, заключенной в первичную упаковку; рассмотреть различия в спектрах при их снятии с готовой лекарственной формы и лекарственного препарата, заключенного в первичную упаковку.

Спектры КР записывали при помощи системы аналитической комбинационного рассеяния света OPTEC-785TRS2700. Максимальная мощность лазерного излучения 100 мВт, спектральный диапазон (-200 см$^{-1}$ – 2700 см$^{-1}$). Пробоподготовка не проводилась. Продолжительность воздействия лазерного излучения подбирали индивидуально в зависимости от интенсивности получаемого рамановского сигнала. Последовательно записывали 3 спектра комбинационного рассеяния, представленные в работе спектры являются автоматически усредненными. Обработку записанных рамановских спектров проводили при помощи специализированного программного обеспечения «BWSpec 4.10_4». Интерпретацию спектральных данных осуществляли визуальным методом. Объектом исследования был выбран Мезим® форте производства Берлин-Хеми АГ, Германия.

Запись спектров лекарственного препарата Мезим® форте производилась при разном времени записи (60с, 40с, 20с, 10с, 5с, 1с). Спектр, записанный за 1с, имеет общий вид, не дающий представления об индивидуальных пиках конкретного объекта (рис. 1). Наиболее информативными являются спектры при времени записи в 20с и более, поскольку отражаются дополнительные пики анализируемого образца (рис. 2. и рис. 3).

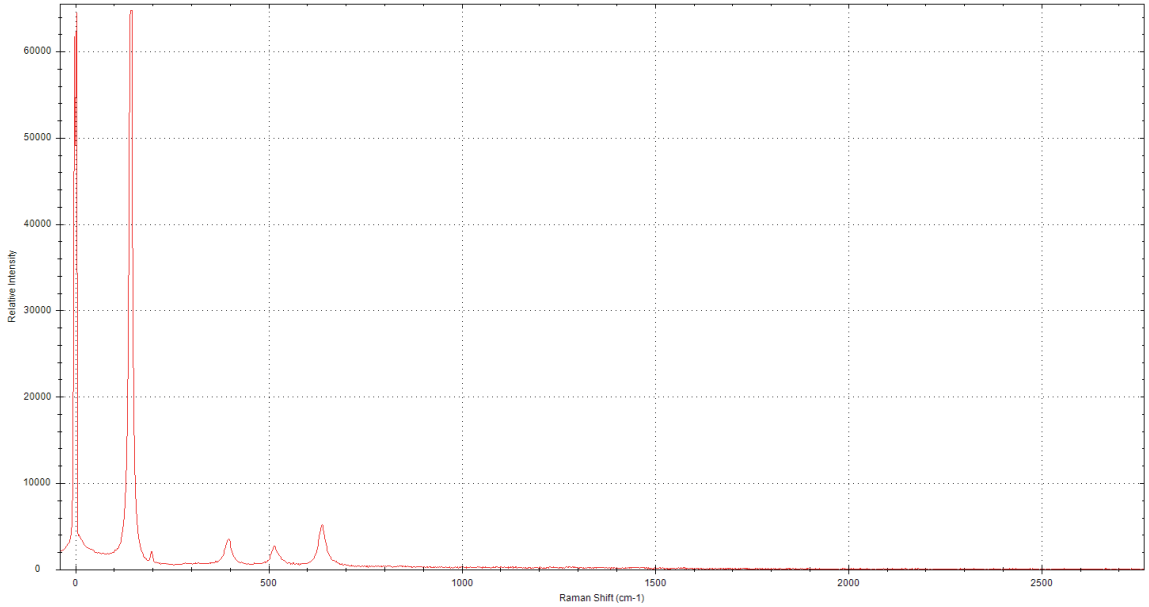


Рисунок 1. Спектр таблетки Мезим® форте (1с)

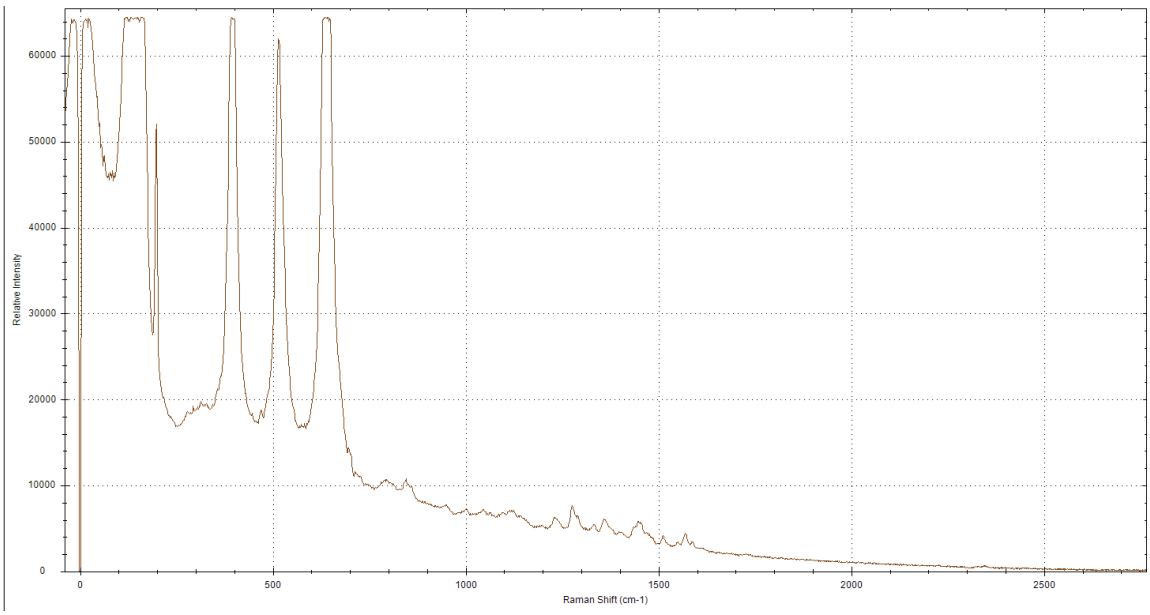


Рисунок 2. Спектр таблетки Мезим® форте (20с)

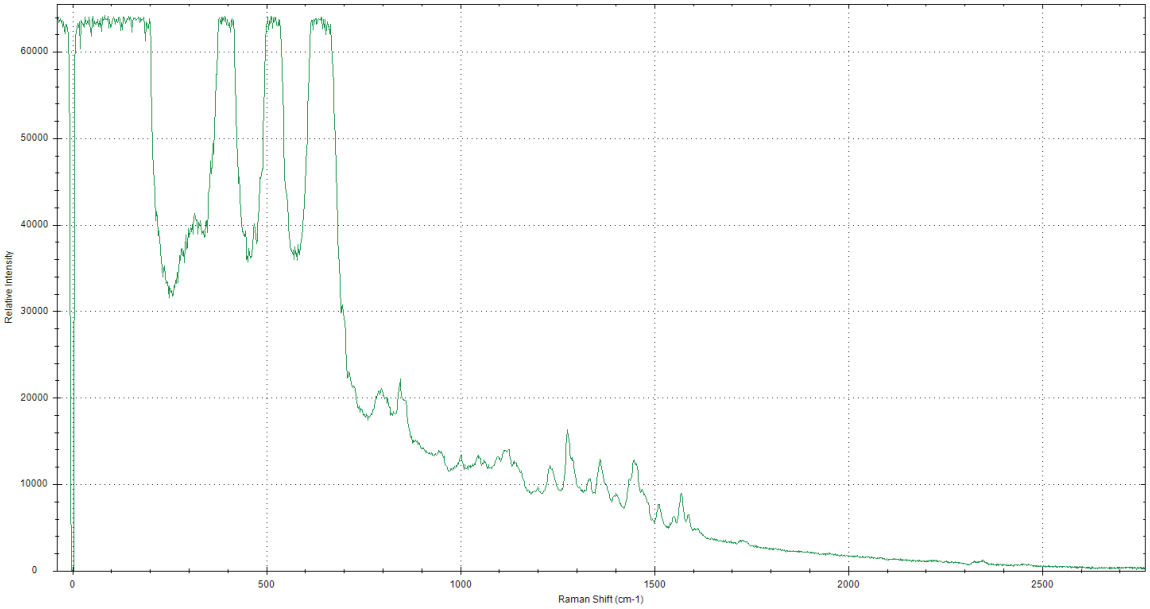


Рисунок 3. Спектр таблетки Мезим® форте (60с)

Первичная упаковка лекарственного препарата Мезим® форте представлена в виде блистера из прозрачной пленки поливинилхлорида (ПВХ) с одной стороны и алюминиевой фольги – с другой. Так же, как и при снятии спектра с освобожденной от упаковки таблетки, при записи спектра лекарственного препарата через первичную упаковку была рассмотрена различная длительность (60с, 40с, 20с, 5с, 1с). Наибольшая информативность спектров наблюдается при времени записи в 40с и более (рис. 4).

Спектр, снятый с отдельной таблетки, и спектр, записанный через прозрачную ПВХ пленку, идентичны, что подтверждает прозрачность пластика для спектроскопии КР и предоставляет возможность для попытки идентифицировать лекарственное средство без вскрытия упаковки.

При записи спектра через алюминиевую фольгу было установлено, что данный материал поглощает воздействие лазера и не позволяет выявить никаких пиков, характерных для данного объекта (рис. 5).

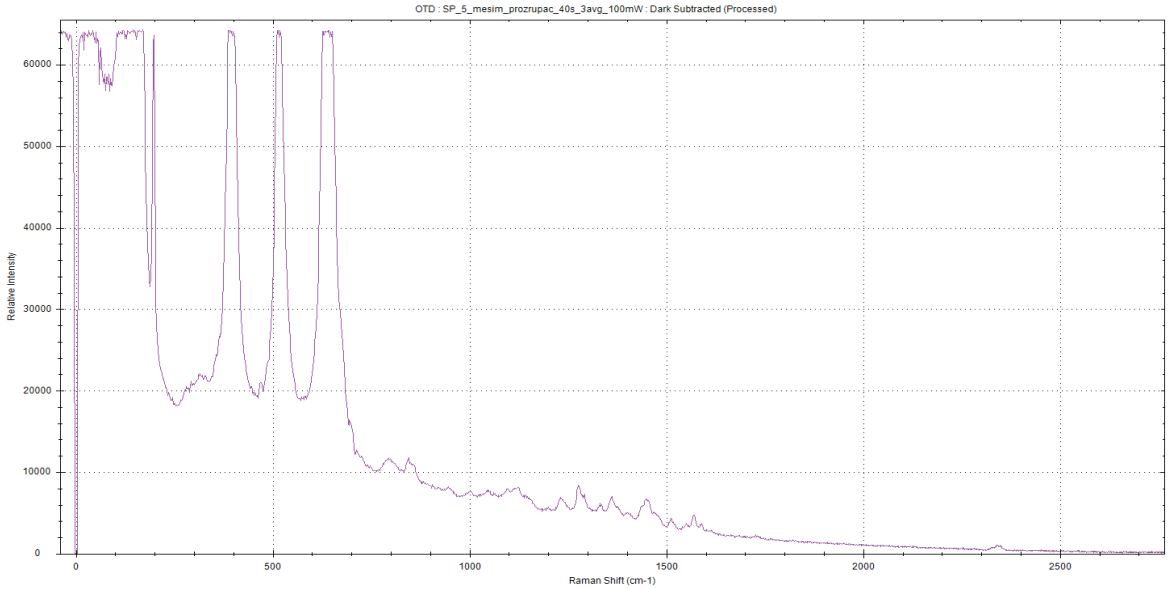


Рисунок 4. Спектр таблетки Мезим® форте через прозрачную ПВХ пленку (40с)

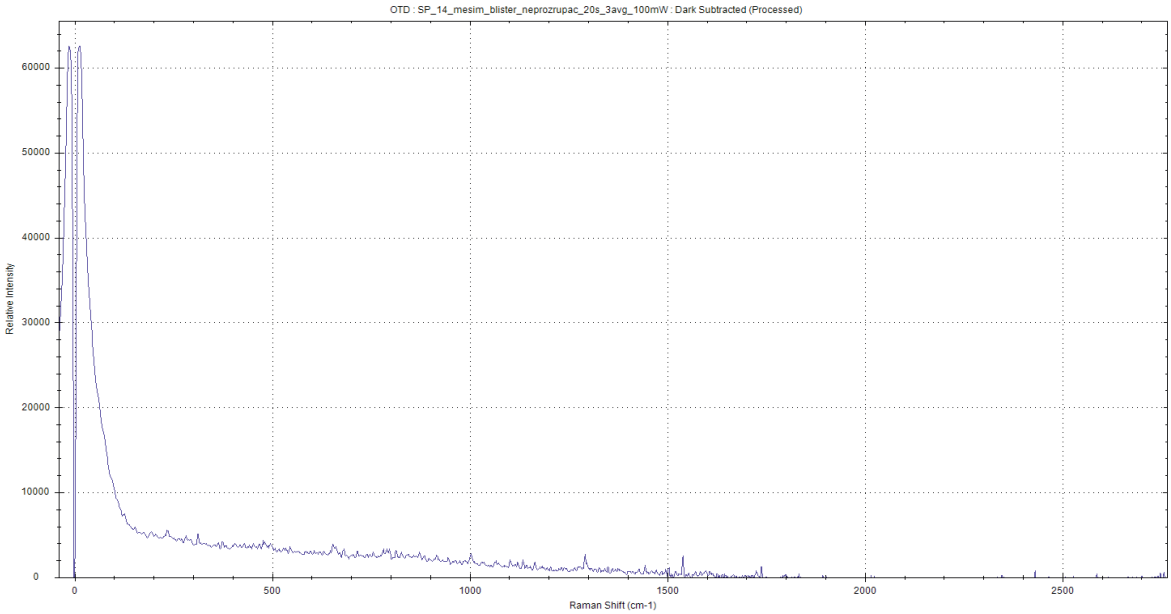


Рисунок 5. Спектр таблетки Мезим® форте через алюминиевую фольгу (60с)

Исходя из результатов можно отметить, что таблетки Мезим® форте имеют свой характерный спектр, который не изменяется при записи его как со свободной от упаковки таблетки, так и с таблетки, заключенной в первичную упаковку. Отображение спектра зависит от времени его записи. Наиболее информативными являются спектры, записанные в течение 60с. Появление дополнительных пиков при большей продолжительности анализа позволяет предположить сигналы, характерные для данного объекта исследования.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

ЛИТЕРАТУРА

1. Mönttinen H.A.M., Ravantti J.J., Poranen M.M. Structural comparison strengthens the higher-order classification of proteases related to chymotrypsin // PLoS One. 2019. Vol. 14(5). P. e0216659. DOI: 10.1371/journal.pone.0216659

2. Specificity profiling of human trypsin-isoenzymes / O. Schilling [et al.] / Biol Chem. 2018. Vol. 399(9). P. 997-1007. DOI: 10.1515/hsz-2018-0107

3. Palmer T., Bonner P. L. Monomeric and Oligomeric Enzymes // Enzymes. Second ed. Biochemistry. Biotechnology. Clinical Chemistry. 2011. P. 76-83 DOI:10.1533/9780857099921.1.76

4. Брандт Н.Н., Сакодынская И.К., Чикишев А.Ю. Исследование взаимодействия α-химотрипсина с 18-краун-6-эфиром в органических растворителях методом спектроскопии комбинационного рассеяния// Журнал физической химии. 2001. Т. 75. N 6. С. 1033-1038.

5. Conformationally Dependent Low-Frequency Motions of Proteins by Laser Raman Spectroscopy / K.G. Brown [et al.] // Proceedings of the national academy of sciences. 1972. Vol. 69(6). P. 1467-9 DOI: 10.1073/pnas.69.6.1467

SUMMARY

PROBLEMS OF THE APPROACH TO THE ANALYSIS OF ENZYME PREPARATIONS

Rusakova A.D., stud. 5 courses
Scientific adviser**:: Ilyina T.Yu.**, Ph.D., Assoc. professor
Tikhonova V.V., assistant professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: rusakova.anastasiya@pharminnotech.com

Nowadays there is no single approach to assessing the quality of formulations containing enzymes. It could be explained peculiarities of their structure, physico-chemical properties and substrate specificity. In the analysis of enzymes physicochemical methods have been widely used: spectral and chromatographic, used simultaneously both for authentication and quantitative determination. In order to reduce the duration of sample preparation and analysis in general, it was proposed to evaluate the possibilities of Raman spectroscopy for the identification of drugs whose active ingredient is pancreatin.

Keywords: *enzyme, pancreatin, analysis, identification, raman scattering.*

REFERENCES

1. Mönttinen H.A.M., Ravantti J.J., Poranen M.M. Structural comparison strengthens the higher-order classification of proteases related to chymotrypsin // PLoS One. 2019. Vol. 14(5). P. e0216659. DOI: 10.1371/journal.pone.0216659

2. Specificity profiling of human trypsin-isoenzymes / O. Schilling [et al.] / Biol Chem. 2018. Vol. 399(9). P. 997-1007. DOI: 10.1515/hsz-2018-0107

3. Palmer T., Bonner P. L. Monomeric and Oligomeric Enzymes // Enzymes. Second ed. Biochemistry. Biotechnology. Clinical Chemistry. 2011. P. 76-83 DOI:10.1533/9780857099921.1.76

4. Brandt N.N., Sakodynskaya I.K., Chikishev A.Yu. A Study of interaction between α-chymotrypsin and 18-crown-6 in organic solvents by raman spectroscopy // Russian Journal of Physical Chemistry A. 2001. Vol. 75(6). P. 928-932. (in Russian)

5. Conformationally Dependent Low-Frequency Motions of Proteins by Laser Raman Spectroscopy / K.G. Brown [et al.] // Proceedings of the national academy of sciences. 1972. Vol. 69(6). P. 1467-9 DOI: 10.1073/pnas.69.6.1467

УДК 615.454.1:615.07

СРАВНЕНИЕ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТИЛСАЛИЦИЛАТА В МАЗИ

Сабирова Д.А., студ. 5 курс
Научный руководитель: **Пивовар М.Л.**, к.ф.н., доцент, **Сабодина М.Н.**, к.х.н.
Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
210009, г. Витебск, проспект Фрунзе, дом 27, Республика Беларусь
E-mail: sabirovadiana21@gmail.com

В работе рассматриваются методики количественного определения метилсалицилата в мягкой лекарственной форме (мази), основанные на обратном кислотно-основном титровании и на реакционной спектрометрии. Для методик рассчитаны основные метрологические характеристики. Рассмотрены их преимущества и недостатки.

Ключевые слова: *метилсалицилат, мягкая лекарственная форма, мазь, обратное титрование, реакционная спектрометрия.*

Для количественного определения метилсалицилата применяют титриметриметрические методы анализа, газовую хроматографию, жидкостную хроматорафию, спектроскопию в ультрафиолетовой и видимой областях. Газовая и жидкостная хроматография требуют сложного и дорогостоящего оборудования. Их применение целесообразно для многокомпонентных лекарственных препаратов. В то же время, титриметрические и спектрометрические методы анализа в настоящее время доступны для большинства лабораторий. Актуальным является сравнение методик количественного определения, основанных на указанных методах, что позволит аналитику подобрать оптимальную методику, доступную по оборудованию, реактивам, суммарно затраченному времени на анализ, получаемым метрологическим и другим характеристикам.

Цель исследования: сравнить методики количественного определения метилсалицилата, основанные на обратном кислотно-основном титровании и реакционной спектрометрии.

Задачи.

1. Разработать титриметрическую и спектрометрическую методики количественного определения метилсалицилата в мягкой лекарственной форме (мази).

2. Рассчитать метрологические характеристики полученных методик.

3. Оценить преимущества и недостатки предложенных вариантов количественного определения метилсалицилата в мази.

В данной работе использовали фармацевтическую субстанцию метилсалицилата, ветеринарный препарат (состав: камфора, метилсалицилат и вазелин), фенолфталеина раствор Р1, 0,1 моль/литр раствор натрия гидроксида, 0,1 моль/литр раствор хлористоводородной кислоты, рабочий образец натрия карбоната, раствор метилового оранжевого Р [1], прибор для измерения температуры и влажности ПИ 002/1, весы электронные RV 3102, весы электронные AS 60\220\C\2\N, плитку электрическую ПЭН с 1001-05, секундомер механический СОП пр. 2а-3-000, спектрофотометр Specord 250.

Методика, основанная на обратном кислотно-основном титровании:

1,0 г препарата помещали в коническую колбу объемом 100 мл, прибавляли 25,0 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение часа. После охлаждения избыток щелочи оттитровывали 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты. В качестве индикатора использовали 0,4 мл раствора фенолфталеина Р1.

Параллельно проводили контрольный опыт. В коническую колбу объемом 100 мл, помещали 1 г воды Р прибавляли 25,0 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение часа. После охлаждения избыток щелочи оттитровывали 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты в присутствии 0,4 мл раствора фенолфталеина Р1.

Методика определения молярного коэффициента поглощения комплекса салицилат иона и железа (III):

Точную навеску фармацевтической субстанции метилсалицилата 0,1 г помещали в коническую колбу, прибавляли 25 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 1 часа. Полученный раствор охлаждали, переносили количественно в мерную колбу объёмом 100,0 мл. Доводили до метки дистиллированной водой. Аликвоты объемом 2,00 мл, 2,25 мл, 2,50 мл, 2,75 мл и 3,00 мл, переносили в мерные колбы на 25,0 мл, прибавляли 1 каплю раствора хлористоводородной кислоты Р1 и 1,00 мл 10 % раствора железа (III) хлорида. Доводили до метки дистиллированной водой. Измеряли оптическую плотность при длине волны 528 нм.

Компенсационный раствор. В мерную колбу на 25,0 мл прибавляли 1 каплю раствора хлористоводородной кислоты Р1 и 1,00 мл 10 % раствора железа (III) хлорида. Доводили до метки дистиллированной водой.

Методика количественного определения метилсалицилата, основанная на реакционной спектроскопии:

Точную навеску препарата 2,5 г помещали в коническую колбу, прибавляли 25,0 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 1 часа. Полученную двухфазную систему охлаждали, отбирали аликвоту 3,00 мл и переносили в мерную колбу объёмом 100,0 мл. В мерную колбу добавляли около 80 мл дистиллированной воды, 3 капли раствора хлористоводородной кислоты Р1, 1,00 мл 10 % раствора железа (III) хлорида, доводили до метки дистиллированной водой. Измеряли оптическую плотность при длине волны 528 нм.

В качестве плацебо использовали смесь, состоящую из точных навесок фармацевтических субстанций камфоры (0,125 г) и вазелина (2,325 г).

Для оценки правильности аналитических методик использовали модельную смесь, состоявшую из точных навесок фармацевтической субстанции метилсалицилата (0,05 г), камфоры (0,125 г) и вазелина (2,325 г). Содержание метилсалицилата в готовой смеси составляло 2,0 %.

Для изготовления стандартного раствора точную навеску 0,05 г фармацевтической субстанции метилсалицилата помещали в коническую колбу, прибавляли 25,0 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 1 часа. Полученный раствор охлаждали, отбирали аликвоту 3,00 мл и переносили в мерную колбу объёмом 100,0 мл. В мерную колбу добавляли около 80 мл дистиллированной воды, 3 капли раствора хлористоводородной кислоты Р1, 1,00 мл 10 % раствора железа (III) хлорида, доводили до метки дистиллированной водой. Измеряли оптическую плотность при длине волны 528 нм.

Компенсационный раствор. В коническую колбу объёмом 100,0 мл добавляли около 80 мл дистиллированной воды, 3 капли раствора хлористоводородной кислоты Р1, 1,00 мл 10 % раствора железа (III) хлорида, доводили до метки дистиллированной водой.

Результаты и обсуждения.

Метилсалицилат не может быть определен путем прямого кислотно-основного титрования, так как карбоксильная группа в молекуле занята для образования сложноэфирной связи и реакция гидролиза протекает медленно, а кислотные свойства фенольного гидроксила слишком слабы для прямого кислотно-основного титрования (pK_a = 9,8) [2]. Поэтому, согласно литературным данным [3], основным методом количественного определения метилсалицилата является обратное кислотно-основное титрование.

При выполнении работы нами была адаптирована методика количественного определения метилсалицилата (Фармакопейная статья: «Левоментол+Метилсалицилат, мазь для_наружного_применения»; Министерство здравоохранения российской федерации), основанная на обратном кислотно-основном титровании, для анализа образцов мази, содержащей метилсалицилат, камфору и вазелин [4]. Использованная в данной работе методика представлена в разделе «Материалы и методы исследования».

Полученная методика количественного определения была валидирована по следующим параметрам: правильность, прецизионность, специфичность и стабильность. Часть метрологических характеристик представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Метрологические характеристики методики количественного определения метилсалицилата, основанной на обратном кислотно-основном титровании

	1	2	3	4	5	6
Масса препарата, г	1,0513	1,0419	1,0428	1,0495	1,0070	1,0655
V_1-V_2, мл	1,35	1,30	1,35	1,35	1,35	1,35
Титр, мг/мл	15,21					
Коэффициент поправки	0,9983					
Массовая доля, %	1,95	1,89	1,97	1,95	2,04	1,92
Среднее значение	1,95					
s^2	0,00225					
S	0,0475					
s_x	0,0194					
s_r	0,0243					
RSD, %	2,43					
P	0,95					
t (P, v)	2,5706					
Δx	0,0498					
E	2,55					

В качестве альтернативы титриметрическому определению метилсалицилата, была изучена возможность использования реакционной спектрометрии как доступного для большинства лабораторий метода, но, теоретически, более экспрессного и требующего меньшей подготовки перед проведением анализа.

Стоит отметить, что несмотря на относительно большое количество методик обнаружения салициловой кислоты по продукту реакции с солями железа (III) [3], спектрофотометрической методики количественного определения метилсалицилата по продукту гидролиза в литературе не описаны.

При разработке аналитической методики были сняты спектры поглощения: 0,5 ммоль/л раствора салициловой кислоты в 0,005 моль/л растворе хлористоводородной кислоты, комплекса салицилат иона и железа (III), полученного по разработанной методике и раствора железа (III) хлорида при концентрации, соответствующей разработанной методике (рисунки 1-3).

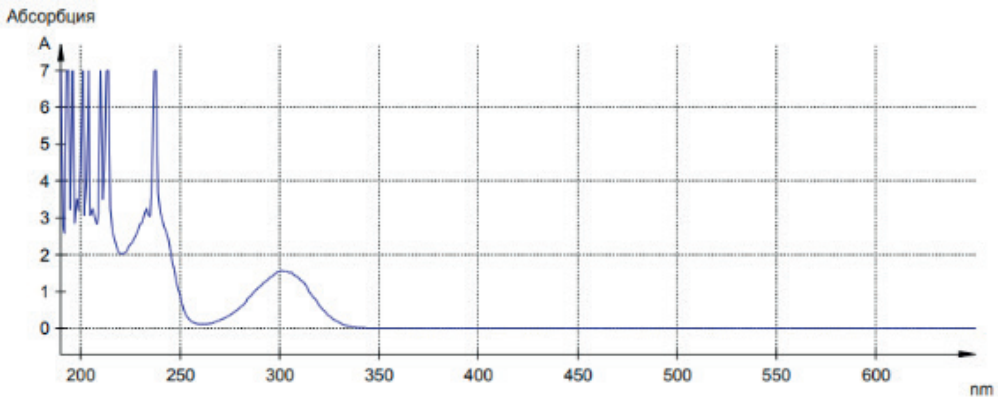


Рисунок 1. Спектр поглощения 0,5 ммоль/литр раствора салициловой кислоты в 0,005 моль/л растворе хлористоводородной кислоты

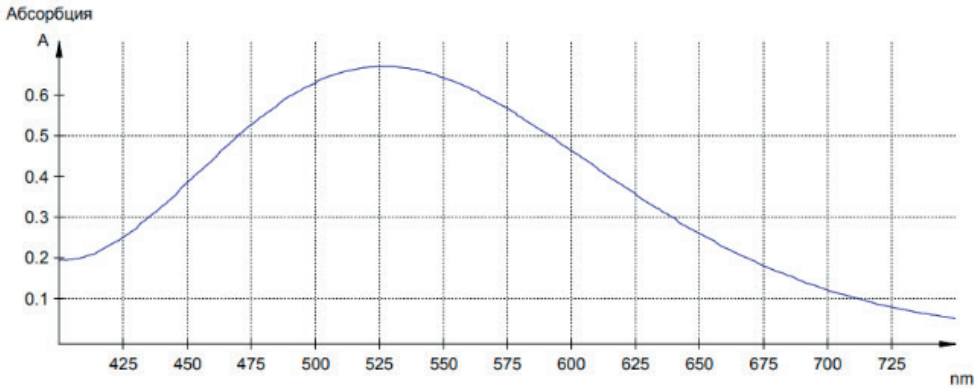


Рисунок 2. Спектр поглощения комплеса, полученного по разработанной методике

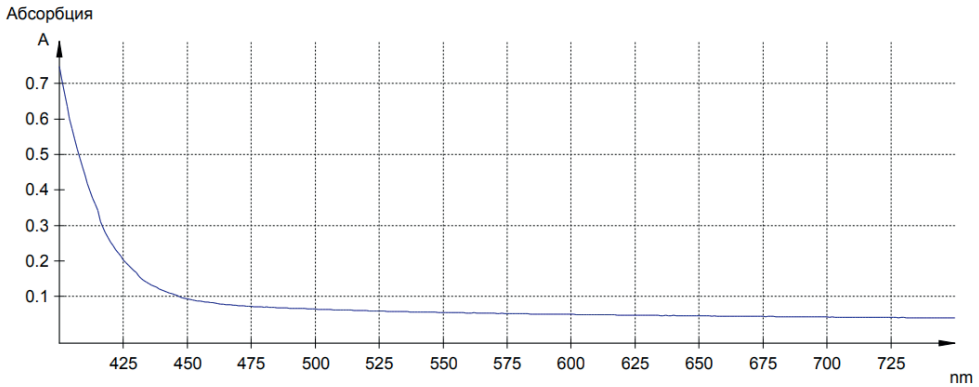


Рисунок 3. Спектр поглощения компенсационного раствора, полученного по разработанной методике

Согласно полученным данным (рисунок 2), максимум на спектре поглощения комплекса салицилат иона с железа (III) хлоридом наблюдается при 528 нм. В то же время, оптическая плотность раствора железа (III) хлорида при данной длине волны и концентрации, соответствующей используемой при выполнении анализа, составляет около 0,0582, что позволяет сделать вывод о необходимости использования специального компенсационного раствора при выполнении дальнейших исследований.

При разработке первого варианта пробоподготовки был определен молярный коэффициент поглощения комплекса салициловой кислоты и железа (III) в интервале pH 2,0-2,5 согласно рекомендаций [6]. Методика определения молярного коэффициента поглощения комплекса салицилат иона и железа (III) представлена в разделе «Материалы и методы исследования». Молярный коэффициент поглощения определяли при длине волны, соответствующей максимальному поглощению комплекса. Полученные результаты представлены на рисунке 4.

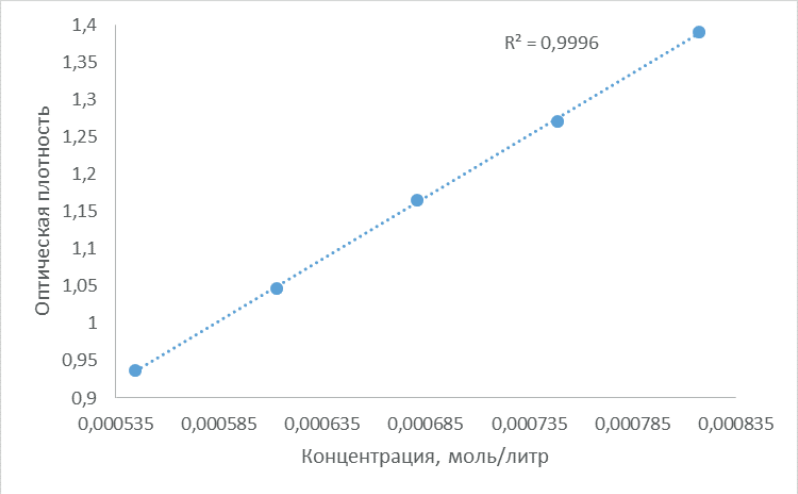


Рисунок 4. Результаты определения молярного коэффициента поглощения комплекса салицилат иона и железа (III)

При обработке результатов эксперимента по методу наименьших квадратов получено уравнение y = 1658,08 + 0,03. Коэффициент корреляции составил 0,9998 (коэффициент детерминации – 0,9996). При дальнейшей статистической обработке по методу, предложенному авторами [6], было установлено, что свободный член уравнения *a* можно приравнять к 0. В связи с этим был выполнен повторный расчет уравнения линейной регрессии. Значение коэффициента *b* составило 1705, коэффициента корреляции – 0,9994 (коэффициента детерминации – 0,9988). Из полученных результатов можно сделать вывод, что молярный коэффициент поглощения не будет обеспечивать высокой чувствительности аналитической методики, тем не менее, решение о применимости данного способа количественного определения метилсалицилата в мази целесообразно делать после частичной валидации конкретной методики анализа.

Следующим этапом была разработана методика количественного определения метилсалицилата, которая основывалась на щелочном гидролизе метилсалицилата до салицилат иона и последующем взаимодействии его с железа (III) хлоридом в интервале pH 2,0-2,5. При разработке методики, пробоподготовка была оптимизирована в целях уменьшения трудозатрат и повышения метрологических характеристик. Количественное определение проводили методом одного стандарта в условии избытка железа (III), который обеспечивает концентрацию комплекса пропорциональную концентрации образующегося салицилат иона. Методика представлена в разделе «Материалы и методы исследования», результаты и метрологические характеристики в таблице 2.

Таблица 2 – Метрологические характеристики методики количественного определения метилсалицилата в мази, основанной на реакционной спектроскопии

Масса препарата, г	2,5632	2,5650	2,5030	2,5062	2,5659	2,5640
Оптическая плотность	0,5700	0,5735	0,5558	0,5600	0,5684	0,5623
Массовая доля, %	1,65	1,66	1,65	1,66	1,65	1,63
Среднее значение	1,65					
s^2	0,000160					
s	0,0127					
s_x	0,00517					
s_r	0,00767					
RSD, %	0,767					
P	0,95					
t (P, v)	2,5709					
Δx	0,0133					
ε	0,805					

В результате выполнения работы были разработаны методики количественного определения метилсалицилата в мази, содержащей также камфору и вазелин. Определены метрологические характеристики методик, основанных на обратном кислотно-основном титровании и реакционной спектрометрии.

При сравнении методик количественного определения установлено, что, не смотря на лучшую повторяемость спектрофотометрической методики, результаты измерений данным методом имеют существенную систематическую погрешность относительно истинного содержания метилсалицилата (2,0 %). Данный факт не удалось устранить при последующей доработке методики.

Таким образом, методика определения метилсалицилата, основанная на обратном кислотно-основном титровании является предпочтительной. Она не требует дорогостоящего оборудования и является более точной.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.19.00 Аналитическая химия

31.19.29 Анализ органических веществ

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея Республики Беларусь. (ГФ. РБП) : Разработана на основе Европейской фармакопеи. В 2 т. Т. 1. Общие методы контроля лекарственных средств / М-во здравоохр. Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» ; под общ. ред. А. А. Шерякова. Молодечно: Тип. «Победа», 2012. 1220 с.

2. National Library of Medicine [Internet]. URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4133. Дата доступа: 06.03.2022.

3. USP 36– NF 31 – 2013 [Электронный ресурс]. Электрон. текст. дан. прогр. (27 Мб). 1 электрон. оптич. диск (CD-ROM).

4. Студенческая медицинская наука XXI века. VI Форум молодежных научных обществ : материалы XXI междунар. науч.-практ. кон. студентов и молодых ученых и VI Форума молодеж. науч. обществ (Витебск, 27-28 окт. 2021 г.) / под ред. А.Т. Щастного. Витебск: ВГМУ, 2021. С. 840–842.

5. Квятковская Л.В., Давлатшоева Д.А., Рахимова М. Комплексообразование в системе Fe (II)-Fe (III)-салициловая кислота-H2O при температуре 308, 16 К // Вопросы физической и коллоидной химий. 2019. С. 76-82.

6. Булатов М.И., Калинкин И.П. Практическое руководство по фотометрическим и спектрофотометрическим методам анализа. Изд. 2-е, пер. и доп. Л.: Химия, 1968. С. 230-234.

SUMMARY

COMPARISON OF METHODS OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF METHYLSALICYLATE IN OINTMENT

Sabirova D.A. 5th year student

Academic advise: **Pivovar M.L.**, Ph.D., Associate Professor, **Sabodina M.N.**, Ph.D.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University

210009, Vitebsk, Frunze Avenue, 27, Republic of Belarus

E-mail: sabirovadiana21@gmail.com

Methods of quantitative determination of methylsalicylate in a mild dosage form (ointment) based on reverse acid-base titration and reaction spectrometry were considered in the work. The main metrological characteristics are calculated for the methods. Their advantages and disadvantages are considered.

Keywords: *methylsalicylate, salicylate ion, mild dosage form, ointment, reverse titration, reaction spectrometry.*

REFERENCES

1. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. (GF. RBII(sad) Developed on the basis of the European Pharmacopoeia. In 2 volumes. V. 1. General methods of drug control / Ministry of Health of the Republic of Belarus, Unitary Enterprise «Center for Expertise and Testing in Health Care»; under the general editorship of A.A. Sheryakov. Molodechno: Type. «Victory», 2012. 1220 p. (in Russian)

2. National Library of Medicine [Electronic resource]. – Access mode: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4133. – Access date: 03/06/2022.

3. USP 36 - NF 31 - 2013 [Electronic resource]. Electron. text. Dan. prog. (27 MB). 1 electron. optical disk (CD-ROM).

4. Student medical science of the XXI century. VI Forum of Youth Scientific Societies: materials of the XXI International Scientific and Practical Conference of Students and Young Scientists and the VI Forum of Youth Scientific Societies (Vitebsk, October 27-28, 2021) / ed. A. T. Shchastny. Vitebsk: VSMU, 2021. P. 840–842. (in Russian)

5. Kvyatkovskaya L.V., Davlatshoeva D.A., Rakhimova M. Complex formation in the system Fe(II)-Fe(III)-salicylic acid-H2O at temperature 308, 16 K // Problems of physical and colloidal chemistry. 2019. P. 75-82. (in Russian)

6. Bulatov M.I., Kalinkin I.P. A practical guide to photometric and spectrophotometric methods of analysis. Ed. 2nd, trans. and additional Leningrad: Chemistry, 1968. P. 230-234. (in Russian)

УДК 54:543.8

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ РАЗДЕЛЕНИЯ 2,4-ДИХЛОР-6-НИТРОФЕНОЛА И 2,6-ДИХЛОР-4-НИТРОФЕНОЛА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Сандрюхина М.В., студ. 4 курса
Научные руководители: **Никитина Т.Г.**, канд.хим. наук, доцент
Дударев В.Г., канд.хим. наук, доцент
Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: marina.sandriukhina.01@mail.ru

Были оптимизированы условия для разделения смеси изомеров производных дихлорфенолов методом капиллярного электрофореза с целью контроля дальнейшего синтеза субстанции противогельминтного препарата.

Ключевые слова: *капиллярный электрофорез, капиллярный зонный электрофорез, мицеллярная электрокинетическая хроматография, 2,4-дихлор-6-нитрофенол, 2,6-дихлор-4-нитрофенол, буферные растворы.*

Производные хлорфенолов широко используются при производстве пестицидов, могут быть использованы для получения некоторых дезинфектантов, микробоподавляющих средств. [1-2]

Так же они могут являться исходными реагентами в производстве препарата, проявляющего антигельминтные свойства. Для получения 2-(2,4-дихлор-6-нитрофенокси)этансульфоната натрия, который является полупродуктом в синтезе фармацевтической субстанции, исходным сырьем выступает 2,4-дихлор-6-нитрофенол. Схема синтеза представлена на рисунке 1.

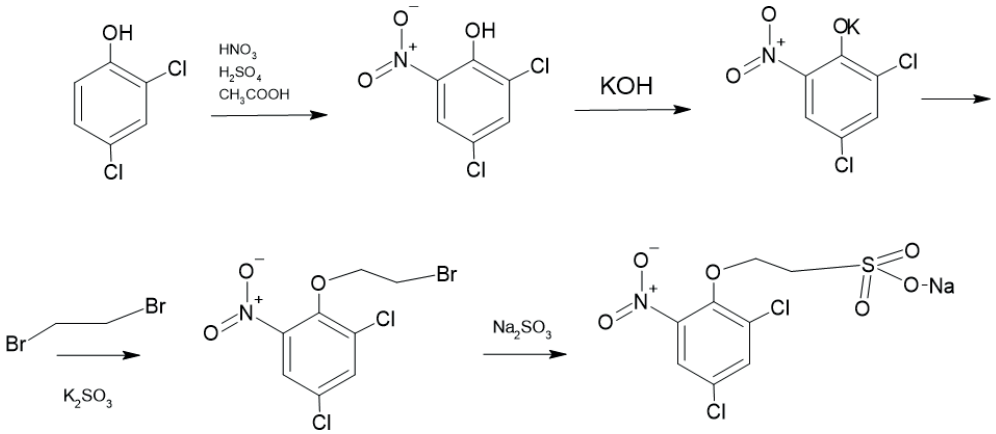


Рисунок 1. Схема синтеза 2-(2,4-дихлор-6-нитрофенокси)этансульфоната натрия

Для того, чтобы в ходе синтеза получить химическое вещество в чистом виде и с наибольшим выходом, необходимо использовать максимально очищенное исходное сырье для предотвращения побочных реакций с примесями, содержащимися в нем. В некоторых случаях такими примесями могут стать похожие по структуре и физико-химическим свойствам вещества, разделение и определение которых стандартными методами представляет достаточно сложную задачу.

При получении 2,4-дихлор-6-нитрофенола в качестве примеси может образоваться 2,6-дихлор-4-нирофенол согласно схеме, представленной на рисунке 2:

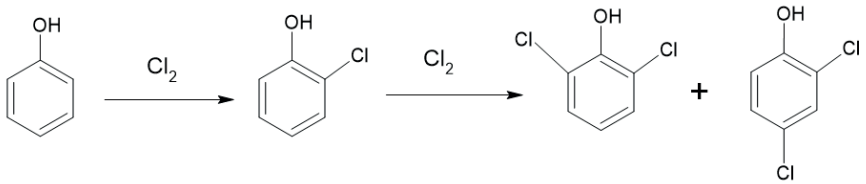


Рисунок 2. Схема синтеза 2,4-дихлор-6-нитрофенола

Для предотвращения загрязнения конечного полупродукта синтеза фармацевтической субстанции необходимо на начальном этапе проверить наличие примеси 2,6-дихлор-4-нитрофенола. В данной работе применяется метод капиллярного электрофореза, так как он показал наибольшую эффективность в предварительных испытаниях.

Цель исследования: эффективное разделение изомеров 2,6-дихлор-4-нитрофенола и 2,4-дихлор-6-нитрофенола методом капиллярного электрофореза. Представленная цель может быть достигнута посредством решения следующих задач:

- подбор оптимального pH, при котором произойдет разделение изомеров;
- выбор буферного раствора и дополнительных соединений, увеличивающих разделительную способность буфера;
- анализ разделяющей способности и эффективности подходящих буферных растворов.

Как было сказано выше, объектами исследования являются 2,4-дихлор-6-нитрофенол (о-изомер) и 2,6-дихлор-4-нитрофенол (п-изомер). В качестве пробы выступала модельная смесь. Для создания модельной смеси использовался следующий состав: о-изомер (0,04 мг/мл) + п-изомер (0,04 мг/мл) + вода, в соотношении 1:1:3. Объем пробы составлял 1 мл.

Капиллярно-электрофоретическое определение анионных форм производных фенола проводили на приборе капиллярного электрофореза «Капель-104Т». Все эксперименты проводили при напряжении 20 кВ, длина волны спектрофотометрического детектирования – 254 нм, ввод пробы осуществляли давлением 30 мбар в течение 5 или 10 с. Для регистрации электрофореграмм использовали компьютерную программу «Мультихром для Windows».

Для улучшения селективности разделения изомеров фенолов применялись буферные растворы с различным составом и значением pH:

− 0,05 М боратный буфер pH 9,18;
− 0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 20 мМ ДДСН;
− 0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 40 мМ ДДСН;
− 0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 40 мМ ДДСН + 20% ацетонитрил;
− 0,1 М трис(гидроксиметил)аминометан (ТРИС) pH 8,19;
− 0,1 М ТРИС pH 7,7;
− 0,1 М ТРИС pH 7,28;
− 0,1 М фосфатный буфер pH 7,29;
− 0,1 М ацетатный буфер 7,29;
− 0,1 М хлорацетатный буфер pH 7,29;
− 0,1 М фосфатный буфер pH 6,86;
− 0,1 М фосфатный буфер pH 7,05.

В предварительных экспериментах был использован боратный буферный раствор с pH 9.18, оба изомера находятся преимущественно в ионизированной форме, что подтверждается их электрофоретическими подвижностями, рассчитанными на основании экспериментальных данных о временах миграции (таблица 1).

Таблица 1 – Электрофоретические подвижности изомеров

Вещество	Электрофоретическая подвижность, μ_a^0, см²/кВ·с
2,4-дихлор-6-нитрофенол	-0,257
2,6-дихлор-4-нитрофенол	-0,264

Из данных, представленных в таблице 1 видно, что в стандартном буферном растворе невозможно осуществить разделение фенолов ввиду близости электрофоретических подвижностей.

Согласно литературным данным [3] для повышения селективности разделения гидрофобных соединений можно использовать мицеллярную электрокинетическую хроматографию, для реализации которой необходимо ввести в состав рабочего буферного раствора анионное поверхностно-активное вещество при концентрации превышающей критическую концентрацию мицелообразования.

Было изучено влияние концентрации додецилсульфата натрия (ДДСН) в диапазоне 20-40 мМ на селективность разделения фенолов. Установлено, что при добавлении 40 мМ ДДСН к боратному буферному раствору удается добиться разделения пиков фенолов. Дальнейшее увеличение содержания ДДСН в составе буферного раствора приводит к увеличению тока в системе и нестабильности нулевой линии.

Для увеличения разрешения пиков фенолов за счет уменьшения скорости электроосмоса в капилляре к боратному буферному раствору с 40 мМ ДДСН был добавлен органический модификатор – 20% ацетонитрил. Как и предполагалось, разрешающая способность системы увеличилась, однако эффективность анализа снизилась на 40%.

Была изучена возможность использования капиллярного зонного электрофореза для разделения изомеров фенолов при использовании буферных растворов с pH в диапазоне 6.86 – 8.19, которые позволяют изменять формы существования фенолов в водных растворах, что должно также способствовать повышению селективности анализа. Разделяющая способность различных буферных растворов показана в таблице 2.

При использовании в качестве буферного раствора 0,1 М трис(гидроксиметил)аминометана (ТРИС) с разными значениями разделение пиков фенолов произошло только в случае использования буферного раствора с pH 7,29. При этом значении pH удается разделить пики фенолов при использовании 0.1 М ацетатного и хлорацетатного буферных растворов. Данные по разрешению и эффективности анализа представлены в таблице 3. Установлено, с увеличением ионной силы, используемых буферных растворов увеличивается селективность разделения.

При использовании фосфатного буферного раствора наилучшие параметры разделения были достигнуты для раствора с pH 6.86, характеризующегося максимальной буферной емкостью.

Таблица 2 – Разделяющая способность буферных растворов

Буферный раствор	Разделение
0,05 М боратный буфер pH 9,18;	-
0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 20 мМ ДДСН;	-
0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 40 мМ ДДСН;	+
0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 40 мМ ДДСН + 20% ацетонитрил;	+
0,1 М трис pH 8,19;	-
0,1 М трис pH 7,7;	-
0,1 М трис pH 7,29;	+
0,1 М фосфатный буфер pH 7,29;	+
0,1 М ацетатный буфер 7,29;	+
0,1 М хлорацетатный буфер pH 7,29;	+
0,1 М фосфатный буфер pH 6,86;	+
0,1 М фосфатный буфер pH 7,05.	+

Таблица 3 – Разрешающая способность (R_S) и эффективность (ТТ)

Буферный раствор	R_S	ТТ
0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 40 мМ ДДСН;	1,35	330000
0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 40 мМ ДДСН + 20% ацетонитрил;	2,43	200000
0,1 М трис pH 7,28;	1,17	75000
0,1 М фосфатный буфер pH 7,29;	1,4	180000
0,1 М ацетатный буфер 7,29;	1,07	141000
0,1 М хлорацетатный буфер pH 7,29;	1,33	100000
0,1 М фосфатный буфер pH 6,86;	1,69	120000
0,1 М фосфатный буфер pH 7,05.	1,12	50000

Таким образом, установлено, что наилучшие условия для разделения изомеров фенолов создаются при использовании буферного раствора с составом: 0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 40 мМ ДДСН + 20% ацетонитрил. Однако, в этом случае наблюдается нестабильность фоновой линии (рис. 3), что в дальнейшем может затруднять количественное определение содержания изомеров в анализируемой смеси.

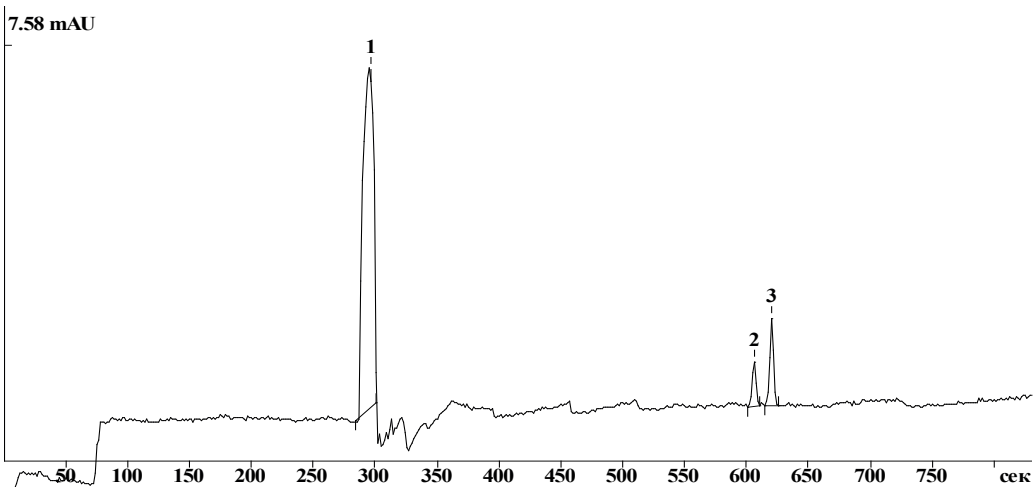


Рисунок 3. Электрофореграмма смеси (буфер: 0,05 М боратный буфер pH 9,18 + 40 мМ ДДСН + 20% ацетонитрил), 2 – о-изомер, 3 – п-изомер

Альтернативным подходом, позволяющим добиться стабильной фоновой линии при сохранении высокой селективности разделения фенолов, является использование фосфатного буферного раствора с pH 6,86 (рис. 4).

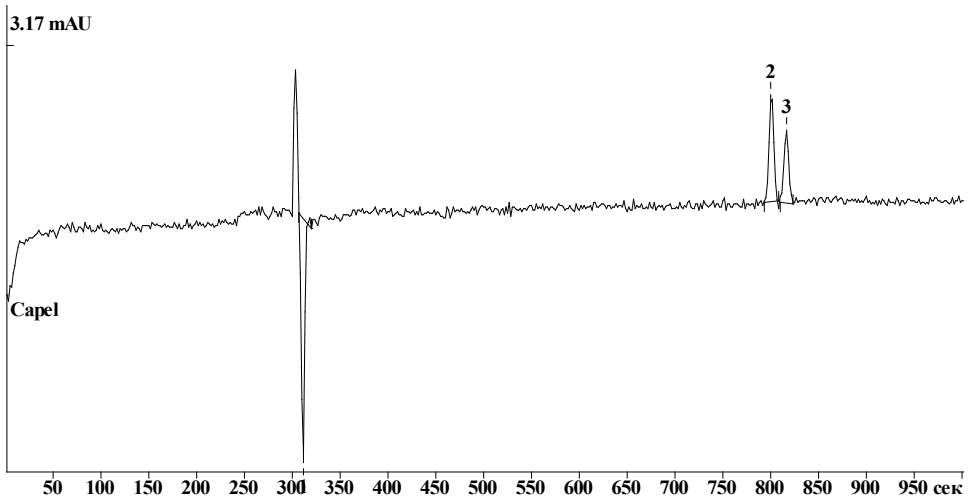


Рисунок 4. Электрофореграмма смеси (буфер: фосфатный pH 6,86), 2 – о-изомер, 3 – п-изомер

В ходе работы были исследованы и оптимизированы условия для разделения смеси изомеров производных дихлорфенолов для дальнейшей проверки чистоты исходного продукта в синтезе фармацевтической субстанции. Наиболее полное электрофоретическое разделение происходит при использовании буферных смесей содержащих 0,05 М боратный буфер pH 9,18, 40 мМ ДДСН и 20% ацетонитрил и фосфатный буфер с pH 6,86.

ЛИТЕРАТУРА

1. Поздняков В.С. 2-Бензил-4-хлорфенол // Токсикологический вестник. 2005. N 5. С. 49-50.

2. Изучение эффективности некоторых субстанций, содержащих фенольный фрагмент, в отношении тестового штамма Mycobacterium terrae DSM // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2016. N 4. С. 37-41.

3. Применение капиллярного электрофореза в анализе лекарственных средств / Г.М. Алексеева [и др.]. – СПб: Кнорус, 2019. 176 с.

SUMMARY

OPTIMIZATION OF SEPARATION CONDITIONS FOR 2,4-DICHLORO-6-NITROPHENOL AND 2,6-DICHLORO-4-NITROPHENOL BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Sandryukhina M.V., 4th year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: marina.sandriukhina.01@mail.ru

The conditions for separating a mixture of isomers of dichlorophenol derivatives by capillary electrophoresis were optimized in order to control the further synthesis of the substance of the anthelmintic drug.

Keywords: *capillary electrophoresis, zone capillary electrophoresis, micellar electrokinetic chromatography, 2,4-dichloro-6-nitrophenol, 2,6-dichloro-4-nitrophenol, buffer solutions.*

REFERENCES

Pozdnyakov, V.S. 2-Benzyl-4-chlorophenol // Toxicological Bulletin. 2005. N 5. P. 49-50. (in Russian)

Studying the effectiveness of some substances containing a phenolic fragment against the test strain Mycobacterium terrae DSM 43227 // Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2016. N 4. P. 37-41. (in Russian)

The use of capillary electrophoresis in the analysis of drugs / G.M. Alekseeva [et al.]. Saint-Petersburg: Knorus, 2019. 176 p. (in Russian)

УДК 615:615.07

КАЧЕСТВЕННОЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В УРОЛОГИЧЕСКОМ СБОРЕ

Сафаров С.С., магистрант 2-го года обучения
Научный руководитель: **Имамалиев Б.А.**, к.фарм.н., руководитель научного центра (ORCID: 0000-0002-7526-5105)
Ташкентский фармацевтический институт,
Научный центр «Med Standart»
100015, Ташкент, ул. Ойбека, д. 45, Узбекистан
100049, г. Ташкент, Алмазарский район, ул. Карасарай 343, Узбекистан
E-mail: ibnsulaymon97@mail.ru

Проведено качественное и количественное определение биологически активных веществ в урологическом сборе (трава хвоща полевого; трава пастушьей сумки; листья мяты перечной). Для травы хвоща проводили качественную реакцию на флавоноиды, для травы пастушьей сумки проводили качественную реакцию на витамин К, для листьев мяты перечной проводили качественную реакцию на ментол. Такой принцип был использован, так как каждый из этих компонентов удовлетворяет требованиям специфичности и общепринято рекомендован фармакопей. Количественное определение проводили по флавоноидам, так как данный показатель суммарно выражает содержание каждого компонента фитосбора.

На основании полученных данных разработаны методы оценки подлинности и количественного определения.

Ключевые слова: *флавоноиды, витамин К, ментол, качественная реакция, количественное определение, урологический фитосбор.*

Инфекции мочевых путей (ИМП) входят в 20 наиболее частых причин обращения пациентов к врачу общей практики и терапевту. Ведение пациентов с внебольничным неосложненным пиелонефритом осуществляется, как правило, на догоспитальном этапе. Стационарному лечению подлежат пациенты с осложненными, обструктивными пиелонефритами и при невозможности приема лекарственных препаратов внутрь (например, при рвоте). Диагностика и лечение инфекции мочевых путей не вызывает, как правило, затруднений. Однако проблема микробиологического выздоровления с эрадикацией уропатогена остается одной из актуальных [1].

Пиелонефрит – неспецифический воспалительный процесс в ткани почек и чашечнолоханочной системе с преимущественным поражением тубулоинтерстиция – одного из наиболее распространенных инфекционных заболеваний во всех возрастных группах. Пиелонефрит вместе с циститом, бессимптомной бактериурией и инфекциями мужских половых органов объединяется в синдром ИМП [1].

На сегодняшний день, актуальной задачей медицины и фармацевтики является разработка препаратов на основе лекарственного растительного сырья, для лечения ИМП, так как фитопрепараты действуют комплексно и редко вызывают нежелательные реакции организма. В связи с этим нами был разработан урологический фитосбор [2], следующего состава: трава хвоща полевого – 3,0; трава пастушьей сумки – 1,0; листья мяты перечной – 1,0. Однако, важной задачей разработки препаратов является изучение качественного и количественного содержания биологически активных веществ (БАВ), что является основой стандартизации разработанного препарата.

Целью исследования являлось изучение качественного и количественного определения биологически активных веществ в урологическом сборе.

Для разработки методов оценки подлинности фитосбора был использован следующий принцип: для травы хвоща проводили качественную реакцию на флавоноиды, для травы пастушьей сумки проводили качественную реакцию на витамин К, для листьев мяты перечной проводили качественную реакцию на ментол. Такой принцип был использован, так как каждый из этих компонентов удовлетворяет требованиям специфичности и общепринято рекомендован фармакопей. Количественное определение проводили по флавоноидам, так как данный показатель суммарно выражает содержание каждого компонента фитосбора.

Для проведения качественного анализа на витамин К и ментол, 10 г урологического фитосбора помещали в круглодонную колбу вместимостью 300 мл, заливали 100 мл 96% этанола, колбу закрывали пробкой, и помещали на водяную

баню на 30 минут, затем вытяжку перемешивали, охлаждали, процеживали через четырёх слойную марли и фильтровали через бумажный фильтр.

Наличие флавоноидов определяли по цветной реакции с хлоридом железа (III) [3]. Для проведения качественной реакции на флавоноиды использовали вытяжку, полученную для количественного определения флавоноидов. К 1-2 мл вытяжки прибавляли несколько капель 5% водного раствора железа (III) хлорида, при этом наличие флавоноидов определялось по появлению чёрно-зеленого окрашивания.

Наличие витамина К определяли по реакции выпадения осадка в щелочной среде, которую применяют для оценки наличия менадиона/викасола – метод 1 [4]. К 1-2 мл вытяжки прибавляли несколько капель 4%-го раствора едкого калия на 96% этаноле, при этом наличие витамина К определялось выпадением жёлтого хлопьевидного осадка. Для чистоты опыта нами был параллельно поставлен контрольный опыт с раствором витамина К (менадионом/викасолом) (1% раствор менадиона в воде дистилированной).

Также наличие витамина К определяли по реакции с диэтилдитиокарбаматом – метод 2. К 2 мл вытяжки прибавляли 2 мл 5%-го раствора диэтилдитиокарбамата натрия и 0,5 мл 4%-го спиртового раствора гидроксида калия. Содержимое перемешивали. Теоретически раствор должен приобрести голубое окрашивание. Для чистоты опыта нами был параллельно поставлен контрольный опыт с раствором витамина К (менадионом/викасолом) (1% раствор менадиона в воде дистилированной).

Наличие ментола определяли по цветной реакции с раствором ванилина в серной кислоте [3]. К 1-2 мл втяжки препарата прибавляли несколько капель 1% раствора ванилина в концентрированной серной кислоте, при этом наличие ментола определялось по появлению красной окраски переходящей в течение 10 минут в фиолетовую. Для чистоты опыта нами была параллельно поставлен контрольный опыт с спиртовым раствором ментола (1% раствор ментола рацемата в 96% спирте).

Изучение содержания флавоноидов определяли спектрофотометрически, используя реакцию флавоноидов с хлоридом алюминия, что ведёт к батохромному сдвигу [3, 6].

5 г урологического фитосбора помещали в круглодонную колбу вместимостью 500 мл, заливали 250 мл 50% этанола, колбу закрывали пробкой, взвешивали (с погрешностью ±0,01г) оставляли на 1 час. Затем колбу соединяют с обратным холодильником, нагревают, поддерживая слабое кипение в течение 2 часов. После охлаждения колбу с содержимым вновь закрывают той же пробкой, взвешивают, и потерю в массе восполняют 50% этанолом. Содержимое колбы тщательно взбалтывают и фильтруют через бумажный фильтр, при этом аккуратно выжимая жом, и измеряют объем фильтрата, в полученной вытяжке определяют содержание флавоноидов.

1 мл вытяжки помещали в мерную колбу объемом 25 мл, прибавляли 5 мл 5% раствора алюминия хлорида на 70% спирте этиловом, через 10 минут прибавляли 2 мл 5% раствора уксусной кислоты на 70% спирте этиловом, доводили объем раствора 70% спиртом этиловом до метки и перемешивали и оставляли на 30 минут. Оптическую плотность полученного раствора измеряли на спектрофотометре при длине волны 401 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве компенсационного раствора (бланка) использовали раствор приготовленный аналогичным образом, но без добавления 5% раствора алюминия хлорида на 70% спирте этиловом.

Параллельно, через 30 минут измеряли оптическую плотность раствора, который содержал 1 мл раствора сравнения (рабочего стандартного образца рутина), приготовленный аналогично испытуемому раствору, который содержал 1 мл раствора РСО рутина, 5 мл 5% раствора алюминия хлорида на 70% спирте этиловом и 2 мл 5% раствора уксусной кислоты в 70% спирте этиловом, доведённого до метки 70% этиловым спиртом. В качестве компенсационного раствора (бланка) использовали раствор приготовленный аналогичным образом, но без добавления 5% раствора алюминия хлорида на 70% спирте этиловом.

Количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в % рассчитывали по следующей формуле:

$$X = \frac{D \text{ x } m_0 \, x \, P \, x \, 1 \, x \, 25 \text{ x } V\text{в}}{D_0 \, x \, 100 \, x \, 25 \, x \, 1 \, x \, \text{Мс}} = \frac{D \text{ x } m_0 \, x \, P \text{ x } V\text{в}}{D_0 \, x \, 100 \, x \, \text{Мс}}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность компенсационного раствора; m_0 – масса навески стандартного образца рутина, в г; P – содержание рутина в стандартном образце, отмеченный в сертификате качества, в процентах; Мс – масса сбора, взятая для приготовления вытяжки для анализа, в граммах; Vв – объем вытяжки фильтрата из вытяжки сбора, в миллилитрах.

Приготовление РСО рутина. Около 25 мг (точная навеска) РСО рутина, высушенного при температуре 135 ^{0}С до постоянного веса помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 80 мл 96% этанола при нагревании на водяной бане, после охлаждения доводили объем раствора 96% этанолом до метки. Срока хранения раствора 1 месяц в хорошо укупоренной таре в прохладном и защищенном от света месте.

Приготовление 5% раствора алюминия хлорида. 5 г алюминия хлорида помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, затем осторожно, медленно наливали 35 мл 70% этанола, осторожно перемешивали и растворяли, далее доводили до метки 70% этанолом. Срок хранение раствора 5 суток.

Приготовление 5% раствора кислоты уксусной. В мерную колбу объёмом 100 мл помещали 5 мл ледяной уксусной кислоты, и доводили до метки 70% этанолом. Срок хранение раствора 5 суток.

Серии опытов (5 постановок) по качественной реакции на флавоноиды показали, что при добавлении 5% водного раствора железа (III) хлорида вызывает появление чёрно-зелёного окрашивания (рис. 1), что доказывает наличие флавоноидов в вытяжке из фитосбора.

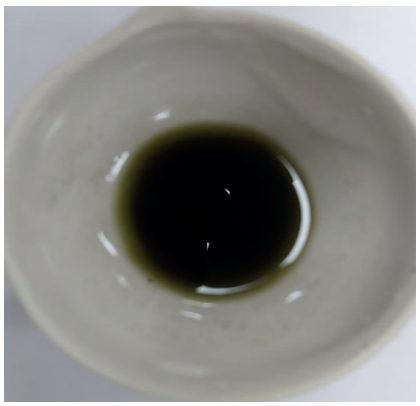


Рисунок 1. Качественная реакция на флаваноиды

Серии опытов (5 постановок) по качественной реакции на витамина К показали, что при добавлении раствора едкого калия на 96% этаноле вызывает выпадения жёлтого хлопьевидного осадка (рис. 2), что доказывало наличие витамина К в вытяжке из фитосбора.

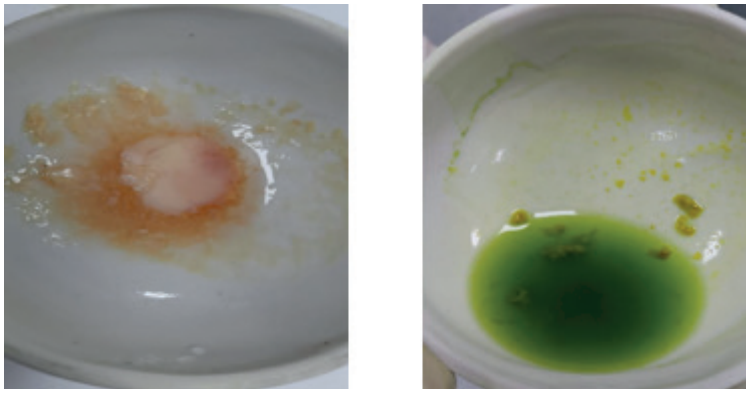


Рисунок 2. Качественная реакция на витамин К (метод 1). Контрольный опыт (слева), основной опыт (справа)

Также серия опытов (5 постановок) по качественной реакции на витамина К с добавлении раствора диэтилдитиокарбамата и едкого калия на 96% этаноле вызывал выпадения коричневато-жёлтого хлопьевидного осадка (рис. 3), что доказывало наличие витамина К в вытяжке из фитосбора. Теоретически должно было появится голубое окрашивание, однако в данном эксперименте вместо голубого окрашивания наблюдалось выпадение коричневато-жёлтого хлопьевидного осадка, что свойственен викасолу.

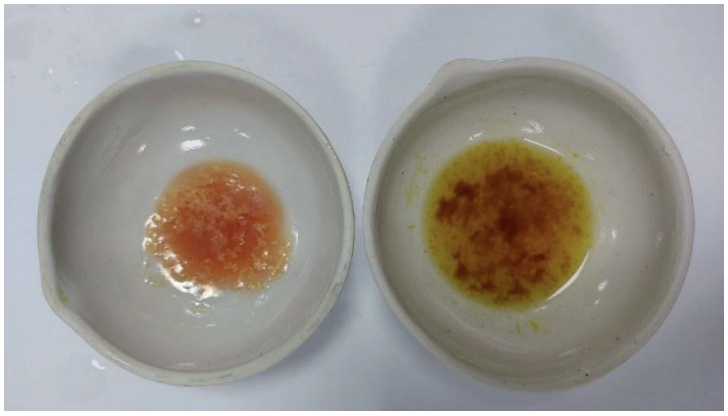


Рисунок 3. Качественная реакция на витамин К (метод 2). Контрольный опыт (слева), основной опыт (справа)

Серии опытов (5 постановок) по качественной реакции на ментол показали, что при добавлении 1% раствора ванилина в концентрированной серной кислоте вызывает появление красного окрашивания (рис. 4), переходящего в фиолетовое, что доказывало наличие ментола в вытяжке из фитосбора.

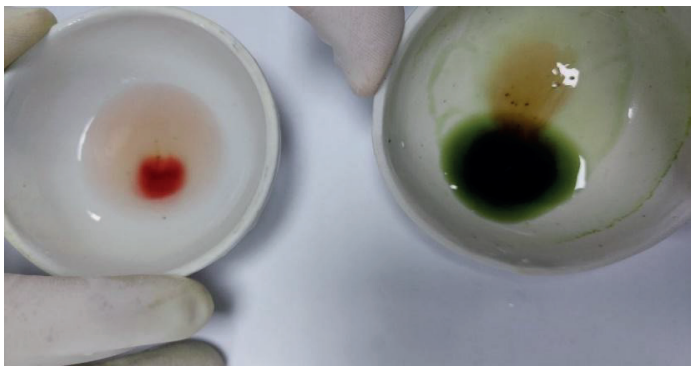


Рисунок 4. Качественная реакция на ментол. Контрольный опыт (слева), основной опыт (справа)

Результаты количественного определения флавоноидов в фитосборе были подвергнуты статистической обработке (таблица 1) (рис. 5). На основании серии проведённых опытов эмпирически было установлено, что содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин должно быть не менее 1,55%.

Таблица 1 – Метрологические характеристики результатов количественного определения флавоноидов

Xср	n	S	Sx	f	t	P	ΔX	ΔXср	ΔE	ΔEср
1,72242	5	0,046	0,021	4	2,776	0,05	0,128	0,057	7,455	3,334

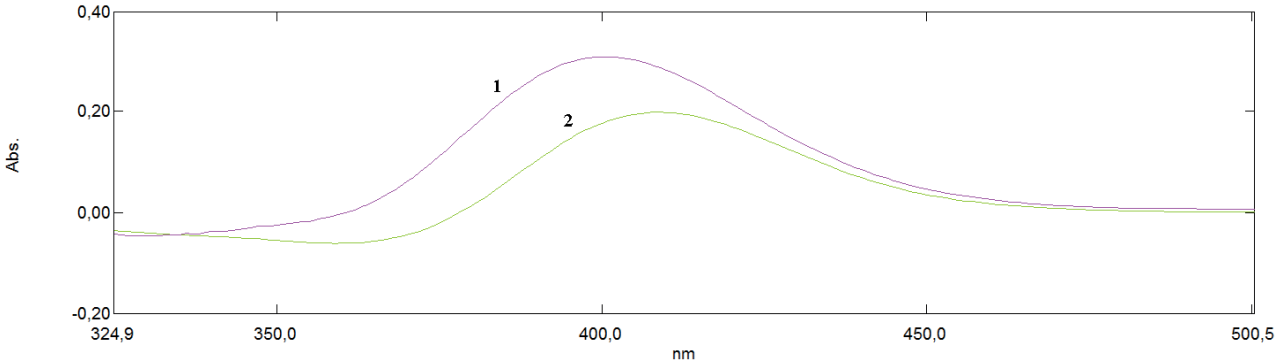


Рисунок 5. УФ-спектр флавоноидов. 1 – препарат, 2 – РСО рутина

Разработаны методы качественного анализа основных биологически активных веществ специфичных для каждого компонента фитосбора, что является основанием для введения разработанных методов в нормативный документ (НД, ФСП, ФС и т. п.) для оценки подлинности фитосбора. Также разработана методика количественного определения и установлены нормы содержания для фитосбора, что также является основанием для стандартизации.

Таким образом, проведено качественное и количественное определение биологически активных веществ в урологическом сборе, и разработаны методы оценки подлинности и количественного определения.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипов Е.В., Сигитова О.Н., Богданова А.Р. Современные рекомендации по диагностике и лечению пиелонефрита с позиции доказательной медицины // Вестник современной клинической медицины. 2015. Т. 8. N 6. С. 115-120.

2. Сафаров С.С., Имамалиев Б.А. Разработка состава урологического фитосбора // Абу Али ибн Сино и инновации в современной фармацевтике : сборник IV международной научно-практической конференции. Ташкент, 2021. С. 97-98.

3. Государственная фармакопея РФ. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14. (Дата обращения 01.03.2022).

4. ФСП 42 Уз-0524-2012. Викасол раствор для инъекций 1%. 2012. 5 с.

5. НД 42 Уз-0223-2013. Протефлазид капли 30 мл (флаконы). 2013. 17 с.

SUMMARY

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN UROLOGICAL COLLECTION

Safarov S.S., 2nd year master student
Academic advise: **Imamaliev B.A.**, PhD, head of the scientific center,
ORCID: 0000-0002-7526-5105
Tashkent Pharmaceutical Institute,
Scientific Center «Med Standart»
100015, Tashkent, Oybek street, 45, Uzbekistan
100049, Tashkent, Almazar district, st. Karasaray 343, Uzbekistan
E-mail: ibnsulaymon97@mail.ru

Qualitative and quantitative determination of biologically active substances in the urological collection (herba Equiseti arvensis; herba Capsellae Bursae pastoris; folia Menthae piperitae) was carried out. For Equiseti arvensis herbs, a qualitative test for flavonoids was performed, for herba Capsellae Bursae herbs, a qualitative test for vitamin K was performed, for Menthae piperitae leaves, a qualitative test for menthol was performed. This principle was used, since each of these components satisfies the requirements of specificity and is generally recommended by the pharmacopeia. Quantitative determination was carried out by flavonoids, since this indicator in total expresses the content of each component of the phytocollection.

Based on the data obtained, methods for assessing identification and assay have been developed.

Keywords: *flavonoids, vitamin K, menthol, qualitative reaction, quantitative determination, urological phyto collection.*

REFERENCES

1. Arkhipov E.V., Sigitova O.N., Bogdanova A.R. Modern recommendations for the diagnosis and treatment of pyelonephritis from the standpoint of evidence-based medicine // Bulletin of modern clinical medicine. 2015. Vol. 8(6). P. 115-120. (in Russian)
2. Safarov S.S., Imamaliev B.A. Development of the composition of the urological phytocollection // Abu Ali ibn Sino and innovations in modern pharmaceuticals : collection of the IV international scientific and practical conference. – Tashkent, 2021. P. 97-98. (in Russian)
3. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14. (Accessed 03/01/2022). (in Russian)
4. Pharmacopoeia article of the enterprise 42 Uz-0524-2012. Vikasol solution for injections 1%. 2012. 5 p. (in Russian)
5. ND 42 Uz-0223-2013. Proteflazid drops 30 ml (vials). 2013. 17 p. (in Russian)

УДК 615.32

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПЛОДОВ ШИПОВНИКА

Сторожик В.Е., студ. 2 курса
Научный руководитель: **Никитина Т.Г.**, канд. хим. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: valeriya.storozhik@spcpu.ru

Проведено определение антиоксидантной активности плодов шиповника методом перманганатометрии и определение содержания аскорбиновой кислоты методом йодометрии. Результаты определения свидетельствуют о возможности использования плодов шиповника в качестве источника антиоксидантов.

Ключевые слова: *антиоксиданты, антиоксидантная активность, плоды шиповника, перманганатометрия, йодометрия, аскорбиновая кислота.*

Источником энергии для многих живых организмов являются реакции окисления с участием кислорода. В процессе метаболизма в клетке накапливаются активные формы кислорода, которые разрушают её. Такие активные формы являются радикалами, которые способны разрушать липиды, протеины и вызывать мутацию генов и клеток. В результате в организме нарушается обмен веществ и возникает окислительный стресс.

Антиоксиданты-вещества, которые ингибируют окисление. Главная задача антиоксидантов – связывание и выведение свободных радикалов из клеток. В качестве антиоксидантов применяются вещества как синтетического, так и природного происхождения. Однако известно, что синтетические антиоксиданты могут оказывать токсическое действие на организм человека вследствие передозировки или при нарушении технологических режимов применения. Поэтому все большее внимание уделяется исследованию и применению антиоксидантов природного происхождения. К ним относятся витамин С, витамин Е, эфирные масла и фенольные соединения: флавоноиды, фенолпропаноиды и другие.

В организме существует собственная система выведения активных форм кислорода из организма-антиоксидантная система. Однако в течение последних десятилетий её эффективность уменьшилась вследствие неблагоприятных факторов окружающей среды. Стресс, неправильное питание, выхлопные газы и продукты переработки различных производств негативно влияют на наш организм, а значит и на нашу антиоксидантную систему. В результате чего повышается уровень таких заболеваний как ишемическая болезнь сердца, атеросклероз и многих других. Для профилактики все чаще используют растительное сырье, содержащее большое количество антиоксидантов.

Для определения антиоксидантной активности можно использовать различные химические и физико-химические методы анализа. К физико-химическим методам определения относится амперометрический, потенциометрический, кулонометрический и спектроскопические методы. В данном исследовании антиоксидантную активность определяли согласно литературным данным титриметрически по методике, разработанной Максимовой Т.В. с соавторами [1]. В качестве стандартного образца использовалась аскорбиновая кислота.

Плоды шиповника являются источником антиоксидантов и считаются самым богатым источником антиоксидантов. Помимо аскорбиновой кислоты, плоды содержат большое количество других антиоксидантов, которые обуславливают высокую антиоксидантную активность шиповника. Их содержание представлено в таблице 3 [2].

Таблица 3 – Содержание некоторых других антиоксидантов в плодах шиповника

Вещество	Содержание
Витамин С	1007,63-1901,47 мг%
Витамин Е	48,8 мг/кг
Флавоноиды	3,28-4,20%
Катехины	740-857 мг%
Дубильные вещества	5,71-9,1 мг%

Целью работы является определение антиоксидантной активности плодов шиповника методом перманганатометрии и определение содержания аскорбиновой кислоты методом йодометрии согласно фармакопее РФ XIII [3].

При проведении эксперимента использовались следующие реактивы: 0,1 н раствор перманганата калия (фиксанал), 0,1 н раствор йода (фиксанал), аскорбиновая кислота (ч. д. а.), дигидрат щавелевой кислоты (ч. д. а.), гидроксид натрия (ч. д. а.), 2 М соляная кислота, 1 М серная кислота, 0,1 % свежеприготовленный раствор крахмала, 0,1 % раствор фенолфталеина, плоды шиповника майского (Rosa majalis Herrm.) из питомника лекарственных растений СПХФУ Лемболово.

Точные растворы титрантов с концентрациями 0,05 н перманганат калия и 0,002 н раствор йода готовили разбавлением исходных растворов дистиллированной водой.

В качестве модельного вещества, характеризующегося антиоксидантной активностью использовалась аскорбиновая кислота. Так как она легко окисляется, то была проведена её стандартизация. Стандартизацию аскорбиновой кислоты проводили методом кислотно-основного и йодометрического титрования. При стандартизации кислотно-основным титрованием в качестве титранта использовался гидроксид натрия с концентрацией 0.1 моль/л (К=0,09249), индикатор 0,1 % раствор фенолфталеина. При стандартизации йодометрическим титрованием в качестве титранта использовался 0,1 н раствор йода (фиксанал), индикатор 0,1 % раствор свежеприготовленного крахмала.

Методика проведения эксперимента: 0,2 г аскорбиновой кислоты (витамин С, С6Н8О6) (точная навеска) переносили в коническую колбу, растворяли в ~ 20 мл дистиллированной воды, при иодометрическом титровании добавляли 10 мл 2 М соляной кислоты, 10 капель индикатора и титровали при интенсивном перемешивании раствора.

Расчет массовой доли аскорбиновой кислоты в стандартном образце осуществляли по формуле:

$$w_{C6H8O6}\,,\% = \frac{m_{C6H8O6}}{m_{\text{навески}}} \times 100\%$$

$$m_{C6H8O6}\,,\text{г} = \text{С}_{\text{т}} \times V_{\text{т}} \times \text{Э}_{C6H8O6},$$

где w_{C6H8O6} – массовая доля аскорбиновой кислоты в стандартном образце, %

m_{C6H8O6} – масса аскорбиновой кислоты в стандартном образце, г

$m_{\text{навески}}$ – масса навески стандартного образца, г

$\text{С}_{\text{т}}$ – концентрация титранта, моль/л

$V_{\text{т}}$ – объем титранта, мл

Э_{C6H8O6} – количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл перманганата калия, г.

Для извлечения веществ, проявляющих антиоксидантную активность, использовались следующие методики. В первом эксперименте к навеске измельченных плодов шиповника массой приблизительно 1,4 г (точная навеска) добавляли кипящую дистиллированную воду объемом 100 мл и выдерживали 15 минут. Во втором случае к аналогичной навеске добавляли кипящую дистиллированную воду и выдерживали настой на водяной бане в течение 15 минут. Полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр «Красная лента», отжимали твердый остаток и доводили в мерной колбе до 100 мл дистиллированной водой. Затем анализировали полученные настои.

При определении антиоксидантной активности плодов шиповника отбирали аликвоту перманганата калия объемом 10 мл, добавляли 20 мл 2 н серной кислоты и титровали полученным раствором пробы до обесцвечивания раствора перманганата калия.

Поскольку аскорбиновая кислота может окисляться при стоянии, необходимо определить массовую долю основного вещества в используемом стандартном образце.

Аскорбиновая кислота хорошо растворяется в воде (33,3 г в 100 мл воды) и является двухосновной кислотой (K_{a1}= $6.8\cdot10^{-5}$ и K_{a2}= $2.7\cdot10^{-12}$). Отношение K_{a1}: K_{a2} больше 10^4, но так как K_{a2} очень мала и сопоставима с K_w, то практически можно оттитровать только один из двух ионов водорода енольных гидроксильных групп, применяя индикатор, изменяющий окраску в щелочной области pH (pT ≥ 8).

Аскорбиновая кислота в водных растворах проявляет свойства восстановителя. При действии умеренных окислителей, например, I_2 или железа (III) аскорбиновая кислота окисляется до дегидроаскорбиновой, стандартный потенциал полуреакции равен = 0.058 В. Схема реакции окисления представлена на рисунке 1.

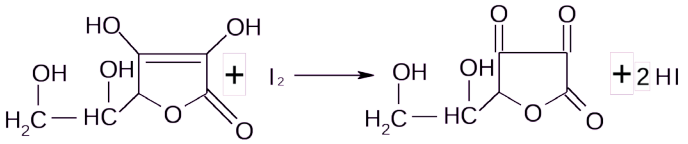


Рисунок 1. Окисление аскорбиновой кислоты молекулярным иодом

Поэтому для определения массовой доли основного вещества в используемом стандартном образце были использованы методы кислотно-основного и иодометрического титрования.

Результаты расчета массовой доли аскорбиновой кислоты предоставлены в таблице 1. Среднее значение массовой доли аскорбиновой кислоты составило 98,5±0,6%.

Таблица 1 – Расчет массовой доли аскорбиновой кислоты

Кислотно-основное титрование, w %	Йодометрическое титрование, w %
98,6±0,6	98,4±0,6

Для определения антиоксидантной активности растительного сырья согласно литературным данным рекомендовано инверсное титрование раствора перманганата калия водным извлечением из растительного сырья. В предварительных экспериментах было изучено инверсное титрование раствора перманганата калия стандартным раствором аскорбиновой кислоты. Согласно литературным данным при окислении C6H8O6 перманганат-ионом в кислой среде могут образовываться две кислоты (щавелевая и L-изомер треоновой кислоты) в различных соотношениях в зависимости от условий проведения реакции, поэтому невозможно корректно установить фактор эквивалентности при выполнении титрования. Схема реакции окисления представлена на рисунке 2.

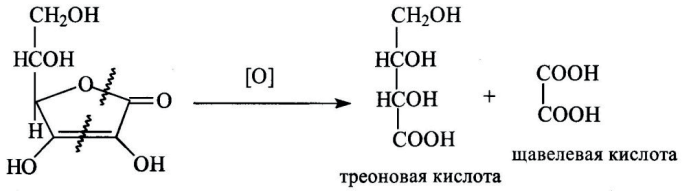


Рисунок 2. Окисление аскорбиновой кислоты перманганатом калия

Вследствие чего было рассчитано соответствие 1 мл раствора $KMnO_4$ массе C6H8O6 с учетом найденной ранее массовой доли. Установлено, что 1 мл перманганата калия соответствует 2,4226 мг аскорбиновой кислоты. Аналогичный подход используется в литературе [1].

Было изучено применение перманганатометрии для определения антиоксидантной активности плодов шиповника, а также проводилось определение содержания аскорбиновой кислоты методом йодометрии согласно фармакопее РФ XIII.

Расчет показателя антиоксидантной активности, которому соответствует концентрация биологически активных веществ восстанавливающего характера в пересчете на аскорбиновую кислоту проводили по формуле:

$$B = \frac{m_a V_o}{m_n V_x} \times 100\%,$$

где B – концентрация биологически активных веществ восстанавливающего характера плодов шиповника, израсходованных на титрование 1 мл 0,05 н раствора перманганата калия, мг/г;

m_a – масса аскорбиновой кислоты, которая соответствует 1 мл перманганата калия, мг;

V_o – аликвота перманганата калия, мл;

V_x – объем настоя шиповника, затраченный на титрование, мл;

m_n – масса навески плодов шиповника, г.

Результаты экспериментов приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Расчет антиоксидантной активности плодов шиповника

Условия эксперимента	В, мг/г	Антиоксидантная активность
без нагревания	2,23	24,14 %
с нагревании	2,55	25,45 %

Полученные результаты свидетельствуют, что настаивание пробы в течение 15 мин достаточно для количественного извлечения антиоксидантов из плодов шиповника.

Было проведено определение содержания аскорбиновой кислоты йодометрическим титрованием. С учетом имеющихся литературных данных о содержании аскорбиновой кислоты в шиповнике в качестве титранта использовали 0,002 н раствор йода (полученный разбавлением исходного раствора в 50 раз), индикатор 0,1 % раствор свежеприготовленного крахмала, аликвота настоя шиповника составила 20 мл, 10 мл 2 н соляной кислоты. По результатам эксперимента установлено, что в пробе плодов шиповника содержится 0,6±0,1% аскорбиновой кислоты.

Результаты определения свидетельствуют о возможности использования плодов шиповника в качестве источника антиоксидантов. Антиоксидантная активность плодов шиповника обусловлена присутствием органических соединений различных классов, поскольку она существенно выше содержания аскорбиновой кислоты. Температурные условия проведения эксперимента незначительно влияют на полученные результаты по определению антиоксидантной активности.

Цели работы были достигнуты, а также сформирована теоретическая база для дальнейших исследований данной темы.

ЛИТЕРАТУРА

1.Способ определения антиокислительной активности: пат. Рос. Федерация. N 217930. Заявл. 2000111126/14, 05.05.2000. Опубл. 20.07.2001. 6 с.

2. ГОСТ 1994-93 Плоды шиповника. Технические условия.

3. Методы количественного определения витаминов. ОФС.1.2.3.0017.15 // Государственная фармакопея РФ. XIII изд. 2015. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v13/vol1/#798

SUMMARY

DETERMINATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ROSE HIPS

Storozhik V.E., 2th year students
Academic advice: **Nikitina T.G.**, PhD in Chemistry, docent
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
Email: valeriya.storozhik@spcpu.ru

The determination of the antioxidant activity of rose hips by the method of permanganatometry and the determination of the content of ascorbic acid by the method of iodometry were carried out. The results of the determination indicate the possibility of using rose hips as a source of antioxidants.

Keywords: *antioxidants, antioxidant activity, rose hips, permanganatometry, iodometry, ascorbic acid.*

REFERENCES

1. OFS.1.2.3.0017.15 State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII ed. 2015. [Internet] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v13/vol1/#7982.

2. GOST 1994-93. Fruits of sweet-brier.. Specifications.

3. Maksimova T.V. «Method for determining antioxidant activity» https://patents.s3.yandex.net/RU2170930C1_20010720.pdf

УДК 61:615.07

ПОЛУЧЕНИЕ И ОЧИСТКА ФРАКЦИЙ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ КОРНЕПЛОДОВ *APIUM GRAVEOLENS L.*

Сурбеева Е.С., асп. 1 года обучения; **Комова С.И.**, студ. 4 курса
Руководитель: **Тернинко И.И.**, докт. фарм. наук, доцент, начальник ИЛ (ЦККЛС),
профессор кафедры фармацевтической химии (ORCID: 0000-0002-2942-1015)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: sofya.komova@spcpu.ru

Из сырья сельдерея корневого были выделены фракции полисахаридов (ПС): спирторастворимые (СРПС), водорастворимые (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ) и гемицеллюлоза (ГЦ). Гравиметрическая оценка показала первичный

выход ПС в сумме 23,08 ± 0,98%. Примесь азотсодержащих соединений, которую определяли методом Къельдаля, составила 0,42 ± 0,08 % (СРПС), 1,29 ± 0,25 % (ВРПС), 3,02 ± 0,17 % (ПВ). Очистка ПС методом Севага продемонстрировала частичное снижение азотсодержащих соединений и значительное удаление примеси других балластных веществ из фракций ПС, количество которых после очистки составило 2,42 ± 0,36 %(СРПС), 7,60 ± 0,45 % (ВРПС), 1,11 ± 0,28 % (ПВ) на 100,0 г сырья корневой формы сельдерея пахучего.

Ключевые слова: *Apium graveolens L., полисахаридные фракции, очистка полисахаридов, метод Къельдаля, метод Севага, коррекция метаболических нарушений.*

На сегодняшний день поиск биологически активных веществ (БАВ), которые имеют потенциальное влияние на различные звенья нарушения метаболизма и, как следствие, могут применяться в терапии ожирения и ассоциированных с ним заболеваний – одно из актуальных направлений исследований ввиду широкой прогрессии данной патологии.

В последние годы интерес ученых сфокусирован на исследовании полисахаридов природного, в особенности растительного происхождения, их биологической активности и возможности применения, в том числе, для коррекции метаболических нарушений. В настоящее время очищенные полисахариды, а также содержащее полисахариды растительное сырье, используются в качестве функциональных антиоксидантных ингредиентов в пищевых и фармацевтических продуктах. Важнейшим аспектом в изучении растительных полисахаридов является их потенциальная эффективность в лечении ожирения, атеросклероза, гепатоза и т.д. Ряд растений, известных как вспомогательные средства в лечении ожирения (*Aloe vera, Simaba ferruginea, Baccharis trimera, Garcinia cambogia, Tournefortia paniculate*, *Apium graveolens*), обладают антиоксидантными свойствами, что важно для профилактики и терапии сопутствующих патологий, таких как диабет, сердечно-сосудистые заболевания и др. [1, 2, 3].

Одним из возможных механизмов действия полисахаридов, который реализуется в терапии ожирения, является регуляция термогенных генов, включая UCP-1 (uncoupling protein 1), PGC-1α (Peroxisome proliferator-activated receptor-γ co-activator-1α) и другие. Так, полисахариды, выделенные из *Anoectochilus Roxburghii* [5], способствуют термогенезу жира через сигнальный путь AMPK (AMP-dependent kinase)/SIRT1/PGC-1α.

Сельдерей пахучий является пищевой культурой, применяемой в диетологии и в спортивном питании. Экспериментальные данные [6] показывают, что извлечения из сельдерея способны уменьшать уровень глюкозы и липидов в крови, а также снижать кровяное давление. Помимо этого, сельдерей пахучий демонстрирует эффективность в снижении массы тела и инсулинорезистентности у мышей с индуцированным ожирением, вызванным диетой с высоким содержанием жиров [7]. В корневой форме сельдерея ранее были обнаружены различные фракции полисахаридов [4].

Данные литературы, которые говорят об эффективности полисахаридных комплексов в терапии метаболических нарушений, а также наличие этой группы БАВ в сырье сельдерея, наряду с достаточными сырьевыми запасами, обуславливает перспективность изучения корнеплодов сельдерея пахучего.

Цель работы – получение и очистка полисахаридных фракций корневой формы *Apium graveolens* L.

Задачи исследования:

1. Получить отдельные фракции полисахаридных комплексов: спирторастворимые (СРПС), водорастворимые (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ), гемицеллюлоза (ГЦ) из корнеплодов сельдерея и оценить их количественное содержание;

2. Провести количественную оценку азотсодержащих примесей в полученных фракциях полисахаридов методом Къельдаля;

3. Провести очистку от азотсодержащих соединений (т.ч. пептидов /белков) и других балластных веществ методом Севага и оценить ее удовлетворительность.

В качестве объекта исследования использовали корнеплоды сельдерея пахучего. Сырье приобретали как пищевое в сети супермаркетов Санкт-Петербурга. По информации на упаковке сырье заготовлено в октябре 2021 года, страна происхождения – Россия, сорт – «Каскаде». Корнеплоды разрезали на куски размером приблизительно 5х5 см, толщиной около 1 см и высушивали методом естественной воздушно-теневой сушки, раскладывая толстым слоем с учетом правил сушки эфиромасличного сырья.

Обезжиривание проводили в аппарате Сокслета, в качестве органического растворителя использовали хлороформ. В патрон помещали около 20,0 г предварительно взвешенного измельченного сырья. Процесс обезжиривания повторяли три раза (до полноты извлечения жиров). Далее проводили фракционирование полисахаридов:

100,0 г воздушно-сухого обезжиренного ЛРС экстрагировали 82% этанолом (соотношение сырье-экстрагент 1:10) при нагревании на кипящей водяной бане в течение 2 ч, периодически встряхивая для удаления частиц сырья со стенок колбы. Экстракцию проводили дважды новыми порциями растворителя. Полученные извлечения декантировали, фильтровали, объединяли, упаривали до минимального объема на ротационном испарителе, высушивали в сушильном шкафу до постоянной массы и взвешивали. Получали фракцию СРПС, которая содержала также сопутствующие спирторастворимые вещества (предположительно фенольной природы).

Воздушно-сухой шрот сырья, оставшегося после получения СРПС, экстрагировали 2 л горячей воды при нагревании до 95 °С в течение 1 ч при постоянном перемешивании. Повторное экстрагирование проводили в соотношении сырье-экстрагент 1:10. Полученные извлечения объединяли и упаривали до 1/5 первоначального объема. Полисахариды осаждали трехкратным количеством 96% этанола. Образовавшийся осадок отфильтровывали, последовательно промывали 96% этанолом, ацетоном, эфиром, высушивали до постоянной массы и взвешивали. Получали фракцию ВРПС.

Экстракцию шрота для получения ПВ проводили дважды смесью 0,5% растворов кислоты щавелевой и аммония оксалата (1: 1) в соотношении сырье-экстрагент 1: 20 при температуре 80-85 °С 2 ч. Полученные вытяжки объединяли,

концентрировали и осаждали пятикратным количеством 96% этанола. Осадки отфильтровывали, промывали этанолом, высушивали до постоянной массы и взвешивали.

Фракцию гемицеллюлозы (ГЦ) выделяли из шрота, оставшегося после последовательного получения СПРС, ВРПС и ПВ путем двукратной экстракции 7% раствором натрия гидроксида в соотношении сырье-экстрагент 1:5 при комнатной температуре в течение 12 ч. Щелочные экстракты объединяли, добавляли двукратное количество 96% этанола. Осадок отфильтровывали, промывали этанолом, высушивали до постоянной массы и взвешивали.

Содержание различных фракций полисахаридов (X, %) определяли гравиметрически по формуле:

$$X = \frac{mгр.ф.}{mн} * 100\%$$

Спектральную чистоту (поглощающую способность в УФ-области) полученных фракций оценивали в спиртовых (этанол 70%) вытяжках (для СПРС – растворах) на спектрофотометре «СФ-2000» (Россия).

Количество азотсодержащих соединений в полученных фракциях определяли методом Къельдаля в соответствии с ОФС.1.2.3.0011.15 [8] на автоматическом анализаторе азота с потенциометрическим титратором (BUCHI, Швейцария). Точную массу навески полисахаридных фракций (около 0,4 г для неочищенных фракций и около 0,2 г для фракций после очистки) переносили в колбы для сжигания, в каждую колбу помещали таблетку для сжигания (K_2SO_4 4,98 г + $CuSO_4$ 0,02 г) и 7 мл концентрированной серной кислоты. Колбы нагревали до тех пор, пока растворы не становились прозрачными, и продолжали нагревание в течение еще 30 минут. Далее проводили отгонку с водяным паром, предварительно добавив 20 мл воды и 30 мл натрия гидроксида (42%). Отгон собирали в 30 мл борной кислоты (концентрация 40 г/л). Полученный дистиллят титровали 0,025 М серной кислотой, конечную точку титрования определяли потенциометрически.

Очистку от азотсодержащих соединений проводили методом Севага [9] для каждой из фракций. Раствор Севага готовили в соотношении хлороформ-н-бутанол 4:1. Фракции полисахаридов растворяли в воде в соотношении 1:100, добавляли раствор Севага в соотношении к водному раствору 1:1, интенсивно встряхивали 10 минут. Затем смесь центрифугировали при 4500 об/мин 10 минут. Верхний слой аккуратно декантировали от органического слоя и денатурированных белков. Для каждой фракции полисахаридов процесс повторяли три раза. После этого очищенные водные растворы лиофилизировали. Коэффициент потери в массе (КПМ) после очистки рассчитывали по формуле:

$$КПМ = \frac{m\ фракции\ после\ очистки}{m\ фракции\ до\ очистки}$$

КПМ учитывали при пересчете содержания азотсодержащих веществ в очищенных фракциях ввиду того, что в процессе очистки масса полисахаридной фракции уменьшалась.

В таблице приведены данные об органолептических характеристиках, количественном выходе и содержании примеси азотсодержащих соединений в различных фракциях полисахаридов корнеплодов сельдерея до и после очистки по методу Севага. Как видно из данных таблицы, наибольший количественный выход характерен для фракции ВРПС (14,80 ± 0,88%), а минимальный для фракции ГЦ (0,40 ± 0,08%). В целом, суммарное содержание полисахаридов в сельдерее корневом составило 23,08 ± 0,98%. Однако, данные значения могут быть отягощены ошибкой, связанной с тем, что изучаемые фракции могут содержать примеси белков и других балластных веществ, например, фенольного характера, что говорит о необходимости выбора оптимальных условий очистки и дальнейших исследований данных фракций.

Таблица – Сравнительная характеристика фракций полисахаридов до и после очистки

Фракция ПС	Описание		Содержание ПС в корнеплодах сельдерея, $\overline{X} \pm \Delta X\%$ (n=5)		Содержание азота во фракциях ПС, $\overline{X} \pm \Delta X\ \%$ (n=3)	
	До очистки	После очистки	До очистки	После очистки	До очистки	После очистки
СРПС	Мелкокристаллический порошок светло-коричневого цвета, с сильным сладким запахом	Аморфный порошок светло-бежевого цвета, без запаха	4,84 ± 0,72	2,42 ± 0,36	0,42 ± 0,08	0,35 ± 0,06 (без учета КПМ) 0,18 ± 0,02 (с учетом КПМ)
ВРПС	Кристаллический порошок темно-коричневого цвета со светлыми вкраплениями, со сладким запахом	Аморфный порошок с вкраплениями прозрачных кристаллов светло-коричневого цвета, без запаха	14,80 ± 0,88	7,60 ± 0,45	1,29 ± 0,25	0,98 ± 0,05 (без учета КПМ) 0,50 ± 0,03 (с учетом КПМ)
ПВ	Кристаллический порошок светло-коричневого цвета со слабым сладким запахом	Аморфный волокнистый порошок светло-бежевого цвета, без запаха	3,04 ± 0,76	1,11 ± 0,28	3,02 ± 0,17	2,57 ± 0,14 (без учета КПМ) 0,94 ± 0,05 (с учетом КПМ)

Фракция ПС	Описание		Содержание ПС в корнеплодах сельдерея, $\overline{X} \pm \Delta X\%$ (n=5)		Содержание азота во фракциях ПС, $\overline{X} \pm \Delta X\ \%$ (n=3)	
	До очистки	После очистки	До очистки	После очистки	До очистки	После очистки
ГЦ	Крупные кристаллы темно-коричневого цвета, без запаха	-	0,40 ± 0,08	-	-	-

Определение азота в неочищенных фракциях ПС методом Къельдаля показало, что наибольшее количество азотсодержащих соединений в пересчете на азот характерно для ПВ (3,04 ± 0,76%), а наименьшее – для СРПС (0,42 ± 0,08 %). Следовательно, можно сделать вывод, что использование спирта в качестве экстрагента существенно уменьшает выход азотсодержащих соединений (белков, пептидов и др.), в то время как использование кислоты щавелевой и аммония оксалата (1: 1) для выделения фракции ПВ способствовало изменению заряда белков / пептидов и увеличению их растворимости. Выход фракции ГЦ оказалось настолько мал, что анализ азотсодержащих соединений был нецелесообразен.

Анализ спектральной чистоты показал, что спиртовые (этанол 70%) вытяжки, полученные путем декантирования надосадочной жидкости после растворения для ВРПС и ПВ (для СПРС – растворение) анализируемых фракций имеют незначительное (А около 0,200) поглощение при λ=352 ± 2 нм, что характерно для фенилпропаноидов (н/р, шикиматного фрагмента флавоноидов или гидроксикоричных кислот).

Очистка смесью Севага привела к значительному (в 2-3 раза) уменьшению массы фракций. Так, КПМ ПС составил 0,51 для ВРПС, 0,50 для СРПС, 0,36 для ПВ. Следовательно, можно предположить, что метод Севага способствует очистке не только от белковых соединений, но и от других балластных веществ, которые соэкстрагируются при выделении ПС и соосаждаются в процессе очистки. Об очистке от балластных веществ свидетельствует и существенное изменение органолептических характеристик фракций ПС. Однако спектральная чистота фракций ПС после очистки не изменилась и все фракции имели незначительное поглощение при λ=352 ± 2 нм. Следовательно, при стандартизации фракций ПС в качестве фармацевтических субстанций растительного происхождения, отдельные группы БАВ фенольного характера нужно нормировать в качестве примесей.

После очистки смесью Севага содержание азота уменьшилось ориентировочно в 3 раза (при пересчете на первичный выход фракций с учетом КПМ) и составило 0,18 ± 0,02% для СРПС, 0,50 ± 0,03% для ВРПС и 0,94 ± 0,05% для ПВ. Однако добиться полной очистки фракций от азотсодержащих соединений не удалось.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что выход чистых фракций ПС из корнеплодов сельдерея составляется 2,42 ± 0,36 % для СРПС, 7,60 ± 0,45% для ВРПС и 1,11 ± 0,28 % для ПВ. Сумма очищенных ПС (с учетом ГЦ) составляет 11,33 ± 0,55 %.

Из корнеплодов сельдерея пахучего были получены и оценены количественно 4 фракции полисахаридов: СРПС (4,84 ± 0,72%), ВРПС (14,80 ± 0,88%), ПВ (3,04 ± 0,76%) и ГЦ (0,40 ± 0,08%). Общий выход полисахаридов составил 23,08 ± 0,98%, что говорит о перспективности исследования данной группы БАВ в связи с ее значительным накоплением.

Очистка от примесей азотсодержащих соединений по методу Севага привела к значительному (приблизительно в 2 раза) уменьшению массы полисахаридных фракций на фоне уменьшения (но не полного удаления) азотсодержащих соединений. Этот результат позволяет утверждать, что очистка методом Севага применима не только для удаления азотсодержащих соединений, но и других примесных соединений, которые соэкстрагируются совместно с ПС, о чем также косвенно свидетельствует уменьшение мутности водных растворов и органолептические свойства очищенных фракций ПС. Масса очищенных фракций ПС составила 2,42 ± 0,36 % для СРПС, 7,60 ± 0,45 % для ВРПС и 1,11 ± 0,28 % для ПВ, а общий выход ПС – 11,33 ± 0,55 %.

Учитывая, что по данным литературы ПС оказывают влияние на регуляцию различных метаболических нарушений, можно прогнозировать, что корнеплоды сельдерея пахучего, и собственно ПС фракции, являются потенциальными кандидатами для профилактики и лечения ожирения. Данные исследования создают предпосылки для изучения структурных особенностей ПС фракций, в т.ч. их мономерного состава, а также углубленного изучения влияния ПС (в качестве самостоятельных фитосубстанций) на течение ожирения.

Источник финансирования. Испытания проводили с использованием парка оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.31 Фармакогнозия
76.31.35 Фармхимия
61.00.00 Химическая технология. химическая промышленность
61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Antioxidant potential of herbal polysaccharides: An overview on recent researches / B. Mohanta [et al.] // Sensors International. 2022. N 3. P. 100158. https://doi.org/10.1016/j.sintl.2022.100158.

2. Simão A. Antioxidants from Medicinal Plants Used in the Treatment of Obesity // European Journal of Medicinal. Sciencedomain International. 2013. Vol. 3(3). P. 429–43. http://dx.doi.org/10.9734/ejmp/2013/3095.

3. Антиоксидантный статус сельдерея (Apium graveolens L.) / В.А. Харченко [и др.] // Овощи России. 2020. N 2. С. 82-86.

4. Sarmanovna T.Z. Phytochemical Study of Odorous Celery Root (Apium graveolens L.) Grown in the North Caucasus // Pharmacognosy Journal. EManuscript Services. 2019. Vol. 11(3). P. 527–30. http://dx.doi.org/10.5530/pj.2019.11.84.

5. Therapeutic Effect and Mechanism of Polysaccharides from Anoectochilus Roxburghii (Wall.) Lindl. in Diet-Induced Obesity / D. Tian [et al.] // Phytomedicine. 2022. 154031.: https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154031.

6. Anti-obesity effects of a mixed extract containing Platycodon grandiflorum, Apium graveolens and green tea in high-fat-diet-induced obese mice / B. Cho [et al.] // Experimental and Therapeutic Medicine. Spandidos Publications. 2020. http://dx.doi.org/10.3892/etm.2020.8493.

7. Beneficial effects of celery (Apium graveolens) on metabolic syndrome: A review of the existing evidences / N. Hedayati [et al.] // Phytotherapy Research. Wiley. 2019. Vol. 33(12). P.3040–53. http://dx.doi.org/10.1002/ptr.6492

8. ОФС.1.2.3.0011.15 «Определение азота в органических соединениях методом Къельдаля» // Государственная фармакопея РФ. XIV изд. Том I. М., 2018. [Электронный ресурс] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (Дата обращения: 02.02.2022)

9. Deproteinization in purification of exopolysaccharide from Ophiocordyceps sinensis olive oil – stimulated culture / H.L.T. Thuy [et al.] // International Journal of Agricultural Technology. 2018. Vol. 14(7). P. 2151-2162

SUMMARY

EXTRACTION AND PURIFICATION OF POLYSACCHARIDES FROM THE RAW MATERIAL OF THE ROOT FORM OF *APIUM GRAVEOLENS* L.

Surbeeva E.S., 1st year postgraduate student, **Komova S.I.**, 4th year student
Supervisor: **Terninko I.I.**, Doctor of Pharmacy, Associate Professor, Head of TL (CQCM),
Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry
(ORCID: 0000-0002-2942-1015)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

Fractions of polysaccharides (PS) were isolated from root celery raw material: alcohol-soluble (ASP), water-soluble (WSP), pectin substances (PtS), and hemicellulose (HC). Gravimetric evaluation showed a primary yield of PS totaling 23.08 ± 0.98%. The impurity of nitrogen-containing compounds, which was determined by the Kjeldahl method, was 0.42 ± 0.08% (ASP), 1.29 ± 0.25% (WSP), and 3.02 ± 0.17% (PtS). Purification of PS by Sevag method showed a partial reduction of nitrogen compounds and significant removal of impurities of other ballast substances from the PS fractions, which after purification amounted to 2.42 ± 0.36% (ASP), 7.60 ± 0.45% (WSP), 1.11 ± 0.28% (PtS) per 100.0 g of raw celery root form of fragrant.

Keywords: *Apium graveolens L., polysaccharide fractions, polysaccharide purification, Kjeldahl method, Sevag method, correction of metabolic disorders.*

REFERENCES

1. Antioxidant potential of herbal polysaccharides: An overview on recent researches / B. Mohanta [et al.] // Sensors International. 2022. N 3. P. 100158. https://doi.org/10.1016/j.sintl.2022.100158.

2. Simão A. Antioxidants from Medicinal Plants Used in the Treatment of Obesity // European Journal of Medicinal. Sciencedomain International. 2013. Vol. 3(3). P. 429–43. http://dx.doi.org/10.9734/ejmp/2013/3095.

3. Антиоксидантный статус сельдерея (Apium graveolens L.) / В.А. Харченко [и др.] // Овощи России. 2020. N 2. С. 82-86.

4. Sarmanovna T.Z. Phytochemical Study of Odorous Celery Root (Apium graveolens L.) Grown in the North Caucasus // Pharmacognosy Journal. EManuscript Services. 2019. Vol. 11(3). P. 527–30. http://dx.doi.org/10.5530/pj.2019.11.84.

5. Therapeutic Effect and Mechanism of Polysaccharides from Anoectochilus Roxburghii (Wall.) Lindl. in Diet-Induced Obesity / D. Tian [et al.] // Phytomedicine. 2022. 154031.: https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154031.

6. Anti-obesity effects of a mixed extract containing Platycodon grandiflorum, Apium graveolens and green tea in high-fat-diet-induced obese mice / B. Cho [et al.] // Experimental and Therapeutic Medicine. Spandidos Publications. 2020. http://dx.doi.org/10.3892/etm.2020.8493.

7. Beneficial effects of celery (Apium graveolens) on metabolic syndrome: A review of the existing evidences / N. Hedayati [et al.] // Phytotherapy Research. Wiley. 2019. Vol. 33(12). P.3040–53. http://dx.doi.org/10.1002/ptr.6492

8. OFS.1.2.3.0011.15 «Opredelenie azota v organicheskih soedinenijah metodom Kel'dalja» // Gosudarstvennaja farmakopeja RF. XIV ed. T. I. M., 2018. [Internet]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (Accessed: 02.02.2022) (in Russian)

9. Deproteinization in purification of exopolysaccharide from Ophiocordyceps sinensis olive oil – stimulated culture / H.L.T. Thuy [et al.] // International Journal of Agricultural Technology. 2018. Vol. 14(7). P. 2151-2162

УДК 615.12

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СРОКА ГОДНОСТИ ПОЛИВИТАМИННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ДЕТЕЙ

Сутайкина А.С., студ. 5 курса
Научные руководители: **Синева Т.Д.**, доцент, к. фарм. н, доцент каф. ТЛФ
Криштанова Н.А. к. фарм. н, доцент каф. фармацевтической химии
(ORCID: 0000-0002-4761-2077)
Алексеева Г.М., доцент, к. хим. н., зав. кафедрой аналитической химии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: sutaykina.arina@pharminnotech.com

Изучены подходы к установлению сроков годности экстемпорального поливитаминного средства для детей в виде сиропа, содержащего пять водорастворимых витаминов и сорбитол. Использованы два варианта технологии (термическая стерилизация и бактериальная фильтрация), позволяющие сократить микробиологическую контаминацию лекарственного средства, предназначенного для детей младшего возраста.

Подобраны необходимые условия и адаптированы методики химических (титриметрия) и физико-химических (спектрофотометрия, флуориметрия, рефрактометрия) методов анализа ингредиентов для установления стабильности лекарственного средства в виде сиропа. Разработана методика для совместного определения витаминов и сорбита с помощью высокочувствительного метода капиллярного электрофореза.

Ключевые слова: *поливитаминный сироп для детей, экстемпоральное изготовление, контроль качества, титриметрия, спектрофотометрия, флуориметрия, капиллярный электрофорез.*

Аптечное изготовление лекарственных препаратов играет важную роль в лекарственном обеспечении, особенно оно значимо для таких категорий населения, как дети и пожилые люди. Готовые лекарственные препараты промышленного производства не позволяют в полной мере удовлетворить потребности населения в фармакотерапии.

Ассортимент жидких поливитаминных средств для детей младшей возрастной категории на отечественном рынке невелик, к тому же в большинстве таких средств содержание витаминов отличается от рекомендуемой суточной нормы потребления, а также в их состав входит большой список вспомогательных веществ, которые могут причинить вред организму ребенка этой возрастной категории [1]. Экстемпоральные поливитаминные средства, имеющие промышленные аналоги, но не содержащие консервантов, красителей и иных неиндифферентных добавок, снижают риск возникновения побочных эффектов. Унификация и стандартизация индивидуальных прописей позволяет усовершенствовать их технологию, а использование современных методик фармацевтического анализа – установить и продлить сроки годности.

Целью данной работы является изучение подходов к установлению сроков годности экстемпорального поливитаминного средства для детей в виде поливитаминного сиропа, содержащего пять водорастворимых витаминов и сорбит.

Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. Подобрать вариант технологии, потенциально позволяющий увеличить срок годности поливитаминного средства для детей.

2. Подобрать способы определения стабильности полученного сиропа химическими и физико-химическими методами анализа.

В качестве объекта исследования был выбран поливитаминный препарат, содержащий пять водорастворимых витаминов – тиамина гидрохлорид, рибофлавин, пиридоксина гидрохлорид, аскорбиновую кислоту и никотиновую кислоту в сиропе сорбита. Содержание фармацевтических субстанций в нем соответствует рекомендуемым суточным нормам потребления для детей возрастной категории от 1 года до 3 лет [2].

Для определения стабильности лекарственного средства необходимо провести комплекс испытаний. Основным критерием был выбран химический контроль всех компонентов прописи [3]. В экспериментальной работе нами использовались как химические методы анализа, позволяющие определить количественное содержание компонентов в условиях производственной аптеки (титриметрия), так и современные высокочувствительные физико-химические методы анализа (рефрактометрия, спектрофотомерия, флуориметрия и капиллярный электрофорез), позволяющие определить стабильность и обосновать срок годности лекарственного средства.

На начальном этапе исследования нами выбраны два варианта технологии, позволяющие потенциально понизить микробиологическую контаминацию сиропа. Первый вариант заключается в приготовлении сиропа в асептических

условиях на предварительно простерилизованном растворе сорбита [4]. Второй вариант подразумевает изготовление в асептических условиях с последующей бактериальной фильтрацией готового сиропа.

Для количественного определения витаминов с помощью химических методов анализа использовался ряд методик, основывающихся на химических свойствах компонентов. Нами подобраны условия для определения тиамина гидрохлорида и пиридоксина гидрохлорида в сиропе прямой аргентометрией по методу Фаянса. Определение проводилось по сумме веществ со смешанным индикатором – эозинатом натрия и бромфеноловый синим.

Никотиновая кислота определялась прямой алкалиметрией совместно с аскорбиновой кислотой, тиамином гидрохлоридом и пиридоксином гидрохлоридом с индикатором бромтимоловым синим. Расчет содержания никотиновой кислоты проводили по разнице титрований.

Аскорбиновая кислота определялась независимым титрованием – прямой йодометрией без индикатора в той же навеске, что и алкалиметрия.

Для определения рибофлавина было подобрано два физико-химических метода анализа – спектрофотомерия и флуориметрия. Спектрофотомерия осуществлялась в видимой области, где не поглощают другие компоненты сиропа, при длине волны 445 нм со стандартным образцом рибофлавина.

Результаты титриметрических и спектрофотометрических определений соответствовали нормам допустимых отклонений [5].

Флуориметрическое определение концентрации рибофлавина селективно проводили при длине волны, при которой другие компоненты не мешают определению, около 440 нм.

Для определения содержания сорбитола применяли метод рефрактометрии. Расчет количества сорбитола в сиропе проводили с учетом содержания всех компонентов.

Одновременное определение витаминов и сорбита в одной пробе удалось осуществить с помощью высокоточного и экспрессного метода – метода капиллярного электрофореза [6]. Измерение проводилось со стандартными растворами витаминов и сорбита. На рисунке показана электрофореграмма поливитаминного сиропа.

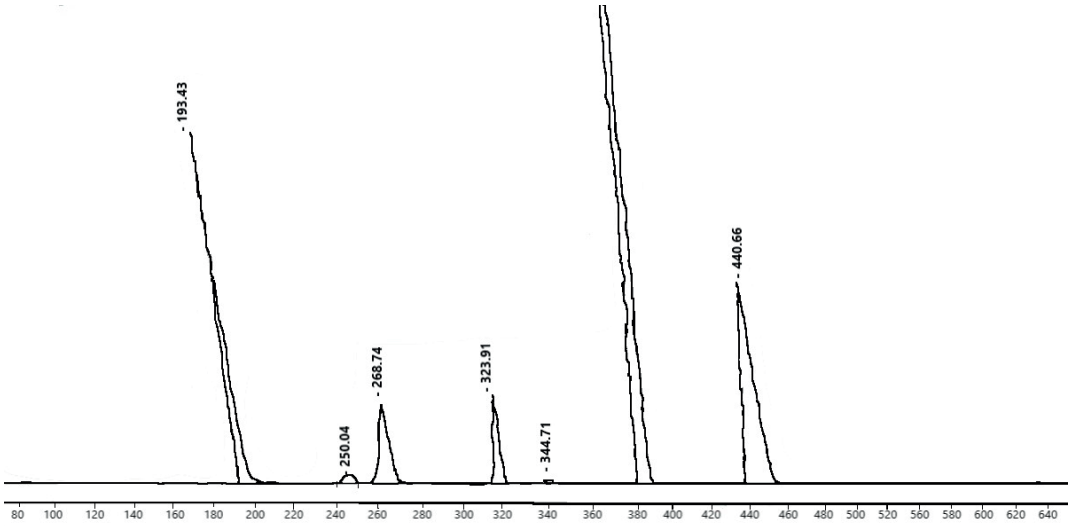


Рисунок. Электрофореграмма поливитаминного сиропа

Для установления отсутствия возможного разложения витаминов в процессе длительного хранения, помимо перечисленных методов анализа, планируется провести также хроматографию в тонком слое сорбента.

Все описанные методы анализа показали хорошую воспроизводимость и будут использованы для изучения стабильности ингредиентов сиропа в течение длительного хранения.

Таким образом, нами подобраны необходимые условия и методики химического и физико-химического анализа для оценки качества компонентов – изучения стабильности и сроков годности – детского поливитаминного сиропа экстемпорального изготовления. Разработаны два варианта технологии (термическая стерилизация и бактериальная фильтрация), позволяющие сократить микробиологическую контаминацию лекарственного средства, предназначенного для детей младшего возраста. Для изучения стабильности сироп заложен на длительное хранение.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочанова Н.Н. [и др.] Сравнительный анализ поливитаминов для детей // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020. N 23(11). С. 10-15. DOI: 10.29296/25877313-2020-11-02.

2. МР 2.3.1.0253-21 Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации, утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федера-

ции 22 июля 2021. // Роспотребнадзор. [Электронный ресурс] URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=18979 (дата обращения: 05.03.2022)

3. Контроль качества лекарственных средств аптечного изготовления - современное состояние и перспективы развития / М.П. Блинова [и др.] // Инновации в здоровье нации : сборник материалов III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. СПб., 2015. С. 12-15.

4. Перспективы изготовления детских экстемпоральных лекарственных форм и возможность их переведения на мелкосерийное производство / Т.Д. Синева [и др.] // Инновации в здоровье нации. СПб., 2018. С. 338-342.

5. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 26 октября 2015 г. №751н «Об утверждении правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность» // Роспотребнадзор [Электронный ресурс] URL: https://roszdravnadzor.gov.ru/drugs/documents/30045 (дата обращения: 05.03.2022)

6. Recent advances in vitamins analysis by capillary electrophoresis / X. Wang [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2018. N. 147. P. 278-287. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.07.030

SUMMARY

DEVELOPMENT OF ANALYSIS METHODS TO STUDY THE EXPIRY DATE OF A MULTIVITAMIN SUPPLEMENT FOR CHILDREN

Sutaykina A.S., 5th year student
Academic advise: **Sineva T.D.**, Associate Professor, Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Associate Professor of the Department of Technology of Dosage Forms,
Krishtanova N.A., Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry,
Alekseeva G.M., Associate Professor, Candidate of Chemical Sciences, Head of the Department of Analytical Chemistry,
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, Russian Federation, 14, Prof. Popov St., St. Petersburg,
E-mail: sutaykina.arina@pharminnotech.com

Approaches to setting the expiration date of an extemporaneous multivitamin preparation for children in the form of a syrup containing five water-soluble vitamins and sorbitol have been studied. Two technology options (thermal sterilization and bacterial filtration) were used to reduce the microbiological contamination of a drug intended for young children.

The necessary conditions were selected and the methods of chemical (titrimetry) and physicochemical (spectrophotometry, fluorimetry, refractometry) methods of analysis of ingredients were adapted to establish the stability of the drug in the form of a syrup. A technique has been developed for the joint determination of vitamins and sorbitol using a highly sensitive method of capillary electrophoresis.

Keywords: *multivitamin syrup for children, extemporaneous production, quality control, titrimetry, spectrophotometry, fluorimetry, capillary electrophoresis.*

REFERENCES

1. Sravnitel'nyj analiz polivitaminov dlja detej / N.N. Bochanova [et al.] // Voprosy biologicheskoj, medicinskoj i farmacevticheskoj himii. 2020. N 23(11). P. 10-15. DOI: 10.29296/25877313-2020-11-02. (in Russian)

2. MR 2.3.1.0253-21 Normy fiziologicheskih potrebnostej v jenergii i pishhevyh veshhestvah dlja razlichnyh grupp naselenija Rossijskoj Federacii, utverzhdeny Glavnym gosudarstvennym sanitarnym vrachom Rossijskoj Federacii 22 ijulja 2021. // Rospotrebnadzor. [Internet] URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=18979 (Accessed: 05.03.2022). (in Russian)

3. Kontrol' kachestva lekarstvennyh sredstv aptechnogo izgotovlenija - sovremennoe sostojanie i perspektivy razvitija / M.P. Blinova [et al.] // Innovacii v zdorov'e nacii : sbornik materialov III Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem. Saint-Petersburg, 2015. P. 12-15. (in Russian)

4. Perspektivy izgotovlenija detskih jekstemporal'nyh lekarstvennyh form i vozmozhnost' ih perevedenija na melkoserijnoe proizvodstvo / T.D. Sineva [et al.] // Innovacii v zdorov'e nacii. Saint-Petersburg, 2018. P. 338-342. (in Russian)

5. Prikaz Ministerstva zdravoohranenija RF ot 26 oktjabrja 2015 g. №751n «Ob utverzhdenii pravil izgotovlenija i otpuska lekarstvennyh preparatov dlja medicinskogo primenenija aptechnymi organizacijami, individual'nymi predprinimateljami, imejushhimi licenziju na farmacevticheskuju dejatel'nost'» // Rospotrebnadzor. [Internet]. URL: https://roszdravnadzor.gov.ru/drugs/documents/30045 (Accessed: 05.03.2022) (in Russian)

6. Recent advances in vitamins analysis by capillary electrophoresis / X. Wang [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2018. N. 147. P. 278-287. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.07.030

УДК 615.246.9

РАЗРАБОТКА СРЕДСТВ АНТИДОТНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЭТИЛЕНГЛИКОЛЕМ

Сыркова А.Н., студ. 4 курса
Научный руководитель: **Стрелова О.Ю.**, доц., зав. кафедрой фармацевтической химии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: aleksandra.syrkova@spcpu.ru

Отравления этиленгликолем, как компонентом технических жидкостей, встречаются довольно часто и нередко приводят к летальному исходу. Однако, в РФ нет ни одного зарегистрированного специфического антидота. Инфузионный раствор 5% раствора этанола в 5% растворе глюкозы дает положительный результат при лечении интоксикации.

Ключевые слова: *этиленгликоль, отравление, летальная доза, антидот, стабильность, газовая хроматография.*

Острое отравление суррогатами алкоголя, в т.ч. этиленгликолем, являются актуальной медико-социальной проблемой. Согласно статистическим данным, отравления этиленгликолем занимают второе место среди интоксикаций техническими жидкостями. Доступность и недостаточная информированность населения о ядовитых свойствах этиленгликоля служат условием для возникновения отравлений. В большинстве случаев технически жидкости, содержащие этиленгликоль, принимают внутрь вместо алкогольного напитка с целью достижения наркотического эффекта. Основное значение в судебно-медицинской практике имеет пероральный путь введения. Прием уже 25-30 мл этиленгликоля может вызвать тяжелое и даже смертельное отравление, однако наибольшее число умерших от острого отравления принимало не менее 100-150 мл жидкости.

По данным судебно-химического отделений Бюро судебно-медицинской экспертизы на этиленгликоль было проанализировано и получены положительные результаты примерно в 8% случаев [1].

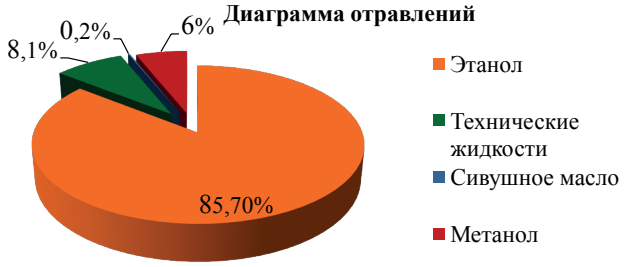


Рисунок 1. Статистика отравлений алкоголем и его суррогатами в России

Отравления этиленгликолем зачастую носят групповой, а в ряде случаев – массовый характер, отличаются значительной тяжестью, требуют длительного лечения. Проблема роста количества некачественных спиртных напитков и употребление с целью опьянения технических спиртсодержащих (в частности, этиленгликоль содержащих) жидкостей требует к себе внимания. По данным литературы, наиболее эффективным антидотом при отравлении этиленгликолем является этиловый спирт, механизм действия которого – биохимический антагонизм, конкурентное взаимодействие этиленгликоля и этанола с алкогольдегидрогеназой.

Несмотря на то, что инфузионные растворы широко представлены на Российском рынке лекарственных средств, среди них нет ни одного зарегистрированного препарата этанола для использования в качестве антидота для лечения отравлений токсифицирующимися спиртами, в т.ч. этиленгликолем. В настоящее время этанол медицинский 95% раствор разрешен к применению в РФ только в качестве антисептического и дезинфицирующего средства для наружного применения [2].

Целью данного исследования является оценка эффективности применения 5% раствора этанола в 5% растворе глюкозы для инфузии при отравлении этиленгликолем.

Задачи исследования:

1) проверка стабильности инфузионного раствора по показателю количественного содержания этанола в пределах предположительного срока годности;

2) разработка методики количественного определения этиленгликоля в биологических жидкостях;

3) планирование эксперимента на животных по интоксикации этиленгликолем и введением инфузионного раствора для определения его фармакокинетических параметров.

Объектом исследования является 5% раствора этанола в 5% растворе глюкозы для инфузии. Для получения биологической жидкости (мочи) использовали лабораторных животных белых беспородных мышей средней массой тела 22-28 г.

Количественное содержание этанола в инфузионном растворе определялось методом газовой хроматографии. Анализ проводился на хроматографе «Shimadzu GC – 2010», детектор – пламенно-ионизационный, колонка Stabiwax-Rtx, газ носитель – гелий, температура инжектора – 250^{0}С, температура колонки – режим градиент: начальная температура – 50^{0}С, 2 мин со скоростью 100С/мин до 65^{0}С, 3 мин со скоростью 50С/мин до 90^{0}С, 5 мин со скоростью

50С/мин до 120°С, температура детектора – 250°С, давление газа носителя – 93,8 кПа, поддув – 30 см3/мин, скорость водорода 40 см3/мин, воздух – 400 см3/мин, коэффициент разделения – 100.

Методика: в мерную колбу на 100 мл помещают 5 мл испытуемого раствора, 5 мл 5% раствора пропанола (внутренний стандарт), раствор доводят до метки водой очищенной. Отбирают 1 мкл полученного раствора и вводят в хроматограф. Расчет проводится по градуировочной кривой (рис. 2), которая была предварительно построена на модельных смесях.

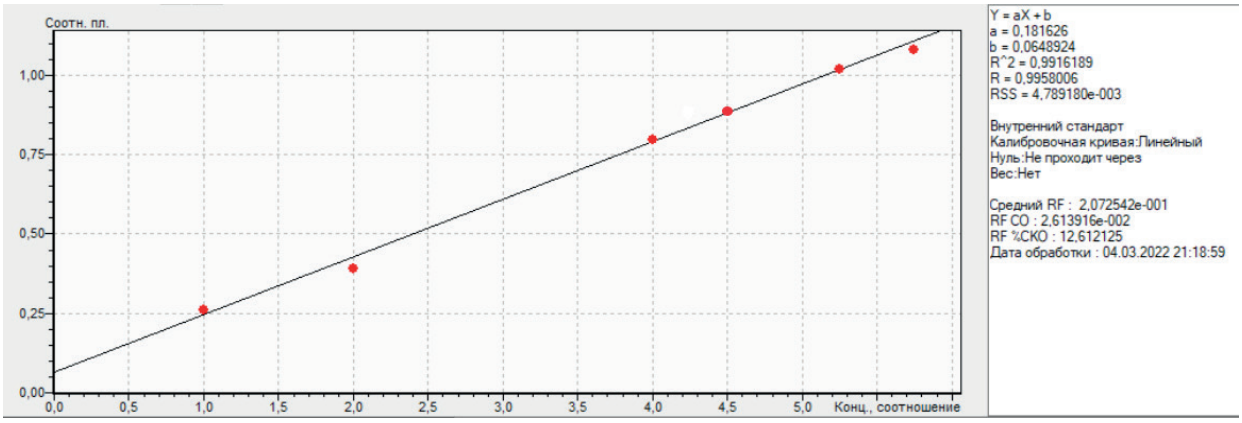


Рисунок 2. Градуировочный график количественного определения этанола методом ГЖХ

Разработана методика для количественного определения этиленгликоля в биожидкости (моче). Анализ проводился на хроматографе «Shimadzu GC – 2010», детектор – пламенно-ионизационный, колонки Stabiwax-Rtx, газ носитель – гелий, температура инжектора – 250°С, температура колонки – режим градиент: начальная температура – 50°С, 2 мин со скоростью 10°С/мин до 65°С, 3 мин со скоростью 5°С/мин до 90°С, 5 мин со скоростью 5°С/мин до 120°С, температура детектора – 250°С, давление газа носителя – 93,8 кПа, поддув – 30 см^3/мин, скорость водорода 40 см^3/мин, воздух – 400 см^3/мин, коэффициент разделения – 100.

Методика: мочу предварительно центрифугируют и фильтруют, отбирают 1 мкл биожидкости и вводят в дозатор хроматографа. Расчет проводят по градуировочной кривой (рис. 3), построенной на модельных смесях.

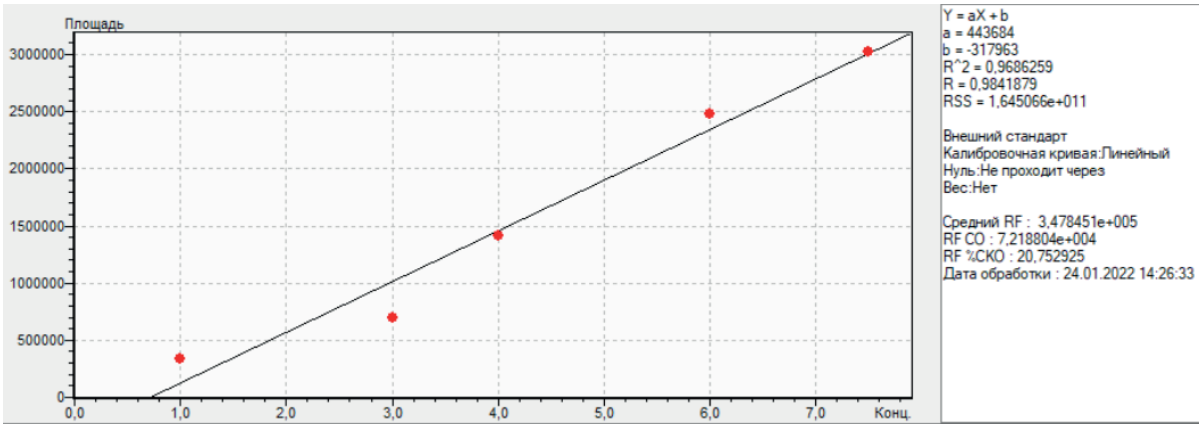


Рисунок 3. Градуировочный график для количественного определения этиленгликоля в биологических жидкостях методом ГЖХ

В 2019 г. на кафедрах фармацевтической химии и промышленной технологии лекарственных препаратов ФГБОУ ВО СПХФУ была разработана технология и определены параметры качества 5% раствора этанола в 5% растворе глюкозы для инфузии. Григорьевой М.А. с соавт. была разработана технология изготовления инфузионного 5% раствора этанола в 5% растворе глюкозы. Установлено, что для повышения стабильности раствора необходимо добавление стабилизатора Вейбеля. Методика: в мерную колбу на 1000 мл добавлялось 800 мл воды для инъекций, 50,00 г безводной глюкозы, 0,26 г натрия хлорида, растворялось. Далее раствором кислоты хлористоводородной 0,1 М доводилось pH раствора до 3,0-4,0. Добавлялось 51,53 мл этанола, перемешалось, а затем доводилось водой для инъекций до 1000 мл, фильтровалось. Стерилизовалось при 120°С – 15 мин [3, 4].

Изучение стабильности и сроков годности раствора Григорьева М.А. проводила методом ускоренного испытания. Оценку качества раствора проводила по показателям: описание, pH, видимые механические включения, прозрачность, цветность, качественный и количественный анализ действующих веществ. Исходя из данных Григорьевой М.А. предположительный срок годности инфузионного раствора – 3 года [3].

Мы продолжили исследования по изучению стабильности изучаемого раствора. Была исследована серия инфузионного раствора, приготовленного Григорьевой М.А. (март 2019 г), т.е. с истекающим сроком годности. Часть растворов данной серии хранилась в холодильнике при температуре 2 – 8°С, другая при комнатной температуре 15 – 25°С в защищенном от света месте.

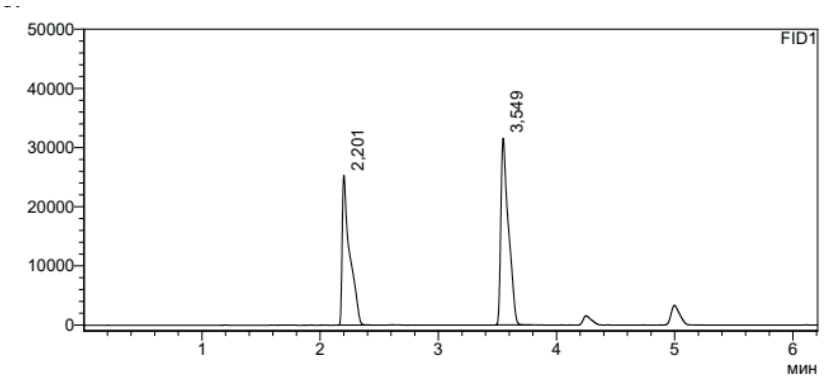


Рисунок 4. Хроматографическое определения (ГЖХ) этанола в изучаемом растворе

Было установлено, что раствор стабилен в течение установленного срока годности как при хранении в холодильнике (4,608 %), так и при хранении при комнатной температуре (4,739%), отклонение содержания действующего вещества не превышает установленного Государственной Фармакопеей значения.

Была разработана методика количественного определения этиленгликоля для анализа биологической жидкости (мочи) мышей. Получен градуировочный график (рис. 3). На рисунке 5 показана хроматограмма чистого этиленгликоля.

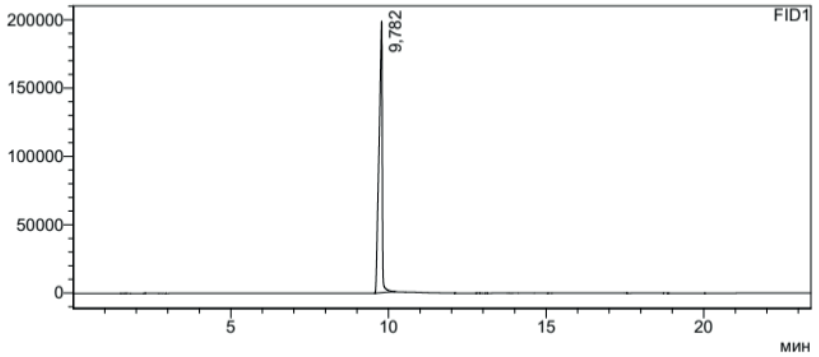


Рисунок 5. Хроматографическое определения (ГЖХ) чистого этиленгликоля

На втором этапе исследования начали проводить эксперимент на животных. Изначально его планировалось проводить на беспородных крысах, но животные не погибали при введении ориентировочной летальной дозы этиленгликоля. Поэтому в качестве тест-системы были выбраны белые беспородные мыши. Животные разделены на 3 группы, две группы по 6 мышей в каждой и одна группа 8 мышей.

1-ая группа (8 мышей) – интоксикация этиленгликолем. Проводится эксперимент по показателю выживаемости лабораторных животных. Животным перорально через зонд вводится этиленгликоль с определенным шагом дозы для определения летальной дозы, вызывающей гибель 50% подопытных животных (LD 50).

2-ая группа – контрольная (6 мышей) – интоксикация этиленгликолем в летальной дозе. Животным перорально через зонд вводится этиленгликоль в летальной дозе (ЛД50). Производится сбор мочи, далее проводится её исследовании методом прямого ввода пробы в газовый хроматограф.

3-ая группа – опытная (6 мышей) – интоксикация этиленгликолем + антидот. Животным перорально через зонд вводится этиленгликоль в летальной дозе (ЛД50). Через 30 минут после введения этиленгликоля внутрибрюшинно вводится инфузионный раствор этанола. Введение антидота производится в течение 5 суток утром и вечером, так же 2 раза в сутки собирается моча, а затем её исследуют методом прямого ввода пробы в газовый хроматограф.

На сегодняшний день представленный эксперимент не завершен. В дальнейшем будет проводится непосредственная интоксикация подопытных животных и введение антидота для предоставления результатов количественного определения этиленгликоля в моче.

Таким образом, в ходе выполненного этапа исследования было установлено, что 5% раствор этанола в 5% растворе глюкозы для инфузии стабилен при хранении в течение 3 лет при комнатной температуре. Разработана методика количественного определения этиленгликоля в моче лабораторных животных и разработана схема эксперимента для дальнейшего определения фармакокинетических показателей изучаемого раствора.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

ЛИТЕРАТУРА

1. О состоянии санитарно-эпидемиологического здоровья населения в РФ в 2015 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2016. 200 с.

2. Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный ресурс] URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx (дата обращения: 3.03.2022).

3. Разработка показателей качества инфузионного раствора этилового спирта в растворе глюкозы в качестве антидота при отравлении суррогатами алкоголя / М.А. Григорьева [и др.] // Фармация. 2021. Т. 70. N 1. С. 18–24.

4. Определение фармакокинетических характеристик инфузионного раствора этанола как антидота при отравлении метанолом / А.М. Плахова [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серии: Химия. Биология. Фармация. 2021. N 2. С. 97-104

5. Государственная Фармакопея РФ. Т. I-IV. 14-е изд. [Электронный ресурс]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (дата обращения: 3.03.2022).

SUMMARY

DEVELOPMENT OF ANTIDOTIC THERAPY FOR ETHYLENE GLYCOL POISONING

Syrkova A.N., 4th year bachelor
Academic advise: **Strelova O.Y.**, docent, head of the department of pharmaceutical chemistry
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: aleksandra.syrkova@spcpu.ru

Ethylene glycol poisoning, as a component of technical fluids, is quite common and often leads to death. However, in the Russian Federation there is not a single registered specific antidote. An infusion solution of 5% ethanol solution in 5% glucose solution gives a positive result in the treatment of intoxication.

Keywords: *ethylene glycol, poisoning, lethal dose, antidote, stability, gas chromatography.*

REFERENCES

1. On the state of sanitary and epidemiological health of the population in the Russian Federation in 2015: State report. Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2016. P. 200 (in Russian)

2. State register of medicines. [Internet]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx (date of treatment: 03.03.2022). (in Russian)

3. Development of indicators of the quality of an infusion solution of ethyl alcohol in a solution of glucose as an antidote for poisoning with alcohol surrogates / M.A. Grigorieva [et al.] // Pharmacy. 2021. V. 70(1). P. 18–24. (in Russian)

4. Determination of pharmacokinetic characteristics of ethanol infusion solution as an antidote for methanol poisoning / A.M. Plakhova [et al.] // Bulletin of the Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. 2021. N 2. P. 97-104(in Russian)

5. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. T. I-IV. 14th ed. [Internet]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (date of treatment: 03.03.2022). (in Russian)

УДК 61:615.322

ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАВЫ ХОХЛАТКИ КРУПНОПРИЦВЕТНИКОВОЙ (*CORYDALIS BRACTEATA*)

Топоркова В.И., асп. 1 года обучения (ORCID: 0000-0002-5985-5156),
Понкратова А.О., асп. 3 года обучения (ORCID: 0000-0003-4879-9336),
Уэйли А.К., м.н.с. (ORCID: 0000-0002-4847-5924)
Руководитель: **Гончаров М.Ю.**, докт. биолог. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: toporkova.valeriya@pharminnotech.com

Растения рода Corydalis применяются в восточной медицине для лечения различных заболеваний за счет содержания в них большого количества биологически активных веществ (алкалоидов, полифенольных соединений). Хохлатка крупноприцветниковая (*Corydalis bracteata* (Steph. ex Willd.) Pers.), относящаяся к данному роду, широко распространена на территории Российской Федерации и может являться потенциальным источником фармакологически активных молекул. Однако химический состав растения практически не изучен, поэтому целью исследования становится проведение фитохимического анализа травы хохлатки крупноприцветниковой путем выделения индивидуальных веществ и определения их структуры с использованием современных физико-химических методов.

Ключевые слова: *хохлатка крупноприцветниковая, Corydalis, Corydalis bracteata, алкалоиды, флавоноиды, вторичные метаболиты.*

Одной из главных задач современной фармации является поиск новых фармакологически активных соединений. На сегодняшний день одним из источников биологически активных молекул, используемых в фармацевтической промышленности, считаются растения. Однако химический состав большинства растений, обладающих потенциальной фармакологической активностью, практически не изучен.

Хохлатка крупноприцветниковая (*Corydalis bracteata* (Steph. ex Willd.) Pers) представляет собой многолетнее травянистое растение с шаровидным клубнем, одним чешуевидным листом при основании, двумя-тремя длинночерешковыми тройчатосложными вышерасположенными листьями и крупными желтыми цветками с восходящим шпорцем. Растение широко распространено в Восточной и Западной Сибири, Алтайском крае и Монголии.

Хохлатка крупноприцветниковая относится к растениям рода *Corydalis*, которые широко используются в этнофармакологии стран Восточной Азии как средство для лечения воспалительных процессов [1], язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, ревматизма, заболеваний кожи, печени и сердечно-сосудистой системы [2, 3]. Также они способны оказывать противоопухолевое [4], противосудорожное действие и применяться в сопутствующей терапии нейродегенеративных заболеваний [5]. Такой широкий диапазон применения в медицине растений рода *Corydalis* обуславливается содержанием большого количества вторичных метаболитов, таких как флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты и алкалоиды [6], которые могут обладать различной фармакологической активностью. Ранее в *C. bracteata* методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС) были идентифицированы 12 алкалоидов, однако выделение их в индивидуальном виде из *C. bracteata,* наряду с изучением химического состава соединений, относящихся к другим классам, в данном растении ранее не проводилось [2]. Таким образом, целью исследования является фитохимический анализ травы *C. bracteata* путем выделения вторичных метаболитов в индивидуальном виде и установления их структуры с помощью современных физико-химических методов.

Задачами исследования являются:

1. Получение суммарного экстракта из травы хохлатки крупноприцветниковой методом мацерации с использованием 96% этилового спирта.

2. Проведение последовательной жидкостно-жидкостной (ЖЖ) экстракции с использованием растворителей различной полярности (гексан, дихлорметан, н-бутанол).

3. Очистка полученных после ЖЖ-экстракции фракций на колонках с сорбентами различной селективности (HP20, Sephadex LH-20, Silica gel) и выделение индивидуальных соединений с помощью препаративного выскоэффективного жидкостного хроматографа.

4. Установление структуры выделенных вторичных метаболитов с использованием современных физико-химических методов анализа – ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения.

Трава *C. bracteata* была собрана на территории ботанического института им В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.2).

Анализ фракций осуществляли методом аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе Prominence LC-20 (Shimadzu, Япония), оснащенном диодно-матричным детектором, при 235 и 280 нм. Применяли хроматографическую колонку SUPELCOSIL LC-18 (25 см × 4,6 мм) с размером частиц 5 мкм. Температура анализа – 40 °C. Время анализа – 50 минут. Скорость потока элюента 1 мл/мин. Объем вводимой пробы – 10 μL. Элюент: вода (компонент A), ацетонитрил (компонент B) с содержанием ТФУ. 0,1 % (с H2O:CH3CN 5:95 до H2O : CH3CN 0:100, по объему). Также полученные фракции анализировали методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) на приборе CAMAG (Швейцария) с использованием пластин для ВЭТСХ Merck HPTLC Silica gel 60 F254 plate (4–8 μm), в системе н-бутанол:уксусная кислота:вода (4:1:2).

Индивидуальные соединения выделяли с помощью метода открытой колоночной хроматографии на открытых стеклянных колонках с сорбентами различной селективности – Dianion® HP-20 (Supelco, Sigma-Aldrich, Япония) и Sephadex LH-20 (GE Healthcare, Швеция), и методом препаративной ВЭЖХ на приборе Smartlina (Knauer, Германия), оснащенном спектрофотометрическим детектором при длине волны 235 нм. Применялась препаративная хроматографическая колонка Kromasil C18 (25 см × 30 мм, с размером частиц 5 мкм). Скорость потока подвижной фазы – 40 мл/мин. Элюент: вода (компонент A), ацетонитрил (компонент B) с содержанием ТФУ 0,1 % (с H2O:CH3CN 5:95 до H2O : CH3CN 50:50, по объему).

Установление структуры выделенных соединений проводили с помощью методов одномерной и двумерной ЯМР-спектроскопии (Bruker Avance III 400 MHz, Германия) и масс-спектрометрии высокого разрешения (Q-TOF LCMS-9030 (Shimadzu, Japan). В качестве растворителя в ЯМР-экспериментах использовали ДМСО-d6.

Трава *C. bracteata* была предварительно высушена и подвергнута многократной экстракции этиловым спиртом 95%. Объединенные спиртовые экстракты выпаривали на вакуумно-ротационном испарителе (Heidolph, Германия) при 60 °C до объема 350 мл, после чего добавляли воду очищенную объемом 100 мл и проводили исчерпывающую жидкостно-жидкостную экстракцию с равным объемом н-гексана. Далее к водно-спиртовому остатку добавляли воду очищенную объемом 200 мл и последовательно проводили исчерпывающую жидкостно-жидкостную экстракцию с равными объемами дихлорметана и бутанола.

Дихлорметановую и бутанольную фракции выпаривали до сухого остатка на вакуумно-ротационном растворителе, растворяли в 95% и 50% спирте этиловом соответственно, после чего проводили очистку полученных экстрактов на открытых колонках с использованием различных сорбентов.

В результате анализа 1H и NOESY ЯМР-спектров, а также масс-спектров высокого разрешения была определена структура семи выделенных соединений, а именно алкалоида изохинолинового ряда – коптизин (**1**), и шести фенольных

соединений – рутин (**2**), никотифлорин (**3**), нарциссин (**4**), кверцетин-3-O-β-D-глюкопиранозид (**5**), кемпферол-3-O-β-D-глюкопиранозид (**6**) и ферулоилхинная кислота (**7**) (рис. 1).

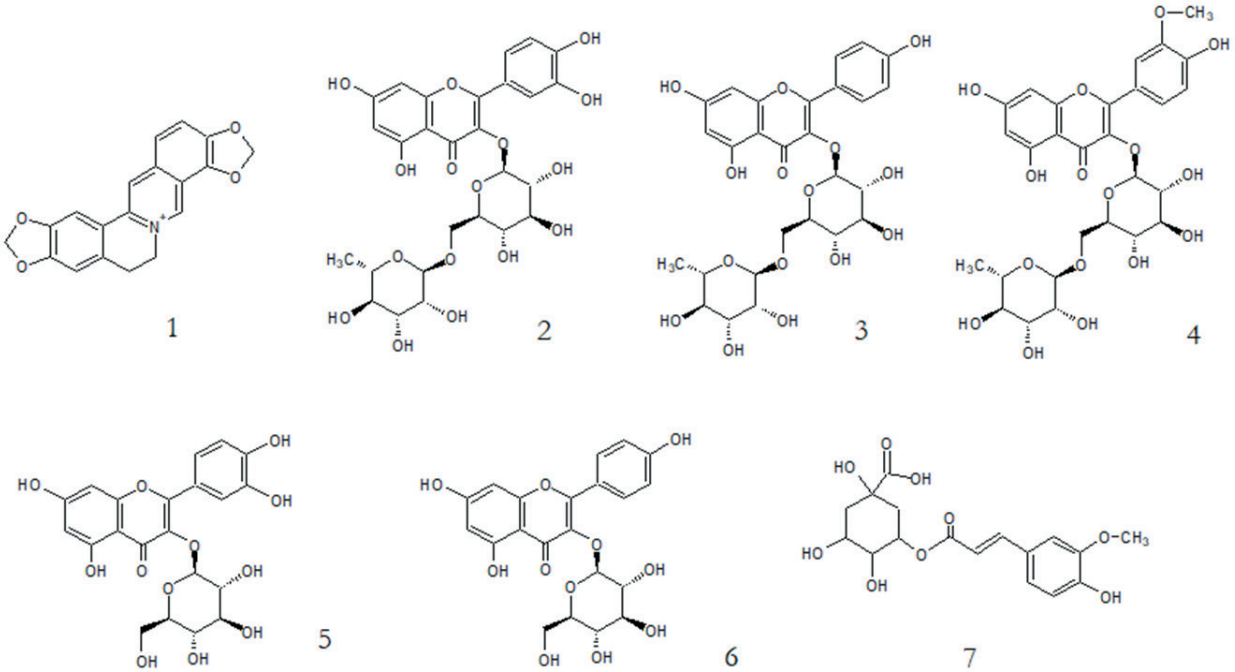


Рисунок 1. Структуры соединений: 1 – коптизин, 2 – рутин, 3 – никотифлорин, 4 – нарциссин, 5 – кверцетин-3-O-β-D-глюкопиранозид, 6 – кемпферол-3-O-β-D-глюкопиранозид, 7 – ферулоилхинная кислота

В результате проведенного фитохимического исследования из надземной части *C. bracteata* было выделено одно соединение, относящееся к классу алкалоидов, и пять соединений, относящихся к полифенольным соединениям. Структуры выделенных соединений установлены с помощью одномерной и двумерной ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения. Соединение **1** представляет собой алкалоид изохинолинового ряда– коптизин, соединение **2** – рутин, соединение **3** – никотифлорин, соединение **4** – нарциссин, соединение **5** и **6** – кверцетин-3-O-β-D-глюкопиранозид и кемпферол-3-O-β-D-глюкопиранозид, соответственно, а также соединение **7** – ферулоилхинная кислота. Соединения **2-7** обнаружены в *C. bracteata* впервые, а также все соединения были выделены выделены из травы хохлатки крупноприцветниковой. В дальнейшем планируется изучение фармакологической активности для выделенных соединений.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.31. Фармакогнозия

ЛИТЕРАТУРА

1. Bud development in corydalis (Corydalis bracteata) requires low temperature: a study of developmental and carbohydrate changes / N.V. Khodorova [et al.] // Annals of Botany. 2010. Vol. 105(6).P.891–903. DOI:10.1093/aob/mcq076.

2. Biosynthesis of benzylisoquinoline alkaloids in Corydalis bracteata: compartmentation and seasonal dynamics / N.V. Khodorova [et al.] // Phytochemistry. 2013. N.92. P.60–70. DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.04.008.

3. Iranshahy M., Quinn R.J., Biologically active isoquinoline alkaloids with drug-like properties from the genus Corydalis // RSC Advances. 2014. N.4. P.15900-15913. DOI: 10.1039/c3ra47944g.

4. A traditional Chinese medicine formulation consisting of Rhizoma Corydalis and Rhizoma Curcumae exerts synergistic anti-tumor activity / J.-L.Gao [et al.] // Oncology reports. 2009. N.22. P.1077-1083. DOI: 10.3892/or_00000539.

5. He Y., Xu W., Qin Y. Structural characterization and neuroprotective effect of a polysaccharide from Corydalis yanhusuo // International journal of biological macromolecules. 2020. N.157. P.759-768. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.180.

6. Nawrot R., Zauber H., Schulze W.X. Global proteomic analysis of Chelidonium majus and Corydalis cava (Papaveraceae) extracts revealed similar defense-related protein compositions // Fitoterapia. 2014. N.94. P.77-87. DOI: 10.1016/j.fitote.2014.01.01

SUMMARY

PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF CORYDALIS BRACTEATA PERS.

Toporkova V.I., 1nd year post-graduate student (ORCID: 0000-0002-5985-5156),
Ponkratova A.O., 3nd year post-graduate student (ORCID: 0000-0003-4879-9336),
Whaley A.K., Junior Scientific Researher (ORCID: 0000-0002-4847-5924)
Academic advise: **Goncharov M.U.**, Doctor of Biology, docent
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: toporkova.valeriya@pharminnitech.com

Plants of the genus *Corydalis* are used in oriental medicine for the treatment of various diseases for their content of a large amount of biologically active substances (alkaloids, polyphenolic compounds). *Corydalis bracteata Pers.* belong to this genus, it is widespread on the territory of the Russian Federation and is a potential source of molecules, which are capable to exert a pharmacological effect. However, the chemical composition of plants is practically not studied, therefore, the goal of the research is to conduct the phytochemical analysis of *Corydalis bracteata* through the isolation of individual compound and establishing structure using modern physicochemical methods.

Keywords: *Corydalis, Corydalis bracteata, alkaloids, flavonoids, secondary metabolites.*

REFERENCES

1. Bud development in corydalis (Corydalis bracteata) requires low temperature: a study of developmental and carbohydrate changes / N.V. Khodorova [et al.] // Annals of Botany. 2010. Vol. 105(6).P.891–903. DOI:10.1093/aob/mcq076.
2. Biosynthesis of benzylisoquinoline alkaloids in Corydalis bracteata: compartmentation and seasonal dynamics / N.V. Khodorova [et al.] // Phytochemistry. 2013. N.92. P.60–70. DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.04.008.
3. Iranshahy M., Quinn R.J., Biologically active isoquinoline alkaloids with drug-like properties from the genus Corydalis // RSC Advances. 2014. N.4. P.15900-15913. DOI: 10.1039/c3ra47944g.
4. A traditional Chinese medicine formulation consisting of Rhizoma Corydalis and Rhizoma Curcumae exerts synergistic anti-tumor activity / J.-L.Gao [et al.] // Oncology reports. 2009. N.22. P.1077-1083. DOI: 10.3892/or_00000539.
5. He Y., Xu W., Qin Y. Structural characterization and neuroprotective effect of a polysaccharide from Corydalis yanhusuo // International journal of biological macromolecules. 2020. N.157. P.759-768. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.180.
6. Nawrot R., Zauber H., Schulze W.X. Global proteomic analysis of Chelidonium majus and Corydalis cava (Papaveraceae) extracts revealed similar defense-related protein compositions // Fitoterapia. 2014. N.94. P.77-87. DOI: 10.1016/j.fitote.2014.01.015

УДК 543-4

АТТЕСТАЦИЯ ПЕРВИЧНОГО СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА НОВОГО АНАЛЬГЕЗИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА 1-ФЕНИЛ(ФЕНИЛИМИНО)МЕТИЛ)ПИРРОЛИДИН-2,5-ДИОНА

Труханова Ю.А., магистрант 2 курса
Научные руководители: **Алексеева Г.М.,** кандидат хим. наук,
Яковлев И.П., доктор хим. наук, профессор
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.14, лит А, Российская Федерация
E-mail: truhanova.yuliya@pharminnotech.com

В настоящей работе с помощью рентгеноструктурного анализа (XRD), анализа ВЭЖХ-ESI/MS, спектрометрии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и инфракрасной спектрометрии (ИК) была доказана структура образца 1-фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-диона (ФФМП). Для образца ФФМП было определено содержание воды (титрование по методу К. Фишер), содержание остаточных органических растворителей (газовая хроматография (ГХ), содержание неорганических примесей (сульфатная зола), содержание родственных примесей (ВЭЖХ). Методом баланса масс рассчитано содержание основного вещества в веществе ФФМП, произведено сравнение полученного значения со значением, полученным при количественном определении основного вещества путем титрования по методу Къельдаля.

Ключевые слова: *первичный стандартный образец, 1-фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-дион, метод Къельдаля.*

ФФМП (рис. 1) является производным хорошо изученного класса органических соединений – пирролидин-2,5-дионов, обладающих широким спектром биологической активности [1,2]. Исследование *in vivo* на лабораторных мышах

показало, что ФФМП, являясь практически нетоксичным соединением (по классификации Сидорова К.К.), проявляет выраженную анальгезирующую активность, которая превышает в 1,6 раза препарат сравнения (метамизол натрия), действуя при боли, вызванной химическими раздражителями-альгогенами (модель перитовисцеральной боли) [3]. Синтез потенциальных биоактивных молекул должен иметь аналитическое сопровождение с целью анализа качества сырья для дальнейшей оптимизации схемы синтеза, а также для проведения доклинических исследований. В силу этого актуальна аттестация первичного стандартного образца новой биоактивной молекулы ФФМП.

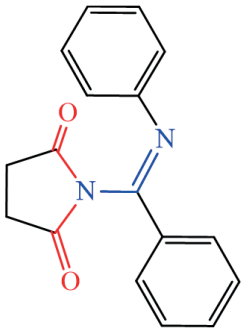


Рисунок 1. 1-фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-дион (ФФМП)

Целью работы стала аттестация первичного стандартного образца 1-фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-диона (ФФМП).

1-фенил(арилимино)метил)пирролидин-2,5-дион (ФФМП) синтезирован на кафедре органической химии Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета по внутреннему протоколу 03122021/TJA-1 и дополнительно перекристаллизован из этилового спирта, вода высокоочищенная, полученная с помощью системы получения сверхчистой воды Arium mini, Sartorius, серная кислота 95-98 % Panreac (Испания), стандарт-титр гидроксида натрия 0,1 Н (NaOH) ЛенРеактив (Россия), стандарт-титр серной кислоты 0,1 Н (H2SO4) ЛенРеактив (Россия), гидроксид натрия >98 % (NaOH) Panreac (Испания), фенолфталеин-индикатор >98 % (Россия), медь сернокислая пятиводная >98 % ЛенРеактив (Россия), калий сернокислый >99 % ChemSolute (Германия), селен элементарный >99 % ЛенРеактив (Россия).

Исследования образца ФФМП по показателям «Родственные примеси», «Остаточные органические растворители», «Вода», «Сульфатная зола» проводились согласно Государственной Фармакопее [4].

Результаты анализа ФФМП по показателям «Родственные примеси», «Остаточные органические растворители», «Вода», «Сульфатная зола» значений представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты анализа FFMP по показателям «Родственные примеси», «Остаточные органические растворители», «Вода», «Сульфатная зола»

Показатель	Результат анализа, %
Родственные примеси	Не обнаружено
Остаточные органические растворители (хлороформ, этиловый спирт)	0,08
Вода	0,06
Сульфатная зола	0,03

Содержание основного вещества в субстанции методом «баланса масс» вычисляли по формуле:

$$P_{Att} = 100 - X_{InorSub} - X_{RelSub} - X_W - X_S \quad (1),$$

где P_{Att} – содержание основного вещества в субстанции;
X_{RelSub} – содержание родственных органических примесей в субстанции;
$X_{InorSub}$ – содержание неорганических примесей в субстанции;
X_W – содержание воды в субстанции;
X_S – содержание остаточных органических растворителей в субстанции;

Неопределенность для каждого показателя была вычислена согласно [5]. Результаты расчета неопределенностей значений для метода баланса масс представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты расчета неопределенностей значений для метода баланса масс

Показатель	Неопределенность, %	Обозначение
Родственные примеси	0,17	$U(X_{RelSub})$
Предел обнаружения примесей	0,003	$U(LOD)$

Показатель	Неопределенность, %	Обозначение
Остаточные органические растворители	0,19	$U(X_S)$
Вода	0,17	$U(X_W)$
Сульфатная зола	0,04	$U(X_{InorSub})$

Комбинированную неопределенность содержания основного вещества в субстанции рассчитывали по формуле:

$$U(X_{Att}) = \sqrt{U(X_{RelSub})^2 + U(X_W)^2 + U(X_S)^2 + U(X_{InorSub})^2 + U(LOD)^2} \quad (2),$$

где $U(X_{Att})$ – комбинированная неопределенность содержания основного вещества в субстанции;
$U(X_{RelSub})$ – неопределенность определения органических примесей;
$U(X_W)$ – неопределенность определения содержания воды в субстанции;
$U(X_{InorSub})$ – неопределенность определения неорганических примесей;
$U(X_S)$ – неопределенность определения остаточных органических растворителей;
$U(LOD)$ – неопределенность предела обнаружения при определении содержания родственных примесей;

Согласно формулам 1 и 2, было рассчитано содержание основного вещества в субстанции и найдена неопределенность полученного значения. Содержание основного вещества в субстанции ФФПМ составило 99,83 ±0,31 %.

Для анализа количественного определения по методу Къельдаля, около 200 мг (точная навеска) испытуемой субстанции помещали в плоскодонную колбу со шлифом, добавляли 1,0 г растертой смеси меди сернокислой пятиводной, селена и сульфата калия (1:1:4), далее вносили 7 мл концентрированной серной кислоты и взбалтывали. Проводили анализ по методике обратного титрования согласно ГФ РФ (ОФС.1.2.3.0011.15) [4].

Значение содержания основного вещества в субстанции определяли по результатам титрования 6 проб. По результатам анализа находили среднее значение и рассчитывали величину % RSD, которое не должно превышать 0,35 %. Результаты исследования приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты анализа FFMP по показателю «Количественное определение» методом Къельдаля

№ пробы	Масса навески, мг	Объем титранта, мл	Результат (P), %	Статистическая обработка
1	198,2	12,9	99,7	$\overline{P}$ =99,7 % SD=0,2 RSD=0,2 %
2	203,2	12,7	99,5	
3	196,8	12,9	100,1	
4	200,3	12,8	99,5	
5	203,2	12,7	99,7	
6	199,9	12,8	99,8	

Для сравнения двух средних значений, полученных методом «баланса масс» и титрованием по методу Къельдаля рассчитывали значение критерия Стьюдента (t_a=0,83) и сравнивали с табличным ($t_a < t_{табл}$=2,18 (P=95 %, n=12)). Значение критерия Стьюдента меньше табличного, что показывает отсутствие систематических погрешностей и статистическую незначимость расхождения значений содержания основного вещества, полученных двумя методами.

Согласно полученным результатам, значения определения содержания основного вещества в субстанции ФФМП, полученных методом «баланса масс» и титрованием по методу Къельдаля признаются эквивалентными.

В ходе выполненного исследования методом баланса масс было получено значение содержания основного вещества субстанции 1-фенил(фенилимино)метил)пирролидин-2,5-диона, произведено сравнение полученного значения со значением, полученным при количественном определении основного вещества путем титрования по методу Къельдаля. Значения определения содержания основного вещества были признаны эквивалентными.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

90.29.25 Создание стандартных образцов
76.01.37 Стандартизация

ЛИТЕРАТУРА

1. Synthesis and central nervous system depressant activity of some bicyclic amides / P. Aeberli [et al.] // J. Med. Chem. 1976. Vol 19. P. 436-438. DOI:10.1021/jm00225a023

2. Hall I., Wong O., Scovill J. The cytotoxicity of N-pyridinyl and N-quinolinyl substituted derivatives of phthalimide and succinimide // Biomed. Pharmacother. 1995. Vol. 45. P. 251-258. DOI: 10.1016/ 0753-3322(96)82631-X

3. An efficient synthesis and characterization of novel (Z)-1-phenyl(phenylamino)methylpyrrolidine-2,5-dione derivatives as potential analgesic agents / Y.A. Trukhanova [et al.] // Chemical Data Collections. 2021. Vol. 35. P.100770. DOI: 10.1016/j.cdc.2021.100770

4. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14. (Дата обращения: 27.02.2022)

5. Epstein N.A. On certification of reference materials in pharmacy: mass balance method // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2017. Vol. 51(10). P. 48-57. DOI: 10.30906/0023-1134-2017-51-10-48-57.

SUMMARY

ATTESTATION OF THE PRIMARY STANDARD SAMPLE OF A NEW ANALGESIC AGENT 1-PHENYL(PHENYLAMINO)METHYL)PYRROLIDINE-2,5-DIONE

Trukhanova Yu.A., 2nd year master student
Academic advisors: **Alekseeva G.M.,** Candidate of Chemical Sciences.
Yakovlev I.P., Doctor of Chemical Sciences, Professor
St. Petersburg State University of Chemistry and Pharmacy,
197376, St. Petersburg, Prof. Popova, 14, lit. A, Russian Federation
E-mail: truhanova.yuliya@pharminnotech.com

In this work, the structure of the sample1-phenyl(phenylamino)methyl)pyrrolidine-2,5-dione (FFMP) was proved using X-ray diffraction analysis (XRD), HPLC-ESI/MS analysis, nuclear magnetic resonance spectrometry (NMR) and infrared spectrometry (IR). For the FFMP sample, the water content (K. Fischer titration), the content of residual organic solvents (gas chromatography (GC), the content of inorganic impurities (sulfate ash), the content of related impurities (HPLC) were determined. The mass balance method was used to calculate the content of the basic substance in the FFMP substance, and the obtained value was compared with the value obtained during the quantitative determination of the basic substance by titration using the Kjeldahl method.

Keywords: *primary standard, 1-phenyl(phenylimino)methyl)pyrrolidine-2,5-dione, Kjeldahl method*

REFERENCES

1. Synthesis and central nervous system depressant activity of some bicyclic amides / P. Aeberli [et al.] // J. Med. Chem. 1976. Vol 19. P. 436-438. DOI:10.1021/jm00225a023

2. Hall I., Wong O., Scovill J. The cytotoxicity of N-pyridinyl and N-quinolinyl substituted derivatives of phthalimide and succinimide // Biomed. Pharmacother. 1995. Vol. 45. P. 251-258. DOI: 10.1016/ 0753-3322(96)82631-X

3. An efficient synthesis and characterization of novel (Z)-1-phenyl(phenylamino)methylpyrrolidine-2,5-dione derivatives as potential analgesic agents / Y.A. Trukhanova [et al.] // Chemical Data Collections. 2021. Vol. 35. P.100770. DOI: 10.1016/j.cdc.2021.100770

4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14. (Accessed: 02/27/2022)

5. Epstein N.A. On certification of reference materials in pharmacy: mass balance method // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2017. Vol. 51(10). P. 48-57. DOI: 10.30906/0023-1134-2017-51-10-48-57.

УДК 615.07

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ СТАНДАРТИЗАЦИИ ПЛОДОВ ДЕРЕЗЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*LYCIUM BARBARUM* L.) КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ

Тупа Б[1]., аспирант 2 года обучения
Научный руководитель: **Успенская Е.В**[1], докт. фарм. наук, профессор
Российский университет дружбы народов,
117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, Российская Федерация
E-mail: tupableona@gmail.com

В работе приведены результаты изучения числовых показателей плодов Дерезы обыкновенной (*Lycium barbarum* L.). Установлено содержание влаги, золы, примесей и количество экстрактивных веществ. Разработанные числовые показатели позволяют устанавливать качество лекарственного растительного сырья для разработки нормативной документации.

Ключевые слова: *Lycium barbarum L., экстрактивные вещества, зола, влажность плодов, перспективное растительное сырье, нормативная документация.*

Растения рода *Lycium (*дереза), семейства Пасленовые имеют разнообразный химический состав и традиционно используются в китайской народной медицине, а также приобретают широкое мировое распространение. На сегодняшний день в ГФ РФ отсутствует нормативная документация (НД) на плоды дерезы обыкновенной. Следовательно, актуальным является разработка фармакогностических методов для определения подлинности перспективного растительного сырья (РС) с целью их дальнейшей стандартизации [1].

Цель исследования заключалась в определении показателей качества сырья и количества экстрактивных веществ (ЭВ) для стандартизации плодов дерезы обыкновенной (*Lycium barbarum* L.).

Материалы и методы. Объектом исследования выступили плоды дерезы обыкновенной, собранные в сентябре 2020 года на территории Албании. Плоды собирают спелыми, сушат до состояния сморщенного околоплодника и подвергают воздействию прямого солнечного света до тех пор, пока экзокарпий станет сухим и твердым, а мякоть – мягкой [2]. Плоды дерезы представляют собой красные продолговато-яйцевидной формы ягоды, 8–18 мм длиной (рис. 1).

Рисунок 1. Плоды *Lycium barbarum* L. (дереза обыкновенная) [2]

Исследования проводили на пробах от 3 партий исследуемого сырья. Влажность плодов *Lycium barbarum* L. была установлена в соответствии с ГФ РФ XIV издания, ОФС.1.5.3.0007. [3]. Определение влажности основано на сушке сырья до постоянной массы. Общая зола и зола, нерастворимая в растворе соляной кислоты (HCl=10%) плодов *Lycium barbarum* L. были установлены в соответствии с OFS.1.5.3.0005.15 [4]. В основе определения золы лежит сгорание сырья с последующим прокаливанием до постоянной массы. Количественное определение примесей в лекарственном растительном сырье (ЛРС) устанавливали в соответствии с ОФС.1.5.3.0004.15 [5]. Количественное определение суммы экстрактивных веществ (ЭВ) проводили в соответствии с методикой ОФС.1.5.3.0006.15 [6]. Содержание их выражали количественно в виде сухого остатка (в процентах).

Методика определения ЭВ: около 1 г (т.н.) измельченного ЛРС помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляли 50 мл растворителя и оставляли на один час. Колбу нагревали с обратным холодильником в течение двух часов (рис. 2).

Рисунок 2. Установка для получения ЭВ

Содержимое колбы фильтровали через сухой бумажный фильтр в колбу вместимостью 200 мл. 25,0 мл полученного фильтрата переносили в колбу и выпаривали. Рассчитывали содержание ЭВ в абсолютно сухом РС (%). При определении ЭВ использовали различные экстрагенты: воду очищенную, спирт этиловый 40%, 70%, 96% и петролейный эфир.

Установленная влажность плодов дерезы обыкновенной составила от 5.1% до 7.3%. Исходя из этого, можно установить стандарт содержания влаги в плодах *Lycium barbarum* L. не более 10%. Общее содержание золы колеблется от 2,71% до 2,86%; зола, нерастворимая в HCl, колеблется от 2,67% до 2,75%. В связи с чем, установлены нормативы по содержанию указанных показателей: содержание золы общей – не более 5%; содержание золы, нерастворимой в кислоте хлористоводородной 10% – не более 3%.

Содержание примесей присутствовало в низких процентах. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Числовые показатели плодов дерезы обыкновенной

№	Числовые показатели	Содержание, %	Рекомендуемые нормы
1	Влажность	5,5707-7,3776	не более 10 %
2	Зола общая	2,7152-2,8622	не более 5 %
3	Зола, нерастворимая в 10% растворе кислоты хлористоводородной	2,6793-2,7503	не более 3,0 %
4	Части сырья, утратившие естественную окраску (пожелтевшие, почерневшие)	2,841	не более 5 %
5	Другие части растения, не соответствующие установленному описанию сырья (корневища, плоды)	0,0748	не более 0,5%
6	Органическая примесь (части других неядовитых растений)	0	не более 0,5%
7	Минеральная примесь (земля, песок, камешки)	0	не более 0,5%

Вещества, экстрагированные водой, составили 52,55%, экстрагированные 70% этиловым спиртом – 35,86%, экстрагированные 96% этиловым спиртом – 41,91% и экстрагированных 40% этиловым спиртом – 59,49%, что демонстрирует максимальное извлечение экстрактивных веществ из всей исследуемой коллекции РС. Выход экстрактивных веществ, извлеченных из петролейного эфира из плодов, близок к 0,50% – 0,63% (рис. 3).

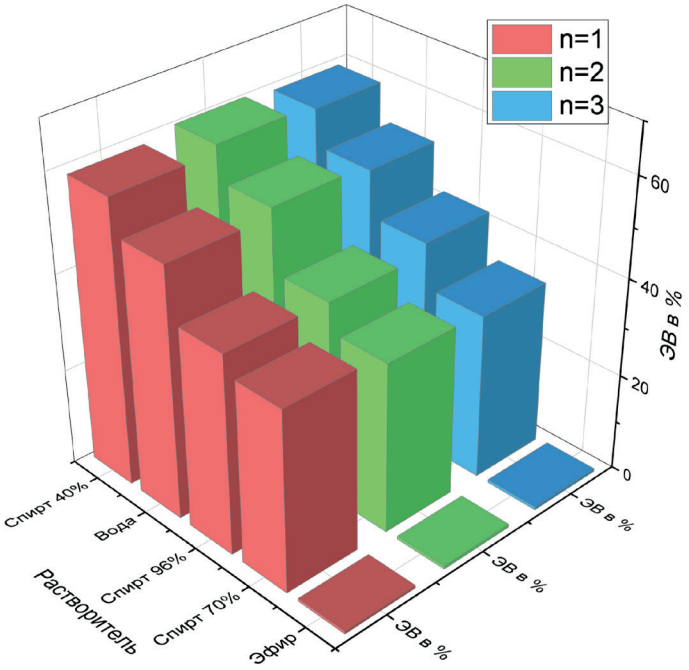


Рисунок 3. Содержание ЭВ в растворителях разной природы

Проведены испытания показателей качества и количества ЭВ в плодах дерезы обыкновенной с установлением норм содержания влаги в сырье, общей золы, золы, нерастворимой в HCl, и веществ, извлекаемых различными экстрагентами. Полученные результаты позволяют стандартизировать перспективное растительное сырье для разработки нормативной документации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yao R., Heinrich M., Weckerle C.S. The genus Lycium as food and medicine: A botanical, ethnobotanical and historical review // Journal of Ethnopharmacology. Elsevier. 2018. Vol. 212. doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.010

2. Изучение анатомических признаков травы Дерезы Обыкновенной (Lycium Barbarum L.) / М.А. Секинаева [и др.] // Успехи современного естествознания. 2015. N 9. Ч. 2. С. 231-235.

3.Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов. ОФС.1.5.3.0007.15 // Государственная фармакопея Российской Федерации. Т. 2. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс]. URL: http://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/547/

4. Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. ОФС.1.5.3.0005.15 // Государственная фармакопея Российской Федерации. Т. 2. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс]. URL: http://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/541/

5. Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. ОФС.1.5.3.0004.15 // Государственная фармакопея Российской Федерации. Т. 2. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс.] URL: http://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/535/

6. Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. ОФС.1.5.3.0006.15 // Государственная фармакопея Российской Федерации. Т. 2. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс]. URL: http://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/541/

SUMMARY

DETERMINATION OF NUMERICAL INDICATORS FOR STANDARDIZATION OF FRUITS OF *LYCIUM BARBARUM* L., AS A PROMISING MEDICINAL RAW MATERIAL

Tupa B., 2nd year student
Academic advise: **Uspenskaya E. V.** Dr of habilitus**,** full professor
RUDN University « Peoples' Friendship University of Russia»
117198, Russia, Moscow, st. Miklukho-Maklaya, d. 8
E-mail: tupableona@gmail.com

As a result of the conducted studies, data were obtained on the indicators of the quality of raw materials and the amount of extractive substances (ES). It was concluded that the concentration of extractives varied from 0.5 to 59.49% depending on the solvent used. Numerical indicators were also determined, as described in the Russian pharmacopoeia. The data obtained will be used to develop a regulatory document on the standardization of fruits of Lycium barbarum.

Keywords: *Lycium barbarum L., extractive substances, ash, fruit moisture, promising plant raw materials, regulatory documentation.*

REFERENCES

1. Yao R., Heinrich M., Weckerle C.S. The genus Lycium as food and medicine: A botanical, ethnobotanical and historical review // Journal of Ethnopharmacology. Elsevier. 2018. Vol. 212. doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.010.

2. M.A. Sekinaeva [et al.] Izuchenie anatomicheskih priznakov travy Derezy Obyknovennoj (Lycium Barbarum L.) / M.A. Sekinaeva [et al.] // Uspehi sovremennogo estestvoznanija. 2015. Vol. 9(2). P.231-235. (in Russian)

3. Opredelenie vlazhnosti lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja i lekarstvennyh rastitel'nyh preparatov. OFS.1.5.3.0007.15 // Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. T. 2. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: http://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/547/(in Russian)

4. Zola, nerastvorimaja v hloristovodorodnoj kislote. OFS.1.5.3.0005.15 // Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. T. 2. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: http://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/541/(in Russian)

5. Opredelenie podlinnosti, izmel'chennosti i soderzhanija primesej v lekarstvennom rastitel'nom syr'e i lekarstvennyh rastitel'nyh preparatah. OFS.1.5.3.0004.15 // Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. T. 2. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: http://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/535/(in Russian)

6. Opredelenie soderzhanija jekstraktivnyh veshhestv v lekarstvennom rastitel'nom syr'e i lekarstvennyh rastitel'nyh preparatah. OFS.1.5.3.0006.15 // Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. T. 2. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: http://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/541/ (in Russian)

УДК 615.014

К ВОПРОСУ СТАНДАРТИЗАЦИИ НАСТОЙКИ СЕДАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ «БИОСЕДАЦИОН»

Турдиева З.В., соискатель
Научный руководитель: **Юнусова Х.М.,** докт. фарм. наук, проф.
Ташкентский фармацевтический институт,
100015, Ташкент, ул. Айбека, д.45, Республика Узбекистан
E-mail: zilolaturdieva1988@gmail.com

Проведено количественное определение содержания суммы флавоноидов в рекомендуемой настойке полученный на основе трех растений: крапива, мелисса и пустырник. Разработана унифицированная методика количественного спектрофотометрического определения содержания суммы флавоноидов в настойке. Данный показатель рекомендован для включения в проект ФСП на лекарственное средство «Биоседацион».

Ключевые слова: *настойка, спектрофотометрия, количественное определение, сумма флаваноидов, метод.*

В современном мире растет количество проблем со здоровьем, связанных со стрессами, неправильным ритмом жизни, хронической усталостью, недосыпанием, напряжением, неприятными переживаниями. Основное применение седативных средств – лечение легких неврозов, неврастении, нарушение сна. Данные эффекты достигаются благодаря регулирующему действию на центральную нервную систему, за счет усиления тормозных процессов или подавления процессов возбуждения в ЦНС. Чаще всего, когда приходится выбирать препарат для эффективной помощи пациенту в таких случаях, первые назначения врачей начинаются с седативных средств. Седативные средства – это химически раз-

нообразная группа лекарственных веществ растительного и синтетического происхождения, которые снижают эмоциональное напряжение и раздражительность, оказывают умеренный успокаивающий эффект и способствуют улучшению качества сна [7].

Яркими представителями этой группы препаратов являются, всем известные лекарственные растения как пустырник, мелисса лекарственная и крапива двудомная.

Контроль качества лекарственных препаратов лекарственных препаратов на основе комбинаций лекарственного растительного сырья, растительных фармацевтических субстанций (препаратов на основе лекарственного растительного сырья) может осложняться особенностями технологии получения. Все это также может затруднять обнаружение маркера благодаря присутствию других со извлекаемых биологически активных веществ компонентов лекарственного препарата [1,4,7].

В современной стандартизации лекарственного сырья и препаратов, в фармацевтическом анализе актуальными являются подбор, совершенствование и разработка современных и специфичных методик определения подлинности и качества, отвечающих требованиям валидации и соблюдению системного подхода в ряду «сырьё – препарат» [2,3,5,6].

Цель исследования: разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в настойке под условным названием «Биоседацион» с использованием метода спектрофотометрии по реакции комплексообразования с раствором алюминия хлорида. А также подтверждение надежности и точности данной методики для анализа рекомендуемой настойки по показателям – специфичность, линейность, правильность, прецизионность и сходимость.

Рекомендуемая настойка под условным названием «Биоседацион». Настойку «Биоседацион» получали по отработанной технологии. Настойка представляла собой прозрачную жидкость темного зеленовато-коричневого цвета с характерным запахом. Определение оптической плотности растворов проводили спектрофотометрическим методом.

Методика определения суммы флавоноидов в настойке «Биоседацион».2,0 мл настойки помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 5 мл 2 % спиртового раствор алюминия хлорида, помещали на 3 минут в кипящую водяную баню, быстро охлаждали и доводили объем раствора спиртом 70 % до метки.

Измеряли оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 409 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения раствор, состоящий из 2,5 мл препарата, который помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем раствора спиртом 70 % до метки.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора, содержащего 1мл раствора СОВС рутина, обработанного аналогично испытуемому раствору, начиная со слов «… помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл…», используя в качестве раствора сравнения раствор, состоящий из 1мл раствора СОВС рутина, который помещали в мерную колбу вместимостью 25мл и доводили объем раствора спиртом 70% до метки.

Содержание суммы флавоноидов в препарате (X, г/мл), в пересчете на рутин, вычисляли по следующей формуле:

$$X = \frac{D1 \times 25 \times a0 \times P}{D0 \times 25 \times 100 \times 2{,}5 \times 100},$$

где D^1 – оптическая плотность испытуемого раствора;

D^0 – оптическая плотность раствора СОВС рутина;

P – содержание рутина в СОВС , в %;

a^0 – масса навески СОВС рутина, в г.

Содержание суммы флавоноидов в препарате , в пересчете на рутин, должно быть не менее 0,0003г/мл.

Приготовление раствора СОВС рутина. Около 0,05 г рутина (USP, BP, Eur. Ph., CP, «Sigma» каталожный номер 125143 или аналогичного качества) (точная навеска) предварительно высушенного при (130-135) ºС в течение 3 часов, растворяли в 50 мл спирта этилового 70% в мерной колбе вместимостью 100 мл, при нагревании на кипящей водяной бане, охлаждали до комнатной температуры, доводили объем раствора спиртом до метки и перемешивали.

Срок годности раствора 1 мес.

Приготовление 2% спиртового раствора алюминия хлорида.2 г алюминия хлорида растворяли в 50мл спирта 70 % в мерной колбе вместимостью 100 мл доводили объем раствора спиртом до метки и перемешивали.

Срок годности раствора 3 мес.

Полученные количественного определения суммы флавоноидов в рекомендуемой настойке приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты количественного определения суммы флавоноидов в настойке «Биоседацион»

Наименование образца	Длина волны, нм	Содержание флавоноидов в настойке, г/мл	Отклонения от среднего значения, %
СО рутина	409	-	-
Образец 1	409	0,00034	1,13
Образец 1	409	0,00035	1,16
Образец 1	409	0,00033	1,10

Таким образом, разработана методика количественного определения суммы флавоноидов настойки «Биоседацион» методом дифференциальной спектрофотометрии после реакции комплексообразования с раствором алюминия хлори-

да в пересчете на рутин. Специфичность выбора методики по рутину подтверждали, используя по три раствора СО и настойки.

При этом рассчитывали содержание суммы флавоноидов в испытуемых растворах, включая среднее значение, стандартное отклонение и относительное стандартное отклонение.

При определении линейности измеряли величины поглощения в УФ-свете серии растворов СО рутина разных концентраций.

Линейную зависимость представляли в виде формулы:

$$Y = b' Z + c$$

где Y – значение величины оптической плотности раствора СО;

Z – концентрация раствора СО;

a – свободный член линейной зависимости;

b – угловой коэффициент линейной зависимости.

По пяти растворам СО с различной концентрацией рутина был построен калибровочный график зависимости отклика показаний прибора на концентрации раствора. Вычислены константы уравнения a (свободный член линейной зависимости) и b (угловой коэффициент линейной зависимости). Определен отрезок, отсекаемый калибровочной прямой на оси ординат *величина поглощения), который не должен превышать 2% поглощения, соответствующего сумме флавоноидов в настойке.

О характере линейной связи между переменными судили также по величине коэффициента корреляции.

Правильность исследовали на растворах СО трех различных концентраций. Содержание рутина в них составляло 0,0029 г/мл содержания суммы флавоноидов в настойке каждой концентрации.

Рассчитаны среднее содержание рутина, стандартное отклонение каждой проверенной концентрации и относительное стандартное отклонение.

Прецизионность методики подтверждалась степенью близости результатов для серии измерений. С этой целью изучали сходимость результатов на примере шести испытуемых растворов настойки в одних и тех же условиях в течение небольшого промежутка времени. Рассчитывали среднее содержание суммы флавоноидов, стандартное отклонение и относительное стандартное отклонение этих измерений.

Следующий этап исследования посвящались изучению элементного состава настойках. Количественный анализ состава тяжелых металлов, микро- и макроэлементов был изучен методом оптико эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой (ИСП ОЭС).

0,0500-0,5000 г (точная навеска) исследуемого сырья для влажного озоления помещают на тефлоновые автоклавы DAP – (60+). Затем к образцам приливают 5 мл азотной кислоты (х/ч) и 3 мл перекиси водорода (х/ч). Разложение проводят на приборе микроволнового разложения. После разложения содержимое в автоклавах количественно переносят в мерные колбы 100 мл и доводят объем до метки 2% азотной кислотой. Определение элементного состава проводят на приборе ОЭС с ИСП Optima-2400 DV (Perkin Elmer США) или аналогичном приборе используя мульти – элементный стандарт (для ОЭС) и стандарт – Hg (для ОЭС).

Условия анализа: мощность генератора (для плазмы) 1300-1500W, поток аргона (плазма) -12 л/мин, небулайзер -0.8 л/мин, перистальтический насос – 1.2 мл/мин, обзор – аксиальный.

В результате анализа 6 образцов настойки установлена сходимость полученных данных: стандартное отклонение составило 0,00027, относительное стандартное отклонение – 1,13% относительно среднего значения суммы флавоноидов в образцах.

Многократное измерение одного и того же раствора настойки позволило доказать прецизионность методики.

В результате анализа данных верификации методику количественного определения суммы флавоноидов можно признать приемлемой для стандартизации рекомендуемой настойки.

Результаты изучения параметров верификации методики количественного определения суммы флавоноидов в настойке «Биоседацион» приведены в таблице 2.

Полученные данные предсказывают о правильности условий и метода разработки технологии настойки «Биоседацион».

Таблица 2 – Характеристики параметров верификации методики количественного определения суммы флавоноидов в настойке «Биоседацион»

Характеристики	Параметры верификации			
	специфичность	линейность	правильность	прецизионность (сходимость)
Среднее значение, %	0,00034	-	0,0003 0,0029 0,0029	-
Стандартное отклонение, %	0.002	-	< 1	0,0027
Относительное стандартное отклонение, %	1.3	-	1,13 1,16 1,10	1,13

Характеристики	Параметры верификации			
	специфичность	линейность	правильность	прецизионность (сходимость)
Открываемость, %	-	-	100,23 99,31 99,57	-
Коэффициент корреляции	-	0,999	-	-

Исследование содержания солей тяжелых металлов (ртуть, мышьяк, кадмий, свинец) показало, что в образце лекарственного растительного сырья оно не превышает допустимой нормы. Неорганические элементы наряду с органическими веществами также играют весомую роль в проявлении фармакологического эффекта.

При исследовании токсических тяжелых металлов значимым является изучение их содержания для безопасности лекарственного растительного сырья, которое может оказывать токсическое влияние на человеческий организм. Токсические элементы кадмий и ртуть не обнаружены.

1. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов настойки «Биоседацион» методом дифференциальной спектрофотометрии после реакции комплексообразования с раствором алюминия хлорида в пересчете на рутин.

2. Методика дифференциальной спектрофотометрии для определения суммы флавоноидов в рекомендуемой настойке проверена по показателям специфичность, линейность, правильность.

3. В результате анализа данных верификации методику количественного определения суммы флавоноидов можно признать приемлемой для стандартизации рекомендуемой настойки.

4. Исследование по изучению содержания солей тяжелых металлов, микро- и микроэлементного состава показал, что они не превышает допустимой нормы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Quantitative Analysis of Combined Analgetic Tablets // Research J. Pharm. and Tech. – India. 2020. Vol. 13(12). P.5735-5740.

2. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Evaluation of biopharmaceutical and pharmacological properties of combined ternary componential analgesic tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(02).P.6009-6017.

3. Жалолиддинова М.Ш., Юнусова Х.М. Исследования в области разработки «теста растворения» таблеток «Ортоф-S» // Международная научно-практическая дистанционная конференция «Современные достижения фармацевтической технологии». Харков, 2018. С.451-453.

4. Илхамова Н.Б.,Джалилов Х.К., Юнусова Х.М. Абу Али Ибн Сино таълимоти асосида ўсимлик хом ашёларидан йўталга қарши дори препаратлари яратиш. “Ибн Синонинг илмий-маданий меросининг аҳамияти ва уни фан тараққиётидаги ўрни” мавзусидаги // IX Ибн Сино ўқишлари- халқаро илмий-амалий анжумани. Бухоро, 2017. Б.104-105.

5. Абдижалилова З.Х., Юнусова Х.М. К вопросу стандартизации таблеток «Амброл». // Фармация, научно-практический журнал. Специальный выпуск. 2020. С.165-167.

6. Yunusova Kh.M., Abdijalilova Z.H. Research On The Choice Of «Ambronat» Syrup Technology // The American Journal of Medical Sciences and Pharmaceutical Research. 2021. Vol. 03(02-01). P. 1-9.

7. Юнусова Х.М., Турдиева З.В. Доклиническое исследование в области создания препаратов на основе лекарственных растений // Интернаука научные журнал. 2021. N 24 (200). С 52-55.

SUMMARY

ON THE ISSUE OF STANDARDIZATION OF SEDATIVE TINCTURE «BIOSEDATION»

Turdieva Z.V., the applicant
Academic advise**: Yunusova Kh.M.,** doctor. pharm. sciences, prof.
Tashkent Pharmaceutical Institute,
45 Aybek str., Tashkent, 100015, Republic of Uzbekistan
E-mail: zilolaturdieva1988@gmail.com

A quantitative determination of the content of the sum of flavonoids in the recommended tincture obtained on the basis of three plants: nettle, lemon balm and motherwort was carried out. A unified method for quantitative spectrophotometric determination of the content of the sum of flavonoids in the tincture has been developed. This indicator is recommended for inclusion in the draft FSP for the drug «BIOSEDATION».

Keywords: *tincture, spectrophotometry, quantitative determination, sum of flavonoids, method.*

REFERENCES

1. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Quantitative Analysis of Combined Analgetic Tablets // Research J. Pharm. and Tech. – India. 2020. Vol. 13(12). P.5735-5740.

2. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Evaluation of biopharmaceutical and pharmacological properties of combined ternary componential analgesic tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(02).P.6009-6017.

3. Zhaloliddinova M.Sh., Yunusova H.M. Research in the field of development of «dissolution test» tablets «Orthof-S» // International scientific and practical remote conference «Modern achievements of pharmaceutical technology» – Harkov.-2018. P.451-453. (in Russian)

4. Ilkhamova N.B.,Jalilov H.K., Yunusova H.M. Abu Ali Ibn Sino talimoti asosida shsimlik hom ashelaridan yytalga karshi dori preparatlari yaratish. «Ibn Sinoning ilmiy-madaniy merosining aamamiyati va uni fan tarakkietidagi srni» mavzsidagi // IX Ibn Sino shishlari-khalkaro ilmiy-amaliy anzhumani.Bukhoro, 2017.P. 104-105.

5. Abdizhalilovaz.Kh., Yunusova H.M. On the issue of standardization of Ambrol tablets // Pharmacy, scientific and practical journal. Special issue. 2020. P. 165-167. (in Russian)

6. Yunusova Kh.M., Abdijalilova Z.H. Research On The Choice Of «Ambronat» Syrup Technology // The American Journal of Medical Sciences and Pharmaceutical Research. 2021. Vol. 03(02-01). P. 1-9.

7. Yunus H.M., Turdieva Z. V. Preclinical research in the field of creating drugs based on medicinal plants. // Internauka scientific journal. 2021. N. 24(200). P.52-55. (in Russian)

УДК 661.7

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ СООТНОШЕНИЙ ГЛУБОКО ЭВТЕКТИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ САХАРОВ И ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ

Усикова Е.А., студ. 2 курса, **Воробьёв М.А.**, студ. 2 курса, **Меркушева С.С.**, студ. 2 курса
Научный руководитель: **Дмитриева И.Б.**, д. х. н., доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.14, Российской Федерации
E-mail: usikova.elisaveta@spcpu.ru; maksim.vorobev@spcpu.ru; sofya.merkusheva@spcpu.ru

Проведен синтез глубоко эвтектических растворителей на основе ряда сахаров и органических кислот. Определены температуры плавления/кристаллизации смесей, точки эвтектики для исследуемых соотношений и построены диаграммы состояний для двухкомпонентных систем.

Ключевые слова: *глубоко эвтектические растворители, эвтектика, органическая эвтектика, сахара, диаграммы состояния, точка эвтектики.*

Одна из основных задач современной области физико-химических методов анализа заключается в поиске эффективных, доступных, нетоксичных и экологически чистых сред для проведения исследований и контроля качества производимой продукции [1]. В последние годы все большую популярностью среди экстрагирующих сред приобретают глубокие эвтектические растворители (ГЭР) (deep eutectic solutions – DES) [2].

Глубоко эвтектические растворители сегодня выступают экологически чистой и технологически безопасной альтернативой ионным жидкостям и органическим растворителям как экстрагирующие среды при проведении анализов и в сфере контроля качества [3-5]. Процедура изготовления ГЭР чаще всего заключается в простом смешивании веществ в определённом мольном соотношении и нагревании смеси. Для смеси веществ способных образовывать ГЭР возможно не только межмолекулярное взаимодействие Ван-дер-Ваальса, но и другие виды взаимодействия, влияющие на процессы структурирования в расплавленном состоянии и определяющими в дальнейшем процессы кристаллизации. Эти вещества представляют собой гомогенную смесь компонентов определенного количественного состава в расплавленном и гетерогенную в твердом состоянии, называемую эвтектической смесью. Большинство эвтектических систем схожи по свойствам и просты в приготовлении за счет того, что не требуют высоких значений температур (для полной гомогенности системы достаточно небольшого нагревания), высоких давлений и усиленных механических воздействий. Глубоко эвтектические растворители имеют массу преимуществ перед своими аналогами, наиболее важными из которых являются доступность, безопасность, простота в использовании, а из физико-химических свойств-низкая температура плавления, растворимость в большинстве веществ-загрязнителей, высокая стабильность соединений и низкая летучесть.

ГЭР представляет собой смесь двух и более компонентов, являющихся кислотами и основаниями по Льюису, которые образуют эвтектическую смесь – мелкодисперсную механическую смесь кристаллов разнородных веществ. Эвтектика – термин, обозначающий систему эвтектического состава (состава, который характеризуется наивысшей текучестью и наименьшей температурой плавления для данной совокупности веществ) в жидком (эвтектический раствор) или в твердом (эвтектический сплав) состоянии. Эвтектическая точка является инвариантной при заданном давлении для заданной системы из n компонентов, причем, температура плавления компонентов по отдельности всегда превышает температуру плавления

эвтектической смеси. Процесс эвтектической кристаллизации представляет собой одновременно и эквивалентное образование, и рост кристаллизационных центров компонентов смеси, и диффузионное смещение компонентов к своим центрам кристаллизации. При этом однородный раствор распадается на несколько фаз. С точки зрения термодинамики, процесс образования типичной эвтектики не может идти при малых перепадах температур, т.е. при малых скоростях охлаждения. В этих условиях кристаллы отдельных компонентов растут обособленно, и даже после соприкосновения ход и иные параметры роста кристаллов не меняются. При более значительных температурных перепадах наблюдается аналогичный процесс, но ровно до момента соприкосновения двух кристаллов. После этого в точке соприкосновения наблюдается резкий рост с гораздо большей скоростью, чем росли исходные кристаллы отдельных компонентов, рост мельчайших кристаллов в типичной эвтектической форме. Эвтектическое превращение идет при постоянной температуре вплоть до момента полного исчезновения жидкой фазы и формирования единой кристаллической структуры [6].

ГЭР образуется благодаря межмолекулярным взаимодействиям с образованием водородных связей по с участием водорода и сильно электроотрицательного атома в составе функциональных группировок компонентов. Температура плавления ГЭР значительно ниже, чем температура плавления отдельных компонентов, поэтому большинство ГЭР вязкие или жидкие при комнатной температуре, что облегчает их использование в качестве экстрагентов в жидкостном анализе. Также немаловажным является высокая вариативность широкого спектра свойств ГЭР, обусловленная природой различных составляющих, взятых за основу будущих ГЭР и варьируемым соотношением компонентов в смеси [7].

В последнее время ГЭР получили широкое распространение не только как эффективные экстрагенты, но как различные аналитические и реакционные среды в других направлениях [8]. Например, они используются в электроаналитической химии как среда для модификации электродов, для модификации подвижной и неподвижной фаз в хроматографии, как аналоги окислительных смесей при предварительном разложении образцов и для синтеза или модификация твердофазных сорбентов [9].

Цель работы состояла в синтезе глубоко эвтектических растворителей на основе ряда сахаров и органических кислот, определение температуры плавления/кристаллизации смесей, точки эвтектики для исследуемых соотношений и построены диаграммы состояний для двухкомпонентных систем.

На основании выполненной работы были установлены эвтектические соотношения для глубоко эвтектических растворителей на основе глюкозы и двух органических кислот – щавелевой и яблочной, составившие близкое к (2:1) мольное соотношение. Химическое взаимодействие между компонентами отсутствует, поэтому процесс образования эвтектики полностью зависит от водородных связей, способности компонентов системы к их образованию и их прочности.

В ходе исследования использовались несколько типов сахаров: лактоза, сахароза, фруктоза и глюкоза, и органических кислот: лимонная, щавелевая, винная, яблочная и янтарная.

Для построения фазовых диаграмм использовался метод термического анализа. Компоненты смешивались в рассчитанных мольных соотношениях, взвешивались на аналитических весах, после чего нагревались в термоблоке до полного сплавления компонентов и образования гомогенной смеси. После плавления расплавы помещались в штатив и осуществлялось измерение температур расплавов при помощи термометров через фиксированные промежутки времени в ходе естественного охлаждения. По полученным данным осуществлялось построение кривых охлаждения и фазовых диаграмм состояния.

Результаты и их обсуждение

На рисунках 1,2 представлены кривые охлаждения систем, «глюкоза – яблочная кислота». По результатам термического анализа построены фазовые диаграммы, представленные на рисунках 3,4.

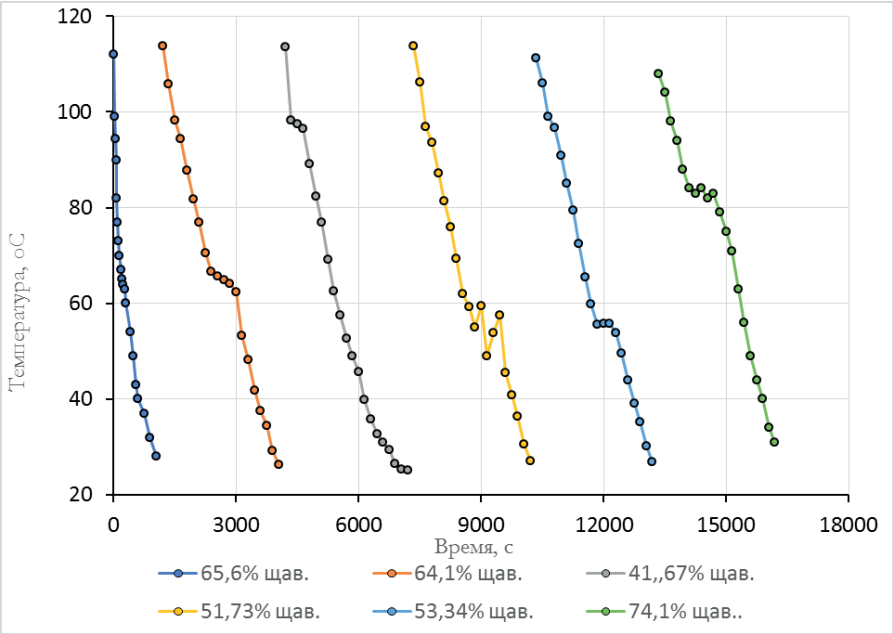


Рисунок 1. Кривые охлаждения системы «глюкоза – щавелевая кислота»

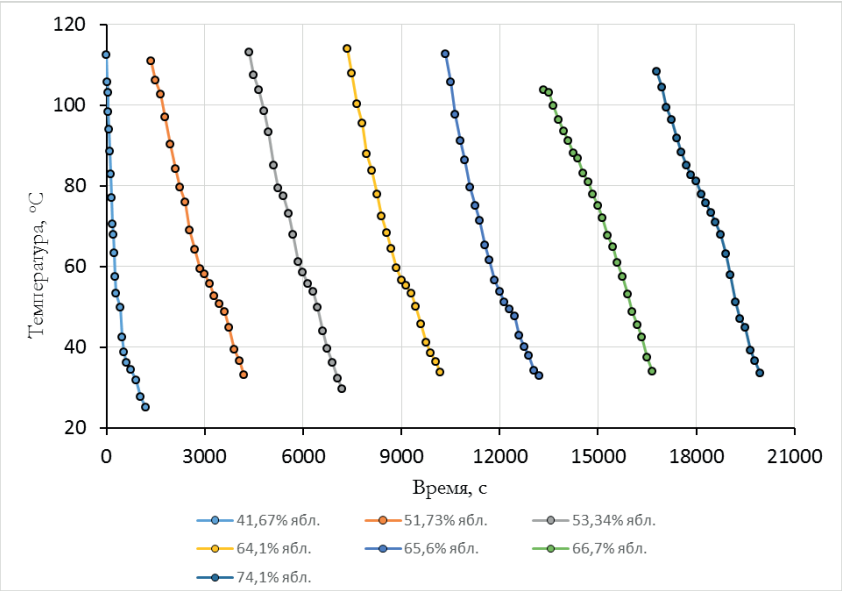


Рисунок 2. Кривые охлаждения системы «глюкоза – яблочная кислота»

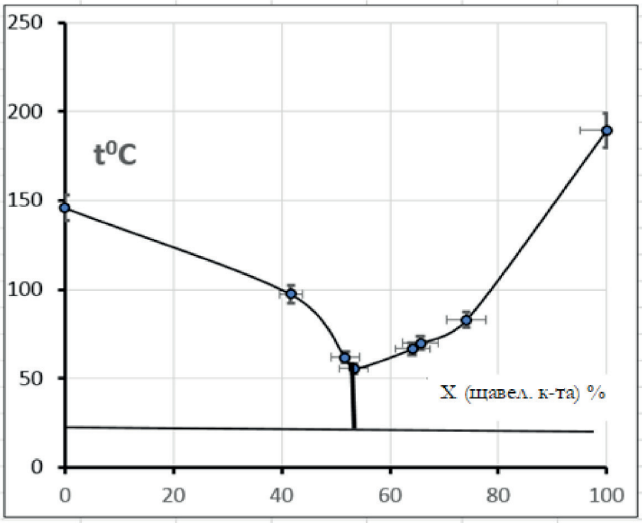


Рисунок 3. Диаграмма плавкости системы «глюкоза – щавелевая кислота»

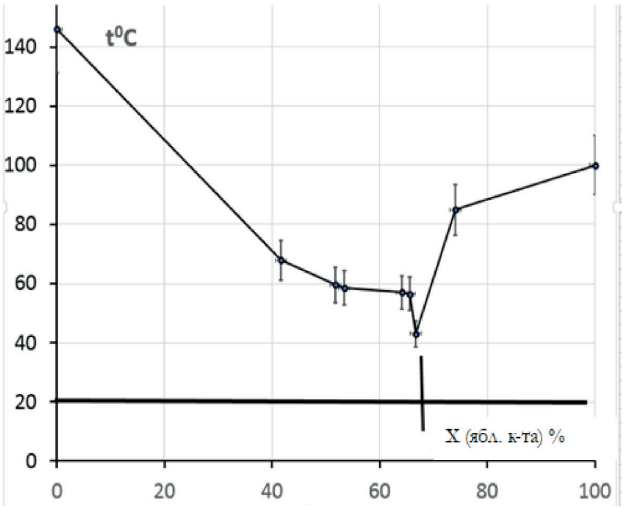


Рисунок 4. Диаграмма плавкости системы «глюкоза – яблочная кислота»

Анализ диаграмм плавкости (рис. 3,4) позволил определить эвтектический состав эвтектическую температуру смесей. Для системы «глюкоза – щавелевая кислота» эвтектическая температура равна 22 °С, а эвтектический состав 55% кислоты, для системы «глюкоза – яблочная кислота» – эвтектическая температура равна 20 °С, а эвтектический состав 67% кислоты.

На основании выполненной работы были установлены эвтектические соотношения для глубоко эвтектических растворителей на основе глюкозы и двух органических кислот – щавелевой, составившие близкое к (1:1) мольное соотношение и яблочной, составившие близкое к (2:1) мольное соотношение. В дальнейшем эти результаты позволят оптимизировать приготовление как фармацевтических препаратов, так и косметических средств.

Проведенные исследования способствуют развитию физической химии в области фазовых равновесий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Deep eutectic solvents are not only effective extractants / A. Shishov [et al.] // TrAC – Trends in Analytical Chemistry. 2020. Vol. 129. P. 115956.

2. Wen, A green deep eutectic solvent-based aqueous two-phase system for protein extracting, Anal / K. Xu [et al.] // Chim. Acta. 2014. Vol. 864. P. 9–20.

3. Green Carboxylic Acid-Based Deep Eutectic Solvents as Solvents for Extractive Desulfurization / J.J. Li [et al.] // Energy and Fuels. 30. 2016. P. 5411–5418.

4. Li G., Zhu T., Row K.H. Isolation of Ferulic Acid from Wheat Bran with a Deep Eutectic Solvent and Modified Silica Gel // Anal. Lett. 2017. Vol. 50. P. 1926–1938.

5. Novel low viscous, green and amphiphilic N-oxides/phenylacetic acid based Deep Eutectic Solvents / R. Germani [et al.] // J. Mol. Liq. 2017. Vol. 240. P. 233–239.

6. Application of deep eutectic solvents in analytical chemistry. A review / A. Shishov [et al.] // Microchem. J. 2017. Vol. 135. P.33–38.

7. Deep eutectic solvent: a new kind of mobile phase modifier for hydrophilic interaction liquid chromatography / Tan Ting [et al.] // Chinese Journal of Chromatography. 2015. Vol. 33(9). P. 934-937.

8. Deep eutectic solvents (DESs) for cellulose dissolution: a mini-review / Y.L. Chen [et al.] // Cellulose. 2019. Vol. 26. P. 205–213.

9. Soylak M., Koksal M. Deep eutectic solvent microextraction of lead (II), cobalt (II), nickel (II) and manganese (II) ions for the separation and preconcentration in some oil samples from Turkey prior to their microsampling flame atomic absorption spectrometric determination // Microchem. J. 2019. Vol. 147. P. 832–837.

SUMMARY

INVESTIGATION OF MELTING TEMPERATURES AND EUTECTIC RATIOS OF DEEPLY EUTECTIC SOLVENTS BASED ON SUGARS AND ORGANIC ACIDS

Usykova E.A., student 2nd year, **Vorobyev M.A.**, student 2nd year, **Merkusheva S.S.**, student 2nd year
Academic advise: **Dmitrieva I.B.**, PhD of Chemical Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197022, St. Petersburg, Professor Popov str., 14, Russia
E-mail: usikova.elisaveta@spcpu.ru maksim.vorobev@spcpu.ru; sofya.merkusheva@spcpu.ru

The synthesis of deep eutectic solvents based on a number of sugars and organic acids has been carried out. Melting/crystallization temperatures of mixtures, eutectic points for the state diagrams for two-component systems are constructed according to the studied relations.

Keywords: *deep eutectic solvents, eutectic, organic eutectic, sugars, state diagrams, eutectic point.*

REFERENCES

1. Deep eutectic solvents are not only effective extractants / A. Shishov [et al.] // TrAC – Trends in Analytical Chemistry. 2020. Vol. 129. P. 115956.

2. Wen, A green deep eutectic solvent-based aqueous two-phase system for protein extracting, Anal / K. Xu [et al.] // Chim. Acta. 2014. Vol. 864. P. 9–20.

3. Green Carboxylic Acid-Based Deep Eutectic Solvents as Solvents for Extractive Desulfurization / J.J. Li [et al.] // Energy and Fuels. 30. 2016. P. 5411–5418.

4. Li G., Zhu T., Row K.H. Isolation of Ferulic Acid from Wheat Bran with a Deep Eutectic Solvent and Modified Silica Gel // Anal. Lett. 2017. Vol. 50. P. 1926–1938.

5. Novel low viscous, green and amphiphilic N-oxides/phenylacetic acid based Deep Eutectic Solvents / R. Germani [et al.] // J. Mol. Liq. 2017. Vol. 240. P. 233–239.

6. Application of deep eutectic solvents in analytical chemistry. A review / A. Shishov [et al.] // Microchem. J. 2017. Vol. 135. P.33–38.

7. Deep eutectic solvent: a new kind of mobile phase modifier for hydrophilic interaction liquid chromatography / Tan Ting [et al.] // Chinese Journal of Chromatography. 2015. Vol. 33(9). P. 934-937.

8. Deep eutectic solvents (DESs) for cellulose dissolution: a mini-review / Y.L. Chen [et al.] // Cellulose. 2019. Vol. 26. P. 205–213.

9. Soylak M., Koksal M. Deep eutectic solvent microextraction of lead (II), cobalt (II), nickel (II) and manganese (II) ions for the separation and preconcentration in some oil samples from Turkey prior to their microsampling flame atomic absorption spectrometric determination // Microchem. J. 2019. Vol. 147. P. 832–837.

УДК 615.074+543.544.5.068.7+543.51

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС

Церковная К.М.[1], аспирант 1 года обучения (ORCID: 0000-0001-5047-0295), **Шабров В.Н.**[2], молодой ученый
Научный руководитель: **Флисюк Е.В.**[1], доктор фарм. наук, проф., зав. кафедрой ТЛФ, проректор по научной работе
1 – Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
2 – ООО «Квинта-Аналитика Ярославль»
150045, Ярославль, Ленинградский пр-кт, д. 52Г, Российская Федерация
E-mail: ksenia.kirillova@spcpu.ru

Проведена оценка стабильности ацетилсалициловой кислоты (ASA) и салициловой кислоты (SA) в плазме крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) в ходе трех валидационных тестов: краткосрочная стабильность в течение 24 часов при комнатной температуре, долгосрочная стабильность в течение 80 суток при температуре –20°С и стабильность в ходе трех циклов замораживания-таяния. Полученные результаты в установленном диапазоне концентраций соответствуют требованиям нормативной документации. Разработанная и валидированная аналитическая методика может использоваться в целях проведения фармакокинетических исследований и исследований биоэквивалентности (БЭ).

Ключевые слова: *ацетилсалициловая кислота, салициловая кислота, плазма крови человека, ВЭЖХ-МС/МС, валидация, биоэквивалентность, стабильность.*

Ацетилсалициловая кислота (ASA) – антиагрегантное средство, широко применяющееся в кардиологической практике с целью профилактики тромбообразования и осложнений коронарной болезни сердца.

Для регистрации новых воспроизведенных лекарственных препаратов необходимо проведение исследований биоэквивалентности (БЭ). Оценка БЭ осуществляется в ходе аналитической части исследования на основании разработанной и валидированной методики количественного определения анализируемого вещества.

Высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) является приоритетным методом анализа, так как обладает рядом достоинств: высокой чувствительностью (< 1 пг/мл), высокой селективностью и возможностью определения препаратов и их метаболитов в сложных биологических матрицах.

В соответствии с требованиями FDA, при проведении фармакокинетических исследований лекарственных препаратов, содержащих ASA, необходимо определение не только нативного соединения, но и метаболита – салициловой кислоты (SA) [1].

Нами была разработана биоаналитическая методика количественного определения ASA и SA в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. Установлен оптимальный диапазон концентраций для ASA (0.020 – 1.200 мкг/мл) и SA (0.200 – 12.000 мкг/мл), подобраны оптимальные условия пробоподготовки методом жидкость-жидкостной экстракции этилацетатом с последующим упариванием образцов в токе азота и перерастворением сухого остатка, хроматографирования и масс-спектрометрического детектирования [2].

Целью данной работы является оценка стабильности ASA и SA в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС в ходе проведения трех валидационных тестов.

Для выполнения экспериментальной части исследования использовались следующие реактивы и материалы: метанол (MeOH), для ВЭЖХ; ацетонитрил (ACN), для ВЭЖХ; кислота муравьиная (HCOOH), ч.д.а.; кислота фосфорная (H_3PO_4), для ВЭЖХ; этилацетат ($C_4H_8O_2$), для ВЭЖХ; изопропанол (iPrOH), для ВЭЖХ; вода ультрачистая, полученная с помощью системы очистки воды Direct Q3 UV; плазма крови человека с калия оксалатом ($K_2C_2O_4$, антикоагулянт) и натрия фторидом (NaF, консервант); полипропиленовые пробирки и пробирки типа «Эппендорф»; полипропиленовые планшеты Waters, 1 мл.

Исследование проводилось на оборудовании: система ВЭЖХ-МС/МС, содержащая два насоса RHEOS 2200 (Flux Instruments), автоматический пробоотборник PAL HTS (CTC Analytics) с десятипортовым краном и трехквадрупольным масс-спектрометрическим детектором TSQ Quantum Ultra (Thermo Scientific).

Хроматографическое разделение осуществлялось на колонке размером 150 х 4.6 мм, заполненной обращенно-фазовым сорбентом фенил-гексилом с размером частиц 5 мкм. Подвижная фаза: ацетонитрил – 50%; изопропанол – 10%; 0,1% HCOOH – 10%, вода ультрачистая – 30%. Измерения проводились при изократическом режиме элюирования со скоростью потока 400 мкл/мин. Параметры ВЭЖХ представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Параметры хроматографического разделения

Насосы	2 x RHEOS 2200 (Flux Instruments)
Автоматический пробоотборник	PAL HTS (CTC Analytics)
Десятипортовой переключающийся кран	SelectPro (Alltech)

Колонка	Luna 5 мкм, Phenyl-Hexyl, 100Å, 150 x 4.6 мм, Phenomenex
Объём ввода	30 мкл
Состав подвижной фазы	Ацетонитрил – 50%, изопропанол – 10%, 0,1% HCOOH – 10%, вода ультрачистая – 30%
Температура колонки	Лабораторная
Скорость потока	400 мкл/мин
Ориентировочное время удерживания	ASA, dASA: 5.5 мин SA, dSA: 6.1 мин
Время анализа	9.00 мин

Детекцию аналита проводили на масс-спектрометре TSQ Quantum Ultra (Thermo Scientific), с ионизацией в нагреваемом электроспрее (H-ESI). Параметры масс-спектрометра представлены в таблице 2. Анализатор был настроен на мониторинг выбранных реакций перехода исходных ионов (m/z) в дочерние ионы (m/z).

Таблица 2 – Параметры масс-спектрометра

Ионизация	H-ESI
Сканирование	MS/MS (SRM)
Полярность	ASA, dASA «–» SA, dSA «–»
Энергия коллизии	ASA, dASA: 12 SA, dSA: 19
Напряжение на источнике	1200 В
Температура источника (Tvap)	180°C
Температура капилляра (Tcap)	130°C
Давление осушающего газа (азота)	30
Давление вспомогательного потока газа (азота)	5
Давление распыляющего газа (азота)	30
Давление инертного газа (аргона) в ячейке соударений	0.5

Для приготовления калибровочных и валидационных растворов использовался стандартный образец ASA (USP, Канада, чистота 99.4%), стандартный образец SA (Sigma-Aldrich, США, чистота 99.0%) и внутренние стандарты (ВС) – дейтерированная ацетилсалициловая кислота-d4 (dASA, TLC Pharmaceutical Standards Ltd., Канада) и дейтерированная салициловая кислота-d6 (dSA, ISOTEC Sigma-Aldrich Family, США). Основные стандартные растворы ASA и SA готовили путем растворения навесок субстанций в растворе 2% HCOOH-MeOH. Рабочие стандартные растворы готовили путем разведения основных растворов этим же растворителем до необходимых концентраций. Определение концентраций проводилось в пределах установленного диапазона: 0.020 – 1.200 мкг/мл – для ASA, 0.200 – 12.000 мкг/мл – для SA. Концентрация в рабочем растворе ВС для dASA составляла 3.000 мкг/мл, для dSA – 12.000 мкг/мл.

Краткосрочная стабильность

В ходе выполнения валидационного теста «Краткосрочная стабильность» оценивается 24-часовая стабильность аналита (ASA и SA) в плазме крови человека при комнатной температуре. Испытание проводится для оценки допустимого периода хранения биологических образцов при комнатной температуре до проведения пробоподготовки, в течение которого сохраняется стабильность аналита на должном уровне.

Для выполнения анализа необходимо приготовить два набора из шести образцов плазмы с добавлением растворов ASA и SA на нижнем (L) и верхнем (H) уровнях концентрации. Один набор подвергается немедленной пробоподготовке и используется в качестве исходной точки стабильности (SIP). Другой набор хранится при комнатной температуре в течение 24 часов. По окончании заданного периода хранения набор образцов для оценки стабильности подвергается пробоподготовке.

Концентрации исходных (контрольных) образцов и образцов для оценки стабильности рассчитываются на основе двух независимых калибровочных кривых, рассчитанных по свежеприготовленным калибровочным образцам.

Средние значения концентраций в двух наборах из шести образцов должны находиться в диапазоне 85.00 – 115.00% от номинальной концентрации [3].

Результаты тестов представлены в таблицах 3-4. Результаты соответствуют критериям приемлемости, установленным Решением Совета Евразийской экономической комиссии № 85 от 03.11.2016 г. Валидационный тест одобрен.

Таблица 3 – Исходная точка стабильности (SIP) для ASA и SA

Аналит	ASA		SA	
Уровень концентрации, мкг/мл	L 0.060	H 0.960	L 0.600	H 9.600
Среднее значение, мкг/мл	0,065	1,006	0,634	9,595
Стандартное отклонение (SD)	0,003	0,022	0,021	0,120
Коэффициент вариации (CV), %	3,91	2,20	3,33	1,25
Правильность, %	**108,43**	**104,79**	**105,71**	**99,95**

Таблица 4 – Краткосрочная стабильность ASA и SA в плазме крови человека

Аналит	ASA		SA	
Уровень концентрации, мкг/мл	L 0.060	H 0.960	L 0.600	H 9.600
Среднее значение, мкг/мл	0,064	0,970	0,662	10,053
Стандартное отклонение (SD)	0,002	0,009	0,016	0,186
Коэффициент вариации (CV), %	2,73	0,96	2,37	1,85
Правильность, %	**106,79**	**101,07**	**110,38**	**104,72**

Долгосрочная стабильность

Оценка долгосрочной стабильности аналита (ASA и SA) в плазме крови человека проводилась при хранении образцов в морозильной камере при температуре -20°С в течение 80 суток.

Валидационный тест «Долгосрочная стабильность» позволяет определить допустимый период хранения биологических образцов при заданной температуре, в течение которого сохраняется стабильность аналита на должном уровне.

Аналогично тесту «Краткосрочная стабильность» готовятся два набора из шести образцов плазмы с добавлением растворов ASA и SA на нижнем (L) и верхнем (H) уровнях концентрации, один из которых подвергается немедленной пробоподготовке и выступает исходной точкой стабильности (SIP), другой – закладывается на хранение и подвергается пробоподготовке по истечении периода хранения (80 суток).

Концентрации исходных (контрольных) образцов и образцов для оценки стабильности рассчитываются на основе двух независимых калибровочных кривых.

Согласно требованиям Решения Совета Евразийской экономической комиссии № 85 от 03.11.2016 г. средние значения концентраций в двух наборах из шести образцов должны находиться в диапазоне 85.00 – 115.00% от номинальной концентрации [3].

Результаты тестов представлены в таблице 5. Результаты соответствуют заданным критериям приемлемости. Валидационный тест «Долгосрочная стабильность» одобрен.

Таблица 5 – Долгосрочная стабильность ASA и SA в плазме крови человека

Аналит	ASA		SA	
Уровень концентрации, мкг/мл	L 0.060	H 0.960	L 0.600	H 9.600
Среднее значение, мкг/мл	0,056	0,893	0,605	10,087
Стандартное отклонение (SD)	0,000	0,053	0,000	0,346
Коэффициент вариации (CV), %	0,00	5,93	0,00	3,43
Правильность, %	**92,92**	**92,99**	**100,81**	**105,07**

Стабильность при замораживании-таянии

Данный тест оценивает стабильность аналита (ASA и SA) в плазме крови человека в ходе трех циклов замораживания-таяния. Испытание проводится для оценки допустимого числа циклов замораживания-таяния, при котором сохраняется стабильность аналита на должном уровне.

Для выполнения данного валидационного теста готовятся два набора из шести образцов плазмы крови человека с добавлением растворов ASA и SA на нижнем (L) и верхнем (H) уровнях концентрации. Один набор подвергается немедленной пробоподготовке и используется в качестве исходной точки стабильности (SIP). Другой набор замораживается при температуре –20°С. Через 12 часов набор подвергается оттаиванию при комнатной температуре. Набор подвергается процедуре замораживание-таяние еще дважды. После третьего оттаивания образцы подвергаются пробоподготовке.

Концентрации исходных (контрольных) образцов и образцов для оценки стабильности рассчитываются на основе двух независимых калибровочных кривых.

Средние значения концентраций в двух наборах из шести образцов должны находится в диапазоне 85.00 – 115.00% от номинальной концентрации.

Результаты тестов представлены в таблицах 6-7. Результаты соответствуют критериям приемлемости, установленным Решением Совета Евразийской экономической комиссии № 85 от 03.11.2016 г. [3]. Валидационный тест одобрен.

Таблица 6 – Исходная точка стабильности (SIP) для ASA и SA

Аналит	ASA		SA	
Уровень концентрации, мкг/мл	**L 0.060**	**H 0.960**	**L 0.600**	**H 9.600**
Среднее значение, мкг/мл	0,061	1,001	0,627	9,779
Стандартное отклонение (SD)	0,003	0,027	0,028	0,312
Коэффициент вариации (CV), %	4,62	2,66	4,46	3,19
Правильность, %	**102,24**	**104,27**	**104,54**	**101,86**

Таблица 7 – Стабильность ASA в плазме при замораживании-таянии

Аналит	ASA		SA	
Уровень концентрации, мкг/мл	**L 0.060**	**H 0.960**	**L 0.600**	**H 9.600**
Среднее значение, мкг/мл	0,056	0,956	0,590	10,122
Стандартное отклонение (SD)	0,004	0,030	0,038	0,213
Коэффициент вариации (CV), %	6,32	3,13	6,51	2,11
Правильность, %	**93,48**	**99,57**	**98,30**	**105,44**

Разработанная аналитическая методика количественного определения ASA и SA в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС валидирована по трем показателям стабильности аналита в плазме: краткосрочная стабильность в течение 24 часов при комнатной температуре, долгосрочная стабильность в течение 80 суток при температуре –20°С и стабильность в ходе трех циклов замораживания-таяния. Результаты в установленном диапазоне концентраций отвечают критериям приемлемости, установленным Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза» и Руководством ICH M10 при проведении фармакокинетических исследований [3, 4]. Разработанная и валидированная методика может быть использована в фармакокинетических исследованиях и исследованиях биоэквивалентности.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.19.00 Аналитическая химия
76.31.35 Фармхимия

ЛИТЕРАТУРА

1. Draft Guidance on Aspirin: Contains Nonbinding Recommendations of FDA. 2017.
2. Церковная К.М., Флисюк Е.В., Шабров В.Н. Разработка и валидация аналитической методики количественного определения ацетилсалициловой кислоты и её метаболита салициловой кислоты в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС // Химико-фармацевтический журнал. 2021. Т. 55. N 12. С. 50–55. DOI 10.30906/0023-1134-2021-55-12-50-55.
3. Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза: Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 85. [Электронный ресурс] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207405/.
4. Bioanalytical Method Validation: ICH guideline M10. 2019.

SUMMARY

STABILITY ASSESSMENT OF ACETYLSALICYLIC ACID AND SALICYLIC ACID IN HUMAN BLOOD PLASMA BY HPLC-MS/MS

Tserkovnaya K.M.[1], 1st year postgraduate student (ORCID: 0000-0001-5047-0295), **Shabrov V.N.**[2], young researcher
Academic advise: **Flisyuk E.V.**[1], Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor,
head of Department of Technology of Medicinal Forms, vice-rector for Research
1 – St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
2 – LLC «Quinta-Analytica Yaroslavl»
54, Leningradskiy Avenue, Yaroslavl, 150045, Russian Federation
E-mail: ksenia.kirillova@spcpu.ru

The stability of ASA and SA in human blood plasma was assessed in the short-term (24 hours) at room temperature and long-term (80 days) at –20°C and during three freeze–thaw cycles, by HPLC-MS/MS. The validation test results met the

requirements of Russian and international regulations for bioanalytical methods. The developed method could be used further for pharmacokinetic and bioequivalence studies.

Keywords: *acetylsalicylic acid, salicylic acid, human blood plasma, HPLC-MS/MS, validation, bioequivalence, stability.*

REFERENCES

1. Draft Guidance on Aspirin: Contains Nonbinding Recommendations of FDA. 2017.

2. Tserkovnaya K.M., Flisyuk E.V., Shabrov V.N. Development and validation of analytical method for the quantitative determination of acetylsalicylic acid and its metabolite in human blood plasma by HPLC-MS/MS // Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal. 2021. Vol. 55(12). P. 50–55. DOI 10.30906/0023-1134-2021-55-12-50-55 (in Russian).

3. On Approval of Rules for Drug Bioequivalence Studies in the Eurasian Economic Union. Decision No. 85 of the Eurasian Economic Commission Council of Nov. 3, 2016. [Internet] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207405/ (in Russian).

4. Bioanalytical Method Validation: ICH guideline M10. 2019.

УДК 368.025.6

УПРАВЛЕНИЕ РИСКАМИ ПРИ ВХОДНОМ КОНТРОЛЕ СЫРЬЯ, ИСПОЛЬЗУЕМОГО В ПРОИЗВОДСТВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Шефатов П.В., магистрант 2 года обучения
Научный руководитель: **Орлов А.С.**, канд. фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: pavel.shefatov@spcpu.ru

В статье представлено обоснование необходимости создания и функционирования процедуры управления рисками при проведении входного контроля исходного сырья и материалов, поступающих на фармацевтическое предприятие, обозначены цели и принципы ее работы. Рассмотрены основные методы и особенности управления рисками при проведении входного контроля исходного сырья и материалов, поступающих на фармацевтическое предприятие. Представлены результаты анализа рисков при входном контроле сырья на фармацевтическом предприятии, проведено ранжирование выявленных рисков по степени риска и вероятности возникновения.

Ключевые слова: *входной контроль сырья, фармацевтическое предприятие, анализ рисков, управление рисками для качества, методы оценки рисков.*

Целью входного контроля исходного сырья, который осуществляется для каждой партии, является подтверждение соответствия нормативным требованиям (требованиям спецификации) [1]. Управление рисками при проведении входного контроля исходного сырья и материалов, поступающих на фармацевтическое предприятие, позволяет упростить и уменьшить количество хаотичных движений, связанных с контролем без потери гарантий качества препарата. Входной контроль качества, основанный на оценке рисков, заключается в том, чтобы на каждом этапе обеспечивается контроль только критических показателей качества. Под критическим показателем качества продукта понимается физическое, химическое или биологическое свойство, выход которого за пределы установленной спецификации может привести к серьезным последствиям для потребителя.

Большинство фармацевтических компаний уже пришли к пониманию того, что не все показатели качества и параметры процесса нужны и одинаково важны для получения убедительных доказательств качества выпускаемой продукции. Однако для понимания того, каким именно показателям качества и параметрам процесса требуется уделить повышенное внимание, необходимо провести дополнительное исследование.

В качестве объекта исследования выбран процесс входного контроля исходного сырья и материалов при поступлении на фармацевтическое предприятие. Предметом исследования является процесс проведения анализа рисков при формировании системы входного контроля. Анализ основ проведения анализа рисков был проведен с использованием ретроспективного анализа существующих проблем на фармацевтических предприятиях в области входного контроля. Для оценки рисков (ранжирования) при входном контроле качества сырья, используемого в производстве лекарственных препаратов, применялась система количественной оценки.

На первом этапе исследования проводился анализ существующих проблем, который показал, что наиболее остро стоят вопрос: нерепрезентативности пробы; вероятность возникновения брака при контроле уже готовой продукции, причиной чего может служить недостаточных объем испытаний; высокие затраты как трудовых, так и материальных ресурсов на проведение входного контроля.

На следующем этапе были изучены принципы управления рисками на фармацевтическом предприятии, а также нормативная документация, регламентирующая применение тех или иных методов анализа риска в различных областях. Было выявлено, что на любом фармацевтическом предприятии должна функционировать система управления рисками

для качества, в рамках которой должен быть разработан систематизированный процесс оценки, контроля, донесения и пересмотр рисков для качества лекарственного препарата на протяжении всего его жизненного цикла. К основным методам оценки рисков при входном контроле качества можно отнести методы анализа видов и последствий отказов (FMEA), анализа видов, последствий и критичности отказов (FMECA), анализа дерева отказов (FTA), анализа опасностей и критических контрольных точек (HACCP), исследования опасности и работоспособности (HAZOP), предварительного анализа опасностей (PHA).

Современный подход к оценке рисков при входном контроле должен предполагать осуществление следующих мероприятий [2]:

1) Изучение природы изменчивости (вариации), которая присуща создаваемому продукту;

2) Определение критических показателей качества;

3) Определение зависимости изменчивости критических параметров качества от изменчивости критических параметров процесса;

4) Формирование стратегии контроля качества.

Эффективная организация входного контроля и применение процедуры управления рисками могут существенно снизить вероятность поступления в производство сырья и материалов, несоответствующего качества. Однако процедура управления рисками при входном контроле сырья, используемого в производстве лекарственных средств, в настоящее время является недостаточно разработанной. В связи с этим актуальной является разработка организационно-управленческих решений, способствующих совершенствованию деятельности по управлению рисками при входном контроле сырья, используемого в фармацевтическом производстве.

Далее был проведен анализ и оценка рисков процедуры входного контроля исходного сырья, а также оценена вероятность возникновения несоответствий и отклонений от трендов по каждому показателю качества. На заключительном этапе анализа рисков были описаны предупреждающие действия для минимизации последствий и/или вероятности возникновения. Данные проведенного исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты анализа рисков при входном контроле сырья, используемого в производстве лекарственных препаратов, на фармацевтического предприятии *

№ п/п	Наименование показателя	Частота возникновения, % (общий по всем вида сырья)	Возможные причины	Уровень риска, присвоенный в результате оценки риска	Мероприятия по контролю риска
1	2	3	4	5	6
1	Удельное вращение	10,4	Недостаточно чистая лабораторная посуда	**32 Высокий**	Наличие процедуры мытья и сушки лабораторной посуды, наличие контроля чистоты лабораторной посуды. Обучение персонала с проведением аттестации. Наличие внутрилабораторного контроля работы исполнителя.
			Неправильно приготовленный реактивы (эталон мутности)	**24 Высокий**	Наличие в лаборатории должности препаратора, обученного в соответствии с учебными программам. Введение записи процесса приготовления реактивов. ежедневный контроль за сроками годности реактивов
			Не правильная работа оборудования	**24 Высокий**	Наличие процедуры калибровки, поверки оборудования/ измерительных приборов. Проведение периодической поверки оборудования. Наличие процедур OOT и OOS.
2	Легко обугливаемые вещества	10	Неправильно приготовленный реактивы (эталон цветности)	**24 Высокий**	В протоколе анализа указан нормативный документ, в соответствии с которым должен быть выполнен анализ. Обучение персонала с проведением аттестации. Наличие внутрилабораторного контроля работы исполнителя.
			Недостаточно чистая лабораторная посуда	**27 Высокий**	Наличие в лаборатории должности препаратора, обученного в соответствии с учебными программам. Введение записи процесса приготовления реактивов. ежедневный контроль за сроками годности реактивов
3	Потеря в массе при высушивании	9,7	Неправильная работа оборудования	**24 Высокий**	Наличие процедуры калибровки, поверки оборудования/ измерительных приборов. Проведение периодической поверки оборудования. Наличие процедур OOT и OOS.

1	2	3	4	5	6
4	Вода	9,2	Неправильная работа оборудования	**24 Высокий**	Наличие процедуры калибровки, поверки оборудования/ измерительных приборов. Проведение периодической поверки оборудования. Наличие процедур ООТ и OOS.
			Неправильные параметры установки настроек оборудования	**18 Средний**	Наличие инструкций по эксплуатации на каждую единицу оборудования/ измерительных приборов. Наличие журналов калибровки, поверки оборудования/ измерительных приборов. Обучение персонала с проведением аттестации. Наличие внутрилабораторного контроля работы исполнителя (контроля достоверности результатов анализов). Управление OOS, ООТ
			Превышен допустимый интервал установки титра	**18 Средний**	Интервалы проверки строго прописаны, введется журнал установки титра, на приборе имеется маркировка с указанием даты.
5	pH	8,5	Недостаточно чистая лабораторная посуда	**27 Высокий**	Наличие процедуры мытья и сушки лабораторной посуды, наличие контроля чистоты лабораторной посуды. Обучение персонала с проведением аттестации. Наличие внутрилабораторного контроля работы исполнителя.
			Неправильная работа оборудования	**24 Высокий**	Наличие процедуры калибровки, поверки оборудования/ измерительных приборов. Проведение периодической поверки оборудования. Наличие процедур ООТ и OOS.
6	Количественное определение	7,8	Недостаточно чистая лабораторная посуда	**27 Высокий**	Наличие процедуры мытья и сушки лабораторной посуды, наличие контроля чистоты лабораторной посуды. Обучение персонала с проведением аттестации. Наличие внутрилабораторного контроля работы исполнителя.
			Неправильная работа оборудования	**24 Высокий**	Наличие процедуры калибровки, поверки оборудования/ измерительных приборов. Проведение периодической поверки оборудования. Наличие процедур ООТ и OOS.
7	Сульфатная зола	7,5	Недостаточно чистая лабораторная посуда	**27 Высокий**	Наличие процедуры мытья и сушки лабораторной посуды, наличие контроля чистоты лабораторной посуды. Обучение персонала с проведением аттестации. Наличие внутрилабораторного контроля работы исполнителя.
			Недостаточно время для сжигания	**24 Высокий**	Конечная точка анализа, определяется визуально – на личном опыте аналитика
8	Сульфаты	6,7	Недостаточно чистая лабораторная посуда	**27 Высокий**	Наличие процедуры мытья и сушки лабораторной посуды, наличие контроля чистоты лабораторной посуды. Обучение персонала с проведением аттестации. Наличие внутрилабораторного контроля работы исполнителя.
			Неправильно приготовленный реактивы (эталон цветности)	**24 Высокий**	Наличие в лаборатории должности препаратора, обученного в соответствии с учебными программами. Введение записи процесса приготовления реактивов. ежедневный контроль за сроками годности реактивов
8	Цветность	3,8	Недостаточно чистая лабораторная посуда	**27 Высокий**	Наличие процедуры мытья и сушки лабораторной посуды, наличие контроля чистоты лабораторной посуды. Обучение персонала с проведением аттестации. Наличие внутрилабораторного контроля работы исполнителя.
			Неправильно приготовленный реактивы (эталон цветности)	**24 Высокий**	Наличие в лаборатории должности препаратора, обученного в соответствии с учебными программами. Введение записи процесса приготовления реактивов. ежедневный контроль за сроками годности реактивов
			Ошибка в количестве пробы взятой для анализа	**18 Средний**	Наличие в протоколах анализа, количества вещества, необходимого для анализа, ссылки на методику. Наличие процедуры ООТ, наличие процедуры проверки заполненных протоколов анализа вторым лицом

* В Таблице представлены только показатели, имеющие высокую вероятность возникновение и причины с высокими и средними рисками.

При ранжировании уровня риска использовалась балльная система оценки уровня риска. Выявленные риски оценивались по трем параметрам вероятность возникновения, тяжесть вреда и способность к выявлению в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2 – Балльная система оценки рисков

Вероятность (P)	Баллы	Серьезность (S)	Баллы	Выявляемость (D)	Баллы
0,0001	1	Отклонение	1	До начала операции	1
0,001	2	Повторный анализ с положительным результатом	2	Во время операции	2
0,01	3	Брак серии/части	3	В ходе последующих операций	3
0,1	4	Остановка производства	4	На этапе анализа готового продукта	4
>0,1	5	Отзыв	5	Выявлено потребителем	5

Балльная оценка присваивалась с использованием следующей формулы:

$$\text{Балльная оценка риска} = P*S*D,$$

где P – вероятность возникновения;
S – серьезность последствий;
D – сложность выявления.
На основании полученных данных определялись необходимые мероприятия по управлению данного риска (таблица 3).

Таблица 3 – Ранжирование рисков

Балльная оценка	Ранг	Управление риском
>23	Высокий	Требуется дальнейшее снижение риска
16-23	Средний	Контролируется системой качества + контроль производства готовой продукции
<16	Низкий	Контролируется системой качества

На основе проведенной работы по анализу и оценки рисков была разработана блок- схема процесса анализа рисков при входном контроле исходного сырья, представленная на рисунке.

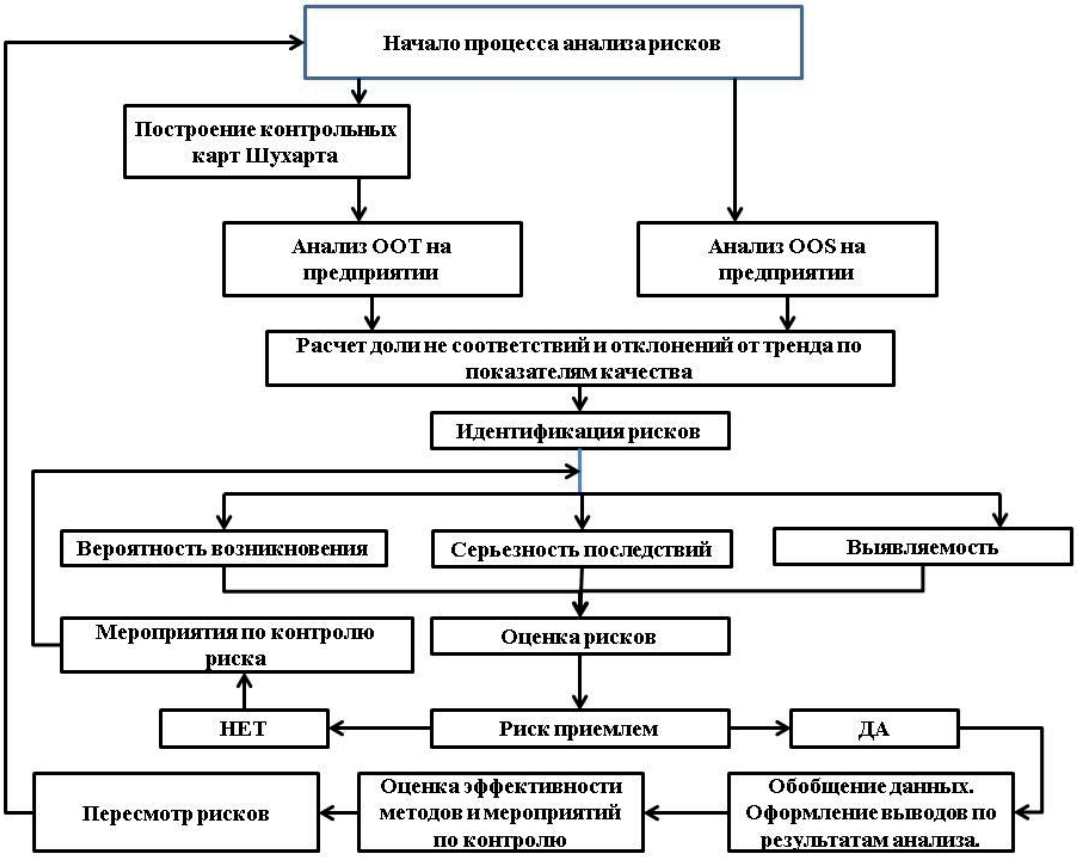


Рисунок. Блок-схема процесса анализа рисков при входном контроле исходного сырья

В результате проведенного исследования оценки рисков можно сделать вывод о том, что наименее стабильными показателями качества являются цветность, прозрачность, удельное вращение, вода (методом К.Фишера и методом потери в массе при высушивании), pH. Данные показатели сильно зависят от условий и методов проведения анализа, что косвенно подтверждают результаты опроса. Анализ по данным показателям стоит проводить в каждой партии, при наблюдении за стабильностью контролировать изменение на каждый срок изъятия. К возможным причинам отклонений можно отнести чистоту лабораторной посуды, хранение и правильность приготовления реактивов, а также нарушение требований нормативной документации. Для минимизации риска необходимо переходить на автоматическую мойку посуды, так же необходимо провести валидацию посудомоечной машины и самой процедуры очистки и сушки лабораторной посуды, для проведение этих процедур рекомендуется провести валидацию, используемой в лаборатории системы очистки воды для лабораторного анализа и контролировать критичные показатели качества ежедневно. В лаборатории должен быть разработан СОП по приготовлению и хранению реактивов с учетом всех требований руководящих документов, должна быть оформлена процедура контроля за сроками годности и условиями хранения реактивов, а также за периодической проверкой поправочных коэффициентов (при необходимости), необходимо назначить ответственное лицо. Для предотвращения нарушений требований нормативной документации исполнителями, необходимо разработать на каждый вид анализа контрольную процедуры, отвалидировать аналитическую методику, также должна быть разработана процедуры периодического внутрилабораторного контроля работы исполнителей, периодически проводит технологический инструктаж и обучение.

Для контроля и минимизации отклонений при входном контроле необходима процедура контроля трендов, и процедуры расследования при получении результатов OOS и OOT.

В результате проведенного исследования был выполнен анализ существующих проблем в системе входного контроля, а также выявлено, какие из указанных проблем стоят наиболее остро. В процессе изучения методологии управления рисками на фармацевтическом предприятии было сделано предположение, что анализ рисков может быть полезен не только в процессе производства лекарственных препаратов, но и в процессе входного контроля качества сырья и материалов. В работе выдвинуты основные процессы системы входного контроля, в которых возможно успешное применение анализа рисков. В результате проведенного анализа установлено, что наиболее критическими показателями качества являются: удельное вращение, легко обугливаемые вещества, потеря в массе при высушивании, вода методом К. Фишера и др. К причинам возможных несоответствий можно отнести: чистота лабораторной посуды, используемой при проведение анализа; не правильная работа оборудования; нарушение в приготовлении или использовании рабочих реактивов и стандартах образцов. Полученные результаты могут быть использованы в дальнейшем при разработке организационно-управленческих решений, способствующих совершенствованию деятельности по управлению рисками при входном контроле сырья, используемого в производстве лекарственных препаратов.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

06.00.00 Экономика и экономические науки
06.81.19 Управление производством

ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ Минпромторга РФ от 14 июня 2013 г № 916 (ред. от 18.12.2015) «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики». [Электронный ресурс]. URL: https://base.garant.ru/70451198 (дата обращения: 04.03.2022).

2. Александров В.А. Фактор субъективности при оценке риска по качеству // Промышленное обозрение. Фармацевтическая отрасль. 2011. N 5. С.116-119.

SUMMARY

RISK MANAGEMENT IN THE INPUT CONTROL OF RAW MATERIALS USED IN THE PRODUCTION OF MEDICINES

Shefatov P.V., 2nd year undergraduate student
Academic advise: **Orlov A.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Associate Professor, chairholder of Economics and Management.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: pavel.shefatov@spcpu.ru

The article presents the rationale for the need to create and operate a risk management procedure for conducting input control of raw materials and materials entering a pharmaceutical enterprise, and outlines the goals and principles of its operation. The main methods and features of risk management during the input control of raw materials and materials entering the pharmaceutical enterprise are considered. The results of the risk analysis at the entrance control at the pharmaceutical enterprise are presented, the ranking of the identified risks by the degree of risk and probability of occurrence is carried out.

Keywords: *input control of raw materials, pharmaceutical enterprise, risk analysis, quality risk management, risk assessment methods.*

REFERENCES

1 . Order of the Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation of June 14, 2013 № 916 (as amended on 18.12.2015) «On approval of the Good Manufacturing Practice Rules». [Internet]. URL: https://base.garant.ru/70451198. (Accessed: 04.03.2022) (in Russian).

2. Aleksandrov V.A. The factor of subjectivity in assessing risk by quality // Industrial Review. Pharmaceutical industry, 2011. N 5. P.116-119. (in Russian)

УДК 54.01+54-182

ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ДИСПЕРСИЙ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ НА ОСНОВЕ ПЛОДОВ СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ ОТ PH И ВРЕМЕНИ КОНТАКТА ЧАСТИЦ С ВОДНЫМИ РАСТВОРАМИ

Щербенко Е.А., студ. 3 курса, **Яновер Ю.И.**, студ. 3 курса
Научный руководитель: **Васильева П.А.**, аспирант 2 года обучения
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail*:* elena.shcherbenko@spcpu.ru, yuliya.yanover@spcpu.ru

Получена вытяжка из плодов софоры японской, которая представляет собой дисперсию растительного сырья. Методом электрофореза определена зависимость электрокинетического потенциала вытяжки от pH и времени контакта частиц с водным раствором. Определены условия адсорбционно-десорбционного равновесия. Предложены параметры экстракции плодов софоры японской.

Ключевые слова: *электрокинетический потенциал, электрофорез, софора японская.*

Фитопрепараты в области фармации занимают важную роль. Использование растительного сырья для производства лекарственных средств широко применяется в фармацевтической отрасли благодаря минимизации побочных действий на организм, сравнительно небольшой стоимости сырья и широкому спектру действия. Плоды софоры японской в последние годы стала широко использоваться как лечебное средство за счет содержания в них флавоноидов, сапонинов, катехинов и других биологически активных веществ [1, 2, 3].

Проблема увеличение выхода растительных веществ после экстракции является важной задачей фармацевтической отрасли. Возможными путями для решения этой проблемы может являться изменение времени экстракции, температуры, значения pH. Эти показатели могут влиять на установление адсорбционно-десорбционного равновесия, что способствует определению лучших параметров экстракции растительного материала.

Цель представленной работы состояла в определение электрокинетического потенциала частиц дисперсии софоры японской в зависимости от времени и pH.

Были поставлены следующие задачи:

1. Получить водные экстракты из плодов софоры японской методом перколяции;
2. Подобрать необходимые условия для создания постоянного pH полученных экстрактов;
3. Определить электрокинетический потенциала частиц дисперсии софоры японской при различных условиях.

Объект: Дисперсия плодов софоры японской ТУ 9198-001- 0145156605-16, полученная методом перколяции. Сырье размером частиц 1-3 мм, взвешивали на лабораторных весах Shinko HTR-220 CE 0010104000921.

Отношение сырья к экстрагенту составило 1:4. В качестве экстрагента использовались водные растворы с различным значением pH (2,80; 3,90; 5,29; 8,00; 8,23; 9,00). Количество необходимого экстрагента рассчитывали по формуле:

$$V_{\text{растворителя}} = V_{\text{извлечения}} + (m_{\text{сырья}} \times K), \qquad (1)$$

где K – коэффициент водопоглощения – 2, V извлечения – объём необходимого извлечения

Навеску заливали определенным количеством воды. Время выдерживания составляло один час. Далее загружали в перколятор, на дне которого была установлена марля. Выше перколятора помещали делительную воронку, в нее заливали рассчитанное количество экстрагента. В первой части эксперимента в качестве экстрагента использовали дистиллированную воду подкисленную соляной кислотой 0,01 моль/л до определенного значения pH, во втором случае использовали дистиллированную воду, подщелоченную едким натром 0,01 моль/л. Подачу экстрагента устанавливали таким образом, чтобы скорость подачи была равна скорости выхода вытяжки. Полученную дисперсию использовали для дальнейшего изучения. Далее проводили определение ζ-потенциала при помощи электрофореза – методом подвижной границы. Для исследования зависимости электрокинетического потенциала от времени контакта дисперсных частиц с дисперсионной средой проводили измерения непосредственно после получения вытяжки, через пол часа, сорок пять минут и через 1 час. Расчеты ζ-потенциала проводили по формуле 2 [4].

$$\zeta = \frac{h * \eta * l}{t * \varepsilon * \varepsilon_0 * E}, \qquad (2)$$

где: h – смещение границы золя, м; η – вязкость дисперсной среды (0,0011 Н·с/м²); l – расстояние между электродами, м; t – время электрофореза, с; ε – диэлектрическая проницаемость среды; ε_0 – электрическая постоянная (8,85*10−12 А*с/(В*м)); E – напряженность электрического поля, В.

На рисунке 1. приведена зависимость ζ-потенциала от времени контакта дисперсных частиц с растворами HCl (pH 2,80; 3,10, и 5,29). Из рисунка видно, что при всех значениях pH равновесие устанавливается в течение 30 минут. Это время соответствует оптимальному времени для процесса экстракции биологически-активных веществ из плодов софоры японской.

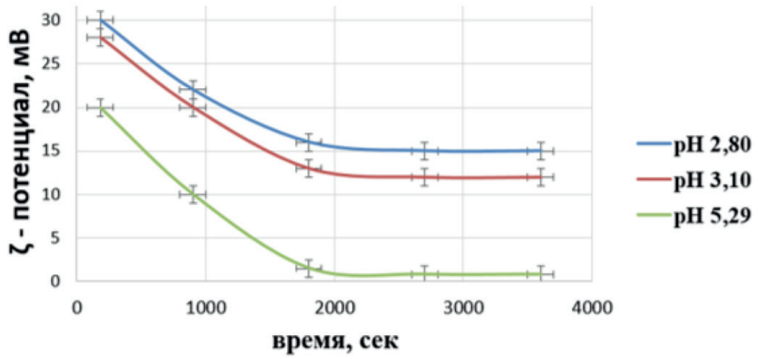


Рисунок 1. Зависимость ζ-потенциала от времени контакта дисперсных частиц и растворителя при pH (2,80; 3,90; 5,29)

Рассмотрим зависимость ζ-потенциала от pH среды через 30 минут после приготовления дисперсий плодов софоры японской (рис. 2).

Рисунок 2. Зависимость ζ-потенциала от pH среды

Из рисунка видно, что частицы плодов софоры заряжены положительно в области pH <6 и с ростом pH величина электрокинетического потенциала уменьшается. Образование заряда на частицах софоры происходит за счет процессов адсорбции и десорбции ионов H^+ и OH^- на активных центрах, таких как аминогруппы, карбокси, карбоксильных и других группах, так как растения содержат различные биологически активные вещества (белки, углеводы, липиды, нуклеиновыекислоты, органические кислоты и др.). [5-9] В кислой области преобладает сорбция ионов H+ и частицы заряжены положительно, а в щелочной OH^- и заряд отрицательный Значение изоэлектрической точки pHиэт для данной системы находится вблизи pH ~ 6. На процесс установления равновесия наряду с адсорбцией (десорбцией) ионов H^+ и OH^- влияет и экстракция различных биологически активных веществ из диспергированных частиц софоры.

В ходе исследования по изучению электрокинетических свойств дисперсий софоры японской, было установлено:

1. время установления адсорбционного равновесия для изученной дисперсии составляет 30 минут;
2. в области pH < 6 частицы измельченной софоры заряжены положительно вследствие адсорбции ионов H+, так как с уменьшением концентрации ионов водорода в системе положительное значение электрокинетического потенциала уменьшается;
3. изоэлектрическая точка частиц софоры лежит в области pH ≥ 6.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.15.37 Химия коллоидов. Дисперсные системы

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко Н.Н. Фитопрепараты, анализ фармацевтического рынка российской федерации // Научный результат. Медицина и фармация. 2017. Т. 3. N 4. С. 30-38

2. Ковалева Л.Г., Сампиев А.М., Хочава М.Р., Никифорова Е.Б. Современное состояние и перспективы дальнейшего изучения плодов софоры японской // Научные ведомости Серия Медицина. Фармация. 2012. № 22(141). Вып. 20. С. 163-170

3. Легостева А. Б., Абросимова О. Н., Каухова И. Е. Химия и технология фитопрепаратов. СПб.: Изд-во СПХФУ, 2018. 128 с.

4. Духин С.С., Дерягин Б.В. Электрофорез. М.: Из-во Наука, 1976. 332 с.

5. Морозов С.В., Ткачева Н.И., Ткачев А.В. Проблемы комплексного химического профилирования лекарственных растений. // Химия растительного сырья. 2018. N 4. С. 5-28

6. Ролдугин В.И. Физикохимия поверхности. Долгопрудный: Из-во ИД Интеллект, 2011. 507 с.

7. Синютина С.В., Романцова С.В., Савельева В.Ю. Экстракция флавоноидов из растительного сырья и изучение их антиоксидантных свойств / Вестник ТГУ. 2011. Т. 16. N 1. С. 345-347

8. Kurkin V.A. The modern aspects of the chemical classification of biologically active compounds // Farma-tsiya. 2002. Vol. 50(2). P. 8-16.

9. Conventional and Emerging Extraction Processes of Flavonoids / L. Mónica [et al.] // Processes. 2020. Vol. 8(4). P. 434. https://doi.org/10.3390/pr8040434

SUMMARY

STUDYING THE DEPENDENCE OF THE ELECTROKINETIC POTENTIAL OF DISPERSIONS OF PLANT RAW MATERIALS BASED ON SOPHORIA JAPANESE FRUITS ON pH AND TIME OF CONTACT OF PARTICLES WITH AQUEOUS SOLUTIONS

Yanover Yu.I., 3rd year student, **Shcherbenko E.A.**, 3rd year student
Academic advise: **Vasilyeva P.A.**, 2nd year post-graduate student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popova St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail*:* yuliya.yanover@spcpu.ru

An extract was obtained from the fruits of Sophora japonica, which is a dispersion of plant materials. Electrophoresis was used to determine the dependence of the electrokinetic potential of the extract on pH and the contact time of particles with an aqueous solution. The conditions of adsorption-desorption equilibrium are determined. Parameters for the extraction of Sophora japonica fruits are proposed.

Keywords: *electrokinetic potential, electrophoresis, Japanese Sophora.*

REFERENCES

1. Boyko N.N. Phytopreparations, analysis of the pharmaceutical market of the Russian Federation // Scientific result. Medicine and pharmacy. 2017. Vol. 3(4). P. 30-38 (in Russian)

2. Kovaleva L.G., Sampiev A.M., Khochava M.R., Nikiforova E.B. Current state and prospects for further study of the fruits of Sophora japonica // Scientific vedomosti Medicine series. Pharmacy. 2012. Vol. 22(141). Issue 20 P. 163-170 (in Russian)

3. Legosteva A. B., Abrosimova O. N., Kaukhova I. E. Chemistry and technology of phytopreparations. St. Petersburg: SPKhFU, 2018. 128 p. (in Russian)

4. Duhin S.S., Deryagin B.V. Electrophoresis. Moscow: Iz-vo Nauka, 1976. 332 p. (in Russian)

5. Morozov S.V., Tkacheva N.I., Tkachev A.V. Problems of complex chemical profiling of medicinal plants. // Chemistry of plant raw materials. 2018. N. 4. P. 5 – 28 (in Russian)

6. Roldugin V.I. Physical chemistry of the surface. Dolgoprudny: Publishing House Intellect, 2011. 507 p. (in Russian)

7. Sinyutina S.V., Romantsova S.V., S avelyeva lV.Yu. Extraction of flavonoids from plant materials and the study of their antioxidant properties // Bulletin of TSU. 2011. Vol. 16(1). C. 345-347. (in Russian)

8. Kurkin V.A. The modern aspects of the chemical classification of biologically active compounds // Farma-tsiya. 2002. Vol. 50(2). P. 8-16.

9. Conventional and Emerging Extraction Processes of Flavonoids / L. Mónica [et al.] // Processes. 2020. Vol. 8(4). P. 434. https://doi.org/10.3390/pr8040434

Секция 3. Фармакологический анализ природных и синтетических соединений

Лекарственные препараты, открытые фармацевтической промышленностью за последние годы, во многом изменили медицинскую практику. В течение многих лет создание новых препаратов основывалось на подходах, не зависящих от биомишени и механизма действия, исходя из этноботанических знаний или химического строения, часто подпитываемых интуицией. С появлением современных фармакологических методов и возможностей молекулярной биологии, открытие лекарств, в значительной степени, превратилось в основанный на гипотезах целевой подход. При этом тесное взаимодействие фармакологии с другими биомедицинскими науками открывает новые воодушевляющие возможности в разработке инновационных лекарственных средств.

12 апреля 2022 года в рамках XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» состоялось заседание секции «Фармакологический анализ природных и синтетических соединений». Заседание объединило лучшие выступления, ранее заслушанные на отборочном этапе конференции, проходившем в подразделениях СПХФУ – кафедрах фармакологии и клинической фармакологии, физиологии и патологии, высшей математики, промышленной экологии, НОЦ молекулярно-клеточных технологий и НОЦ биофизических исследований в сфере фармацевтики.

В научной части заседания прозвучали доклады, подготовленные студентами и аспирантами СПХФУ (Приходько В.А., Пучик М.М., Шиц Д.Д., Самусева П.Д., Кукушкина Е.С., Алтухова И.М., Суязова О.С., Иванова С.А., Юдников М.Д.), а также представителями Волгоградского государственного медицинского университета (Муха О.Ю., Придворов Г.В.), Алтайского государственного медицинского университета (Кальницкий А.С.), университета ИТМО (Каргин А.А.). Тематика представленных докладов охватывала изучение новых нейротропных соединений, фундаментальные и прикладные вопросы диагностики нефропатии, безопасности лекарственных препаратов, оптимизации режимов введения противоопухолевых средств.

Жюри отметило высокий уровень докладов, их несомненную теоретическую значимость и практическую ориентированность. Работам, которые произвели наиболее яркое впечатление, были присуждены призовые места:

I место – Приходько Вероника Александровна – аспирант 3-го года обучения ФГБОУ ВО СПХФУ за работу «Динамика когнитивно-мнестических функций, нейромышечной передачи и физической работоспособности при экспериментальном неалкогольном стеатогепатите»;

II место – Пучик Мария Михайловна и Шиц Дарья Дмитриевна, студенты 3-го курса ФГБОУ ВО СПХФУ за сообщение «Применение наивного байесовского классификатора для выявления эффектов различных нейротропных средств по параметрам электрокортикограмм у крыс»;

III место – Муха Ольга Юрьевна, студент 5 курса и Придворов Глеб Васильевич, аспирант 1-го года обучения ФГБОУ ВО ВолгГМУ за доклад «Оценка биоэлектрической активности мозга при изучении фармакологического действия антипсихотических веществ на модели расстройства шизофренического спектра, вызванного электролитической деструкцией вентрального гиппокампа у крыс».

Мы искренне благодарим организаторов и участников конференции, вложивших свои силы, время и энергию в осуществление этого научного форума молодых ученых.

Модератор секции
Сергей Владимирович Оковитый,
заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России,
д-р.мед. наук, профессор

УДК 615.035

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ СПОРТСМЕНОВ В БОРЬБЕ САМБО НА ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ЭТАПЕ

Басов М.А., магистрант 1 года обучения
Руководитель: **Гришин В.В.**, к.б.н., доц.
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Национальный государственный Университет физической культуры, спорта и здоровья имени П.Ф. Лесгафта»
Санкт-Петербург», 190121, г. Санкт-Петербург, ул. Декабристов, д. 35.
E-mail: basov_maks@mail.ru

Был проведен анализ специальной научной литературы, интернет-ресурсов, материалов опубликованных в журналах РИНЦ по спортивной медицине, комплексной реабилитологии и физической культуре с 2010 – 2022 гг.

Выявлена общая характеристика восстановительного этапа в борьбе самбо и были представлен комплекс препаратов, которым могут воспользоваться спортсмены, занимающиеся борьбой самбо, а конкретнее на восстановительном этапе тренировочного процесса.

Современный комплекс фармакологических средств для восстановительного этапа борцов – самбистов направлен на детоксикацию организма, восстановления и адаптацию механизмов с помощью поливитаминов, адаптагенов и антигипоксантов для повышения неспецифической резистентности.

Ключевые слова: *фармакология, фармакологическое обеспечение, препараты, борьба самбо, восстановительный этап, восстановление.*

Одной из актуальных проблем современного спорта является восстановление спортсменов на различных этапах тренировочного процесса. Целью восстановления является воздействие на организм спортсмена комплекса средств и методов, обуславливающих синтез энергии, белка, гормонов и микроэлементов и, тем самым, восстановления работоспособности спортсмена.

Цель исследования – обосновать применение определенных лекарственных препаратов на восстановительном этапе тренировочного процесса.

Для достижения поставленной цели сформулировали следующие задачи:

1. Определить общую специфику процесса восстановления в борьбе самбо;
2. Составить комплекс фармакологических средств на восстановительном этапе;
3. Дать рекомендации дозировок по применению фармакологических групп препаратов.

На восстановительном этапе у борцов – самбистов необходимо применять следующие препараты: витамины, энергодающие вещества, гепатопротекторы и адаптогены.

Мероприятия по восстановлению организма должны начинаться сразу, после окончания физической нагрузки на организм. Данные мероприятия ограниченны по времени, т.е. есть определённый временной отрезок, во время которого, в первую очередь надо энергонасытить организм.

Если подойти к процессу восстановления детально, то можно сразу выявить основные цели:

1. Восстановительная работа должна начинаться сразу по окончанию физических нагрузок. Её основные составляющие:

- восполнение запаса энергии (углеводы);
- ликвидация кислородной задолженности;
- быструю и полную ликвидацию нарастания в организме количества свободных радикалов;
- психологический отдых.

2. Задачами на восстановительном этапе являются:

- вывод из организма продуктов метаболизма;
- лечение и реабилитация перенапряжения различных органов и систем организма;
- полное восстановление после возможных перенесенных травм;
- психосоматическая реабилитация.

Комплекс фармакологических средств на восстановительном этапе.

1. Витамины.

Фармакологическое действие витаминных комплексов обусловлено свойствами входящих в его состав витаминов. Комплекс витаминов группы В, является составной частью ферментов, регулирующих метаболизм углеводов, жиров и белков в организме, оказывает поливитаминное, метаболическое действие.

• Тиамин (витамин В1) – необходимый фактор для передачи нервного импульса во всех тканях и самой центральной нервной системе, в качестве коэнзима участвует в углеводном обмене.

• Рибофлавин (витамин В2) – катализатор процессов клеточного дыхания и перекисного окисления эндогенных веществ и ксенобиотиков, глюкуронирования.

• Пиридоксин (витамин В6) – в качестве коэнзима принимает участие в метаболизме аминокислот и белков, в синтезе нейромедиаторов.

• Цианокобаламин (витамин В12) вместе с фолиевой кислотой участвует в синтезе нуклеотидов, в формировании эритроцитов и клеток нервных оболочек, необходим для роста организма.

• Ретинол (витамин А) – участвуя в синтезе различных веществ (белков, липидов, мукополисахаридов), в первую очередь обеспечивает нормальную функцию кожи, слизистых оболочек, а также органа зрения.

• α-Токоферол (витамин Е) – является природным антиоксидантом лекарственных средств. Участвует в синтезе белков и гемоглобина, в процессах роста клеток, функции скелетных мышц, сердца и сосудов, половых желез.

• Аскорбиновая кислота (витамин С) – участвует в окислении ряда биологически активных веществ, регуляции компонентов соединительной ткани, углеводного обмена, свертываемости крови и регенерации (восстановлении) тканей, стимулирует образование стероидных гормонов, нормализует проницаемость капилляров.

• Рутин вместе с аскорбиновой кислотой участвует в окислительно-восстановительных процессах, обладает антиоксидантными свойствами, предотвращает окисление и способствует депонированию аскорбиновой кислоты в тканях.

• Никотинамид (витамин РР) – стабилизирует процессы тканевого дыхания, жирового и углеводного обмена, систему метаболизма ксенобиотиков.

• Кальция пантотенат – окатывает метаболическое действие. Пантотеновая кислота входит в состав коэнзима А, играя важную роль в процессах ацетилирования и окисления, участвует и углеводном и жировом обмене, в синтезе ацетилхолина и стероидных гормонов. Улучшает энергетическое обеспечение сократительной функции миокарда, ускоряет процессы регенерации.

По научным разработкам Кулиненкова О.С., с уверенностью можно сказать, что продолжительность приёма витаминов будет зависеть от скорости и плотности достижения желаемого эффекта.

При занятиях спортом дозировка должна быть увеличена 2 – 3 раза по сравнению с рекомендуемой дозой, которая является профилактической для здоровых людей. Курс составляет 3 – 4 недели с последующими повторами через 1 неделю.

Одни витаминные комплексы будут способствовать нормализации течения биохимических реакций в организме, предотвращать развитие авитаминоза. Другие – являться специализированными спортивными препаратами, содержащими наряду с комплексом витаминов сбалансированный микроэлементный состав.

Наиболее часто употребляемые витаминные комплексы: Аэровит, Биостимул, Мультивит, Мульти-табс В комплекс, Мульти-табс Актив, Мульти-табс Макси, Теравит, Ундевит.

2. Адаптогены.

Адаптогены – возможная альтернатива допингам. Адаптогены получают из растений, микроорганизмов, а также их создают синтетически. Адаптогены растительного происхождения получают из комнатных растений (золотой корень, алоэ, женьшень, китайский лимонник и др.). Препараты, получаемые из этих растений, способствуют не распаду веществ в организме, как это происходит при употреблении допинга, а их синтезу, накоплению в клетках энергетических ресурсов и биополимеров. Это повышает работоспособность человека. Есть и такие препараты, которые, повышая сопротивляемость организма к неблагоприятным факторам внешней среды, поддерживают постоянство внутренней среды (гомеостаз).

• Адаптогены тонизируют центральную нервную систему, улучшают процессы обучения, памяти, условно рефлекторную деятельность, улучшают синаптическую передачу в симпатических и парасимпатических волокнах периферической нервной системы.

• Нормализуют функцию эндокринной системы организма (анаболитические и катаболитические функции).

• Контролируют процесс образования и расхода энергии в исполнительных клетках (мышц, печени, почек, мозга и др. органов).

• Восстанавливают иммуносупрессивный эффект как следствие тренировочного и соревновательного процессов, влияя на гуморальный и клеточный иммунитет.

• Способствуют антиоксидантному действию в организме, предотвращая токсические эффекты свободнорадикального окисления ненасыщенных жирных кислот, который активизируется при истощающей физической нагрузке.

• Предотвращают гипоксию, которая почти всегда является спутником интенсивной физической работы.

• Обладают анаболизирующими эффектами, которые необходимо поддерживать при интенсивной физической работе (тренировке) во избежание падения массы тела и деструкции белков у спортсменов при превалировании катаболитических процессов.

• Улучшают микроциркуляцию сосудов головного мозга и работающих мышц за счет улучшения реологических свойств крови (наличие в структуре витаминов Е и С, кумариновых производных, экдистена и других ингредиентов).

Таким образом, адаптогены можно считать перспективным классом биологически активных препаратов, которые повышают границы адаптации к физической нагрузке, не являясь токсическими и допинговыми соединениями.

Данные препараты в широком смысле должны обладать достаточным терапевтическим действием, чтобы проявлять свои адаптогенные свойства только на соответствующем фоне и быть абсолютно безвредными для организма в целом. Возможны минимальные сдвиги в функционировании организма, но важно знать, что адаптогенам свойственно нормализирующее действие на организм, независимо от проявлений и направленности предшествующих сдвигов [22].

Обычно адаптогены выпускаются в виде биологически активных добавок к пище, также могут быть в виде экстрактов и настоек. С недавнего времени стали создавать комбинированные препараты, включающие в себя адаптогены, витамины и минералы, которые в совокупности усиливают действия друг друга, что благотворно влияет на процесс восстановления.

Подбор доз можно начинать с 6 капель, принимать утром натощак в ¼ стакана воды. После приёма нужно проанализировать ощущения. Если чувствуется прилив сил и энергии, желание работать, значит, это активизирующая доза; если чувствуется расслабление и заторможенность – то доза тормозная. Тогда на следующий день дозу надо либо увеличивать, либо уменьшать, достигая желаемый эффект.

Наиболее распространенные адаптогены: Женьшень (экстракт), Леветон форте, Лимонник, Элеутерококк.

Фармакологическое действие адаптогенов (средств растительного происхождения). Например, комплекс биологически активных веществ женьшеня (в основном, сапониновые гликозиды-гинсенозиды, а также эфирные масла, стирол, пептиды, витамины и минералы) оказывает общетонизирующее, гипертензивное и гипогликемическое действие; повышают умственную и физическую работоспособность, стимулируют половую функцию, снижают содержание холестерина в крови, активируют деятельность коры надпочечников.

Элеутерококк содержит элеутерозиды – биологически активные соединения, которые повышают синтез эндорфинов, вызывающих расщепление жиров и высвобождение их в кровь. Кроме того, элеутерозиды активизируют быстрое сгорание углеводов, предотвращая превращение последних в жиры.

3. Гепатопротекторы.

Так же важной составляющей восстановления на восстановительном этапе являются гепатопротекторы для предохранения печеночных клеток от токсических воздействий увеличенного количества продуктов обмена при интенсивных физических нагрузках. Благодаря гепатопротекторам можно усилить детоксикационную функцию печени, улучшить моторно-эвакуаторную функцию желчных протоков и желчного пузыря.

В спортивной практике распространены следующие гепатопротекторы: лецитин, гептрал, метионин, эссенциале, фосфоглив.

Фармакологическое действие гепатопротекторов. Представляет собой комплекс фосфолипидов (фосфатидилхолин, фосфатидилсерин и фосфатидилинозитол). Незаменимые фосфолипиды являются компонентами клеточной мембраны печени и необходимы не только для образования, но и для стабилизации биологической структуры и регенерации мембран печеночных клеток. Эти незаменимые фосфолипиды регулируют работу клеточных механизмов: ионный обмен, тканевое дыхание, биологическое окисление; способствуют улучшению деятельности дыхательных ферментов в митохондриях, энергетического обмена клеток и нормализуют нарушенный обмен липидов. Нормализует белковый и жировой обмен, обладает липотропным действием, защищает клеточную структуру печени, восстанавливает иммунные функции лимфоцитов и макрофагов.

Кроме того, восстановлению клеток печени способствуют энергизаторы: лимонтар 1 – 3 таблетки 3 раза в день; янтарная кислота 0,5г 3 раза в день, лимонная и яблочная кислота.

Постоянные курсы необходимо проводить на основе доз 50 – 100 мг в день, при этом не забывать про перерыв в приёме – несколько дней прием, несколько дней перерыв. Возможна следующая схема: 7 дней прием – 3 дня перерыв или 5 дней прием – 2 дня перерыв [21].

4. Карнитин, L-форма стимулирует регенерацию, активирует жировой обмен.

Фармакология L-карнитина

В публикациях Солдатова О.М. дан обзор данных литературы по применению L-карнитина в спортивной фармакологии. Установлено, что карнитин не только стимулирует физическую работоспособность атлетов, но и оказывает гемопоэтическое, вазодилатирующиее, антиагрегантное, иммуномодулирующее, липолитическое и кардиопротекторное действие, что, несомненно, весьма полезно для спортсменов [24].

Механизм действия L-карнитина

Если мы рассмотрим действие карнитина на субклеточном уровне, то увидим, что он воздействует в основном на митохондрии, которые являются энергетическими станциями клетки. Именно митохондрии дают клеткам энергию, сжигают жиры, белки и углеводы. Особенно интенсивно работают митохондрии сердца, перерабатывая жирные кислоты, и митохондрии печени, которые снабжают весь организм энергией. Основным фактором, лимитирующим мышечный рост, считается белково – синтетическая функция мышц. Для адекватного мышечного роста необходимо достаточное обеспечение строительным материалом – аминокислотами. Однако, не менее значительным является энергетическое обеспечение – поставка энергии, необходимой для белкового синтеза. В эволюционном плане митохондрии являются самыми молодыми органами клетки. Поэтому в любой неблагоприятной ситуации их работа нарушается в первую очередь. При любой болезни в первую очередь страдает энергетический обмен. Карнитин в данном случае является чем-то вроде философского камня, лекарства от всех болезней. Ведь улучшая биоэнергетику, можно лечить практически любое заболевание. Сильный организм сам справится со всеми болячками [25].

Показания к применению L-карнитина

L-карнитин назначают спортсменам для повышения выносливости и эффективности во время выполнения упражнений, а также более быстрого увеличения мышечной массы.

Препарат назначают пациентам с заболеваниями сердца (для повышения толерантности к физическим нагрузкам), а также пациентам пожилого возраста (для замедления старения головного мозга, улучшения концентрации внимания и памяти).

L-карнитин может быть назначен недоношенным детям, а также детям в период активного роста для нормализации недостаточной массы тела и нормального развития скелетных мышц.

Препарат может быть рекомендован вегетарианцам для восполнения дефицита левокарнитина (L-карнитина), а также пациентам со сниженным аппетитом и физическим истощением.

Препарат L-карнитин также может быть назначен в комплексном лечении (в качестве вспомогательного средства) различных заболеваний печени, поджелудочной железы, эндокринной и сердечно – сосудистой системы.

Клинико-фармакологические исследования эффективности L-карнитина

Как свидетельствует обзор представленных данных, в большинстве исследований (включавших в общей сложности 350 человек) было показано увеличение под влиянием L-карнитина производительности мышц и окислительной ра-

ботоспособности у профессиональных и непрофессиональных спортсменов. Положительный эффект был особенно заметен при длительном (не менее недели) применении относительно высоких (около 2 – 4 г/сут) доз L-карнитина [2, 3, 10, 15, 14]. В то же время некоторые исследователи (70 случаев в 7 исследованиях) не обнаружили влияния L-карнитина на максимальное потребление кислорода, производительность мышц и накопленние лактата у спортсменов [7]. Следует отметить, что в этих работах L-карнитин использовался либо очень короткими курсами (однократно или в течение 5 – 7 дней), либо в невысоких дозах – 1 – 2 г/сут. E. Brass (2004) подчеркивает, что положительные эффекты левокарнитина серьезно зависят от максимальной кислородной емкости конкретного индивидуума и субъективной переносимости физических нагрузок [4]. Наиболее заметные эрготропные эффекты L-карнитина получены при чрезмерных, предельных физических нагрузках. При нагрузках меньшей интенсивности отмечаются небольшие изменения, которые могут быть очень важны для современных спортсменов, но оказываются чрезвычайно трудными в объективизации. L-карнитин играет важную роль и в процессах восстановления после интенсивных нагрузок, уменьшая мышечную болезненность и накопление креатинфосфокиназы [10]. Механизм данного явления опосредован вазодилатирующим и антиоксидантным эффектом препарата [18, 6, 9]. Карнитин участвует в энергообеспечении эндотелиальной функции, которая при интенсивной нагрузке быстро нарушается вследствие оксидативного стресса [12]. Дотация L-карнитина позволяет улучшить регуляцию периферического кровотока и повысить доставку кислорода к мышцам во время нагрузки и в периоде восстановления, что подтверждается высокой эффективностью этого средства у пациентов с заболеваниями периферических сосудов [5]. Кроме того, L-карнитин уменьшает вызванные механическим стрессом воспалительные реакции, лежащие в основе повреждения мышц при интенсивной нагрузке [17], и оказывает благоприятное влияние на функцию тромбоцитов, известных своими репаративными свойствами [14, 18].

В некоторых видах спорта L-карнитин вызывает интерес как препарат, способствующий «сжиганию» жиров, хотя это мнение в отношении лиц с нормальной массой тела разделяют не все. L-карнитин приводит к снижению массы у тучных лиц, главным образом за счет индукции окисления жирных кислот [19] и липолиза в жировой ткани, опосредованного модуляцией активности глюкокортикостероидных рецепторов [1]. Описано свойство L-карнитина препятствовать развитию вторичного иммунодефицита и частой респираторной заболеваемости атлетов, возможно, за счет повышения функциональной активности мононуклеаров и лимфоцитов. Эти данные подтверждаются положительным эффектом высоких доз препарата (6 г/сут в течение 2 недели) у пациентов с приобретенным иммунодефицитом [8]. Доказана способность L-карнитина стимулировать эритропоэз [16, 13]. Данный эффект в настоящее время широко используется у пациентов с ренальной анемией, являющейся основным показанием к клиническому применению L-карнитина за рубежом, а у спортсменов может оказаться полезным при тренировках в высокогорных условиях и в видах спорта, тренирующих качество выносливости. Таким образом, обзор представленных данных позволяет заключить, что L-карнитин не только стимулирует физическую работоспособность атлетов, переключая метаболизм в условиях интенсивных нагрузок с анаэробного на более энергетически выгодный аэробный путь, но и дает массу других положительных эффектов. При этом, на наш взгляд, особую перспективу в спортивной медицине представляет хорошо известный кардиопротекторный эффект L-карнитина. Известно, что наиболее выраженные и потенциально опасные изменения у спортсменов формируются именно в сердечно-сосудистой системе [11], способствуя развитию вторичной карнитиновой недостаточности, обосновывая использование данного метаболита не только с позиций повышения физической работоспособности, но и в лечебных целях. Однако этот аспект применения L-карнитина ранее не изучался, что стимулировало проведение исследований в указанном направлении.

Очень важно также, что указанные сдвиги коррелировали с исчезновением экстрасистолии, ишемических изменений и эпизодов атриовентрикулярной блокады, которые имели место у 20% атлетов на максимуме нагрузки и в восстановительном периоде до проведения терапевтических мероприятий.

Параллельно, как у атлетов без признаков ремоделирования сердечно-сосудистой системы, так и у подростков с поражением сердца установлено повышение (в среднем на 6 – 7%; $p < 0,05$) уровня максимального потребления кислорода и физической работоспособности по тесту PWC170. Немаловажным фактом мы считаем субъективное улучшение состояния детей-спортсменов на фоне приема «Элькара»: повышение желания тренироваться, отсутствие мышечных болей после нагрузок (что, вероятнее всего, отражает снижение уровня молочной кислоты в процессе нагрузки). При этом даже на фоне лечебных доз препарата не было отмечено побочных эффектов (за исключением одной гастроинтестинальной реакции у спортсмена с сопутствующей патологией желудочно-кишечного тракта). Таким образом, следует констатировать, что на протяжении многих десятилетий интерес к вопросу использования L-карнитина в спортивной медицине не иссякает ни со стороны атлетов, продолжающих его активный прием, ни со стороны ученых, пытающихся дать этому процессу четкое научное обоснование. По нашему мнению, L-карнитин является уникальным средством для спортивной фармакологии, поскольку благодаря важной роли в процессе обеспечения жизнедеятельности, низкой токсичности и широкому спектру действия он способен не только улучшать адаптацию организма к интенсивным физическим нагрузкам, но одновременно корригировать изменения миокарда, вызванные стрессорным и физическим перенапряжением [20].

5. Янтарная кислота применяется при экстремальных физических, психоэмоциональных, тренировочных и соревновательных нагрузках, а также в восстановительном периоде.

Колоссальным поставщиком электронов и протонов в митохондрии является янтарная кислота. Как следствие мощной поставки, реализуется антигипоксантный и антиоксидантный механизмы действия. Антиоксидантный механизм проявляется в активации ферментов антиоксидантной защиты, а также уменьшаются продукты перекисного окисления (ПОЛ). Это можно объяснить ускорением восстановления убихинона (его часть коэнзим-Q10) исключительно высоким потоком электронов янтарной кислоты.

Очень важно точно понимать работу янтарной кислоты в организме, чтобы правильно подобрать дозу. Субъективные составляющие оценки состояния организма – настроение, полноценный сон и бодрое пробуждение, степень утомления, а также свободная переносимость ограничений приёмов пищи. Допускается увеличение разовой дозы до 1 – 2 г, только в особых случаях при полном перенапряжении организма. Следует всегда учитывать, что не рекомендован прием препарата в вечернее время [21].

6. Препараты пластического действия

Препараты пластического действия ускоряют синтез белка и восстанавливают клеточные структуры, улучшают течение биохимических процессов. Для решения этих задач в спортивной медицине применяют оротат калия, рибоксин, инозин, карнитин, а также различные пищевые добавки, обогащенные белками. Препараты этой группы имеют важное значение для предупреждения физических перенапряжений, сохранения высокой работоспособности в периоды повышенных нагрузок.

Фармакологическое действие препаратов пластического действия. Например, оротат калия оказывает общее стимулирующее действие на обменные процессы. Является стимулятором синтеза нуклеиновых кислот, участвующих в синтезе белка, усиливает репаративные и регенеративные процессы в тканях. Оротовая кислота усиливает образование альбуминов в печени (особенно в условиях длительной гипоксии), повышает аппетит, обладает диуретическим, регенерирующим свойствами. Улучшает переносимость сердечных гликозидов.

Инозин относится к группе лекарственных средств, регулирующих метаболические процессы. Препарат является предшественником синтеза пуриновых нуклеотидов: аденозинтрифосфата и гуанозинтрифосфата. Оказывает антигипоксическое, метаболическое и антиаритмическое действие. Повышает энергетический баланс миокарда, улучшает коронарное кровообращение, предотвращает последствия интраоперационной ишемии почек. Принимает непосредственное участие в обмене глюкозы и способствует активизации обмена в условиях гипоксии и при отсутствии аденозинтрифосфата.

Активирует метаболизм пировиноградной кислоты для обеспечения нормального процесса тканевого дыхания, а также способствует активированию ксантиндегидрогеназы. Стимулирует синтез нуклеотидов, усиливает активность некоторых ферментов цикла Кребса. Проникая в клетки, повышает энергетический уровень, оказывает положительное действие на процессы обмена в миокарде, увеличивает силу сокращений сердца и способствует более полному расслаблению миокарда в диастоле, в результате чего возрастает ударный объем крови. Снижает агрегацию тромбоцитов, активирует регенерацию тканей (особенно миокарда и слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта).

7. Препараты энергетического действия

Препараты энергетического действия ускоряют восполнение затраченных ресурсов, активизируют деятельность ферментных систем и повышают устойчивость организма к гипоксии. К препаратам этой группы относятся и их смеси. К ним относят: аспаркам, кальция глицерофосфат, глютаминовая кислота, метионин [23].

Фармакологическое действие препаратов энергетического действия. Например, Аспаркам является источником ионов калия и магния, регулирует метаболические процессы. Механизм действия предположительно связан с ролью аспарагината как переносчика ионов магния и калия во внутриклеточное пространство и участием аспарагината в метаболических процессах. Таким образом, Аспаркам устраняет дисбаланс электролитов, снижает возбудимость и проводимость миокарда (умеренный антиаритмический эффект).

Глютаминовая кислота – заменимая аминокислота, играет роль медиатора с высокой метаболической активностью в головном мозге, стимулирует окислительно-восстановительные процессы в головном мозге, обмен белков. Нормализует обмен веществ, изменяя функциональное состояние нервной и эндокринной систем. Стимулирует передачу возбуждения в синапсах ЦНС, способствует нейтрализации и выведению из организма аммиака, повышает устойчивость организма к гипоксии.

Является одним из компонентов миофибрилл, участвует в синтезе других аминокислот, ацетилхолина, АТФ, мочевины, способствует переносу и поддержанию необходимой концентрации ионов калия в мозге, служит связующим звеном между обменом углеводов и нуклеиновых кислот, нормализует содержание показателей гликолиза в крови и тканях.

Метионин – незаменимая аминокислота, донатор подвижных метальных групп для синтеза холина, фосфолипидов, реализация липотропного эффекта. Участвует в синтезе адреналина, белков, реакциях переметилирования, дезаминирования, декарбоксилирования и пр. Участвует в обмене серосодержащих аминокислот, адреналина, креатинина, цианокобаламина, аскорбиновой и фолиевой кислот, гормонов, ферментов. Обладает дезинтоксицирующим эффектом. Оказывает метаболическое, гепатопротекторное действие.

Кальция глицерофосфат Регулятор обмена кальция и фосфора, оказывает общеукрепляющее, тонизирующее действие, стимулирует метаболические процессы в организме.

В ходе работы выявили общую специфику процесса восстановления, а именно: вывод из организма продуктов метаболизма; лечение и реабилитация перенапряжения различных органов и систем организма; полное восстановление после возможных перенесенных травм; психосоматическая реабилитация.

Составлен комплекс фармакологических средств на восстановительном этапе: витамины, адаптогены, гепатопротекторы, янтарная кислота, карнитин L-форма, препараты энергетического и пластического действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. L-Carnitine is a modulator of the glucocorticoid receptor alpha / S. Alesci [et al.] // Ann. NY Acad. Sci. 2004. Vol. 1024. P. 147-152. DOI: 10.1196/annals.1321.012

2. Variation in levels of glycaemia and insulin after infusion of glucose solutions with or without added L-carnitine / A. Angelini [et al.] // Drugs Exp. Clin. Res. 1993. Vol. 19. P. 219-223.

3. Effects of L-carnitine on the pyruvate dehydrogenase complex and carnitine palmitoyl transferase activities in muscle of endurance athletes / J. Arenas [et al.] // FEBS Lett. 1994. Vol. 341. P. 91-93. DOI: 10.1016/0014-5793(94)80246-7

4. Brass E.P. Carnitine and sports medicine: use or abuse? // Ann. NY Acad. Sci. 2004. Vol. 1033. P. 67-78. doi: 10.1196/annals.1320.006.

5. Brass E.P., Hiatt W.R. The role of carnitine and carnitine supplementation during exercise in man and in individuals with special needs // J Am Coll Nutr. 1998. Vol. 17(3). P. 207-215. doi: 10.1080/07315724.1998.10718750.

6. Aplicações clínicas da suplementação de L-carnitina / C.F. Coelho [et al.] // Rev. Nutr. 2005. Vol. 18(5). P. 651-659. https://doi.org/10.1590/S1415-52732005000500008

7. Effects of L-carnitine supplementation on physical performance and energy metabolism of endurance-trained athletes: a double-blind crossover field study / P. Colombani [et al.] // Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 1996. Vol. 73(5). P. 434-439. doi: 10.1007/BF00334420.

8. High dose Lcarnitine improves immunologic and metabolic parameters in AIDS patients / C. De Simone [et al.] // Immunopharmacol Immunotoxicol. 1993. Vol. 15(1). P. 1-12. doi: 10.3109/08923979309066930.

9. L-carnitine supplementation attenuates intermittent hypoxia-induced oxidative stress and delays muscle fatigue in rats / A. Dutta [et al.] // Exp Physiol. 2008. Vol. 93(10). P. 1139-1146. doi: 10.1113/expphysiol.2008.042465.

10. Effects of prolonged L-carnitine administration on delayed muscle pain and CK release after eccentric effort / M.A. Giamberardino [et al.] // Int J Sports Med. 1996. Vol. 17(5). P. 320-326. doi: 10.1055/s-2007-972854.

11. Youth risk behavior surveillance: United States, 2003 / J.A. Grunbaum [et al.] // MMWR Surveill. Summ. 2004. Vol. 53(2). P. 1-96.

12. Hulsmann W.C., Dubelaar M.L. Carnitine requirement of vascular endothelial and smooth muscle cells in imminent ischemia // Mol Cell Biochem. 1992. Vol. 116(1-2). P. 125-129. doi: 10.1007/BF01270579.

13. Effect of L-carnitine on erythroid colony formation in mouse bone marrow cells / Y. Kitamura [et al.] // Nephrol Dial Transplant. 2005. Vol. 20(5). P. 981-984. doi: 10.1093/ndt/gfh758.

14. The effects of L-carnitine L-tartrate supplementation on hormonal responses to resistance exercise and recovery / W.J. Kraemer [et al.] // J Strength Cond Res. 2003. Vol. 17(3). P. 455-459. doi: 10.1519/1533-4287(2003)017<0455:teolls>2.0.co;2.

15. Effects of oral L-carnitine supplementation on in vivo long-chain fatty acid oxidation in healthy adults / D.M. Muller [et al.] // Metabolism. 2002. Vol. 51(11). P. 1389-1391. doi: 10.1053/meta.2002.35181.

16. Effect of L-carnitine and palmitoyl-L-carnitine on erythroid colony formation in fetal mouse liver cell culture / M. Matsumura [et al.] // Am J Nephrol. 1998. Vol. 18(5). P. 355-357. doi: 10.1159/000013376.

17. Proske U., Morgan D.L. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications // J Physiol. 2001. Vol. 537(2). P. 333-345. doi: 10.1111/j.1469-7793.2001.00333.x.

18. L-carnitine L-tartrate supplementation favorably affects markers of recovery from exercise stress / J.S. Volek [et al.] // Am J Physiol Endocrinol Metab. 2002. Vol. 282(2). P. 474-482. doi: 10.1152/ajpendo.00277.2001.

19. Walter P., Schaffhauser A.O. L-carnitine, a vitamin-like substance for functional food // Ann Nutr Metab. 2000. Vol. 44(2). P. 75-96. doi: 10.1159/000012825.

20. Кулиненков О.С. Фармакологическая помощь спортсмену: коррекция факторов, лимитирующих спортивный результат. М. : Советский спорт. 2007. 144 с.

21. Кулиненков О.С. Фармакология спорта в таблицах и схемах. 2-е изд. М. : Спорт. 2015. 176 с.

22. Лупандин А.В. Применение адаптогенов и антиоксидантов для восстановления работоспособности: Метод. рекомендации Хабаровск : Хабаровский ГИФК. 1988. С. 33.

23. Лекарства и БАД в спорте: Практическое руководство для спортивных врачей, тренеров и спортсменов / Р.Д. Сейфулла [и др.]. М.: Литтера. 2003. С. 320.

24. Солдатов О.М., Ивянский Л.А., Ферапонтова О.В. Обоснование использования L-карнитина в спортивной медицине//Российский вестник перинатологии и педиатрии/ ООО «Национальная педиатрическая академия науки и инноваций», 2010. Т.55, N.5 С.90-97.

25. Чащин М.В., Константинов Р. В. Профессиональные заболевания в спорте. М.: Советский спорт. 2010. 176 с.

SUMMARY

PHARMACOLOGICAL SUPPORT OF ATHLETES IN SAMBO WRESTLING AT THE RECOVERY STAGE

Basov M.A., 1st year master student

Academic advise: **Grishin V.V.**, Candidate of Biological Sciences, docent

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Lesgaft National State University of Physical Education, Sport and Health, Saint-Petersburg», 190121, Saint-Petersburg, Dekabristov Street, 35

E-mail: basov_maks@mail.ru

The analysis of special scientific literature, Internet resources, materials published in RSCI journals on sports medicine, complex rehabilitation and physical culture from 2010-2022 was carried out.

The general characteristic of the recovery stage in sambo wrestling was revealed and a complex of drugs was presented, which can be used by athletes engaged in sambo wrestling, and more specifically at the recovery stage of the training process.

The modern complex of pharmacological agents for the recovery stage of sambo wrestlers is aimed at detoxifying the body, restoring and adapting mechanisms with the help of multivitamins, adaptagens and antihypoxants to increase nonspecific resistance.

Keywords: *pharmacology, pharmacological support, drugs, sambo wrestling, recovery stage, recovery.*

REFERENCES

1. L-Carnitine is a modulator of the glucocorticoid receptor alpha / S. Alesci [et al.] // Ann. NY Acad. Sci. 2004. Vol. 1024. P. 147-152. DOI: 10.1196/annals.1321.012

2. Variation in levels of glycaemia and insulin after infusion of glucose solutions with or without added L-carnitine / A. Angelini [et al.] // Drugs Exp. Clin. Res. 1993. Vol. 19. P. 219-223.

3. Effects of L-carnitine on the pyruvate dehydrogenase complex and carnitine palmitoyl transferase activities in muscle of endurance athletes / J. Arenas [et al.] // FEBS Lett. 1994. Vol. 341. P. 91-93. DOI: 10.1016/0014-5793(94)80246-7

4. Brass E.P. Carnitine and sports medicine: use or abuse? // Ann. NY Acad. Sci. 2004. Vol. 1033. P. 67-78. doi: 10.1196/annals.1320.006.

5. Brass E.P., Hiatt W.R. The role of carnitine and carnitine supplementation during exercise in man and in individuals with special needs // J Am Coll Nutr. 1998. Vol. 17(3). P. 207-215. doi: 10.1080/07315724.1998.10718750.

6. Aplicações clínicas da suplementação de L-carnitina / C.F. Coelho [et al.] // Rev. Nutr. 2005. Vol. 18(5). P. 651-659. https://doi.org/10.1590/S1415-52732005000500008

7. Effects of L-carnitine supplementation on physical performance and energy metabolism of endurance-trained athletes: a double-blind crossover field study / P. Colombani [et al.] // Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 1996. Vol. 73(5). P. 434-439. doi: 10.1007/BF00334420.

8. High dose Lcarnitine improves immunologic and metabolic parameters in AIDS patients / C. De Simone [et al.] // Immunopharmacol Immunotoxicol. 1993. Vol. 15(1). P. 1-12. doi: 10.3109/08923979309066930.

9. L-carnitine supplementation attenuates intermittent hypoxia-induced oxidative stress and delays muscle fatigue in rats / A. Dutta [et al.] // Exp Physiol. 2008. Vol. 93(10). P. 1139-1146. doi: 10.1113/expphysiol.2008.042465.

10. Effects of prolonged L-carnitine administration on delayed muscle pain and CK release after eccentric effort / M.A. Giamberardino [et al.] // Int J Sports Med. 1996. Vol. 17(5). P. 320-326. doi: 10.1055/s-2007-972854.

11. Youth risk behavior surveillance: United States, 2003 / J.A. Grunbaum [et al.] // MMWR Surveill. Summ. 2004. Vol. 53(2). P. 1-96.

12. Hulsmann W.C., Dubelaar M.L. Carnitine requirement of vascular endothelial and smooth muscle cells in imminent ischemia // Mol Cell Biochem. 1992. Vol. 116(1-2). P. 125-129. doi: 10.1007/BF01270579.

13. Effect of L-carnitine on erythroid colony formation in mouse bone marrow cells / Y. Kitamura [et al.] // Nephrol Dial Transplant. 2005. Vol. 20(5). P. 981-984. doi: 10.1093/ndt/gfh758.

14. The effects of L-carnitine L-tartrate supplementation on hormonal responses to resistance exercise and recovery / W.J. Kraemer [et al.] // J Strength Cond Res. 2003. Vol. 17(3). P. 455-459. doi: 10.1519/1533-4287(2003)017<0455:teolls>2.0.co;2.

15. Effects of oral L-carnitine supplementation on in vivo long-chain fatty acid oxidation in healthy adults / D.M. Muller [et al.] // Metabolism. 2002. Vol. 51(11). P. 1389-1391. doi: 10.1053/meta.2002.35181.

16. Effect of L-carnitine and palmitoyl-L-carnitine on erythroid colony formation in fetal mouse liver cell culture / M. Matsumura [et al.] // Am J Nephrol. 1998. Vol. 18(5). P. 355-357. doi: 10.1159/000013376.

17. Proske U., Morgan D.L. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications // J Physiol. 2001. Vol. 537(2). P. 333-345. doi: 10.1111/j.1469-7793.2001.00333.x.

18. L-carnitine L-tartrate supplementation favorably affects markers of recovery from exercise stress / J.S. Volek [et al.] // Am J Physiol Endocrinol Metab. 2002. Vol. 282(2). P. 474-482. doi: 10.1152/ajpendo.00277.2001.

19. Walter P., Schaffhauser A.O. L-carnitine, a vitamin-like substance for functional food // Ann Nutr Metab. 2000. Vol. 44(2). P. 75-96. doi: 10.1159/000012825.

20. Kulinenkov O.S. Pharmacological assistance to an athlete: correction of factors limiting sports performance. Moscow : Soviet Sport. 2007. 144 p. [in Russian]

21. Kulinenkov O.S. Pharmacology of sports in tables and diagrams. 2nd edition / O.S. Kulinenkov. Moscow : Sport, 2015. 176 p. (in Russian)

22. Lupandin A.V. The use of adaptogens and antioxidants to restore performance: Method. Recommendations. Khabarovsk : Khabarovsk GIFK, 1988 33 p. (in Russian)

23. Medicines and dietary supplements in sports: A practical guide for sports doctors, coaches and athletes / R.D. Seifulla [et al.]. Moscow : Litera. 2003. p. 320. (in Russian)

24. Soldatov O.M., Ivyansky L.A., Ferapontova O.V. Rationale for the use of L-carnitine in sports medicine //Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics/ LLC «National Pediatric Academy of Science and Innovation». Vol.55 (5).P. 90-97 (in Russian)

25. Chashchin M.V., Konstantinov R.V. Occupational diseases in sports. Moscow : Soviet Sport. 2010. 176 p. (in Russian)

УДК 61:615.32

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ В УРОЛОГИИ

Бендерский Н.С., студ. 6 курса (0000-0002-7636-1684), **Опря П.С.**, студ. 6 курса, **Бабюк С.Э.**, студ. 6 курса
Руководители: **Куделина О.М.,** канд. мед. наук., асс. (0000-0003-3889-345X),
Ганцгорн Е.В., канд. мед. наук., доц. (0000-0003-0627-8372), **Сафроненко А.В.,** докт. мед. наук., проф.,
зав. кафедрой фармакологии и клинической фармакологии (0000-0003-4625-6186)
Ростовский государственный медицинский университет
344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, д. 29, Российская Федерация
E-mail: cornance@yandex.ru

В последнее время во всем мире растет количество больных с заболеваниями мочеполовой системы (МПС). Особенно эта проблема касается взрослого населения. Учитывая данный факт, необходимость поиска новых подходов к лечению заболеваний МПС, безусловно, остается актуальным вопросом современной фармакологии. Одним из возможных вариантов решения данной проблемы, может стать разработка лекарственных средств на основе гуминовых веществ (ГВ). Учитывая многогранность химических, физиологических и биохимических эффектов ГВ, продемонстрированных in vitro, можно сделать вывод, что они действительно обладают выраженной антибактериальной активностью, а также антипролиферативными и противоопухолевыми свойствами. Однако, такие вопросы, как доза, путь введения и их эффективность применения в клинической практике врача-уролога остаются открытыми.

Ключевые слова: *гуминовые вещества, фульвовая кислота, гуминовая кислота, рак, онкология, урология, антибактериальные средства.*

В клинической практике заболевания МПС представлены многогранным комплексом различных нозологических единиц. Не случайно к данной группе заболеваний приковано пристальное внимание специалистов со всего мира, так как в последние годы отмечается тенденция роста их распространённости среди взрослого населения [1, 2, 3]. В частности, в Российской Федерации, согласно официальной статистике, число пациентов с заболеваниями МПС за последние 10 лет увеличилось на 9,72% и в 2020 г. составило более 17 млн. человек. Учитывая данные факты, необходимость поиска новых подходов к лечению заболеваний МПС, безусловно, остается актуальным вопросом современной фармакологии. Одним из возможных вариантов решения данной проблемы, может стать разработка лекарственных средств на основе гуминовых веществ.

Цель: посредством анализа литературных данных оценить перспективу разработки и применения лекарственных средств на основе гуминовых веществ при лечении заболеваний мочеполовой системы.

Задачи:

1) Обосновать возможность разработки и применения лекарственных средств на основе гуминовых веществ.

2) Проанализировать фармакологические эффекты гуминовых веществ (антипролиферативный, противоопухолевый и антибактериальный).

Гуминовые вещества (ГВ) – это природные органические соединения, составляющие от 50 до 90 % органического вещества торфа, углей, сапропелей и неживой материи почвенных и водных экосистем [4, 5]. Они были впервые выделены из торфа и описаны немецким учёным-химиком *Ф. Ахард* в 1786 году [6]. По своей структуре ГВ представляют собой высокомолекулярные амфифильные амфотерные органические азотсодержащие рандомизованные редокс-гетерополимеры арилгликопротеидной природы, характеризующиеся коллоидными свойствами и отсутствием строгого постоянства химического состава, а также различной молекулярной массой (рис. 1) [7].

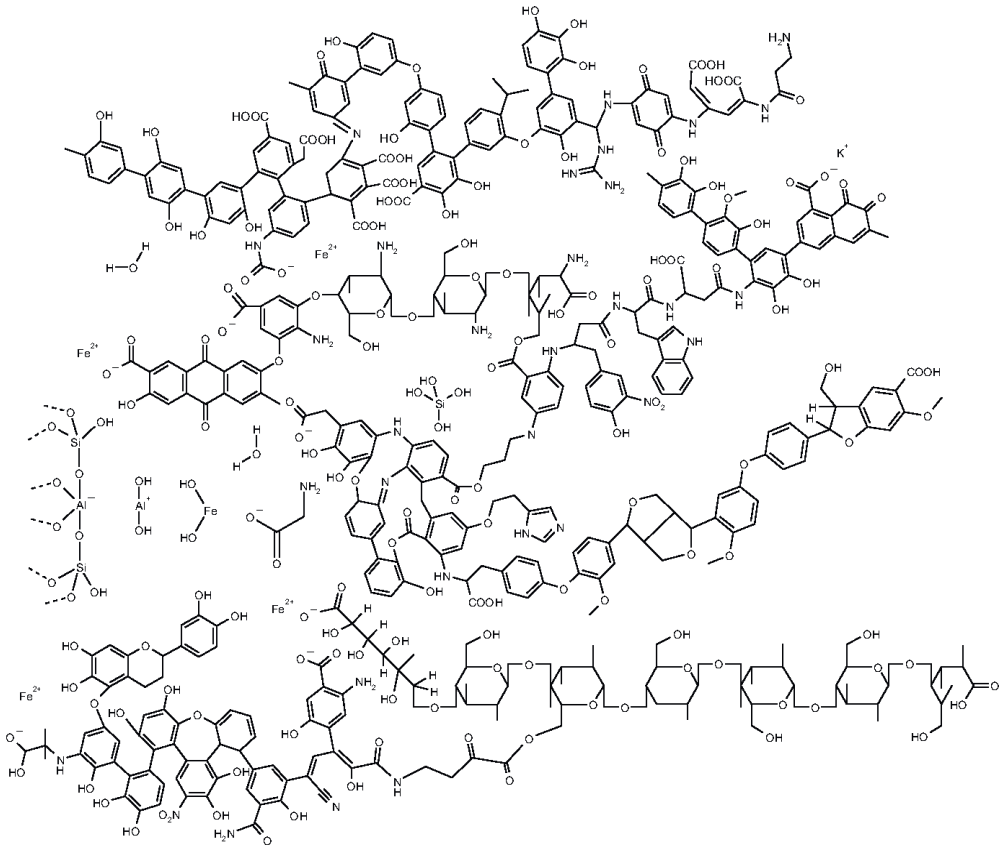


Рисунок 1. Структура гуминовых веществ (Kleinhempel, 1970)

Источник: [8]

Согласно современной классификации, основанной на растворимости ГВ в кислотах и щелочах, выделяют [9]:

1) Гумин – неизвлекаемый остаток, не растворимый ни в щелочах, ни в кислотах;

2) Гуминовые кислоты – фракция, растворимая в щелочах и нерастворимая в кислотах (при pH < 2);

3) Фульвокислоты (ФК) – фракция, растворимая и в щелочах, и в кислотах.

В качестве обобщающего названия, обозначающего как гуминовые, так и фульвокислоты, применяют термин гумусовые кислоты. Гумусовые кислоты являются наиболее подвижной и реакционноспособной компонентой ГВ, активно участвующей в химических процессах [10]. Поэтому в дальнейшем наше внимание будет сосредоточено на рассмотрении именно этой фракции ГВ.

Антипролиферативные и противоопухолевые свойства. В настоящее время одной из приоритетных проблем здравоохранения на международном уровне является онкопатология. Стоит заметить, что по частоте встречаемости, онкологические заболевания МПС весьма распространены. К примеру, рак предстательной железы (РПЖ) является одной из наиболее часто встречаемых форм рака среди мужского населения. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями он занимает второе местов, уступая лишь опухолям трахеи, бронхов и легкого. С 2009 по 2019 гг. прирост заболеваемости РПЖ составил 81,49% при среднем темпе прироста за 2019 г. – 5,58% [11]. Всестороннее изучение и, в перспективе, применение ГВ при РПЖ может стать одним из возможных вариантов лечения данной патологии, что подтверждается данными источников литературы.

Например, *S. K. Aydin* и соавт. (2017) в своем исследовании оценивали влияние ФК на различные раковые клетки, в том числе, клетки РПЖ *PC3*. В течение 48 и 72 часов клетки (*Hep3B, HT29* и *PC3*) обрабатывали различными концентрациями ФК, а затем оценивали пролиферацию с помощью МТТ-теста. Входе эксперимента было выяснено, что ФК ингибировала пролиферацию всех исследуемых клеточных линий. Также было обнаружено, что клетки *Hep3B* оказывали наибольшую чувствительность для 48-часового применения при *IC50* = 1,58–2,43 мкг/мкл. Стоит отметить, что на фоне применения ФК также значительно повышалась регуляция апоптотических генов на уровне мРНК по сравнению с необработанной контрольной группой клеток [12].

Антибактериальные свойства. Помимо онкологических заболеваний МПС, не менее важной проблемой современной урологии, являются инфекции мочевыводящих путей (ИМП), как наиболее частая причина обращений пациентов к врачам амбулаторной практики (более 7 млн. обращений ежегодно, из которых 2 млн. приходится на острый цистит) [13]. При неадекватной терапии ИМП могут рецидивировать, приводя к хронизации процесса, нефросклерозу и почечной недостаточности [14]. А, учитывая тот факт, что основным и обязательным компонентом терапии ИМП остаются антимикробные препараты, возникает другая проблема, а именно, преодоление антибиотикорезистентности возбудителей, представляющая собой поистине глобальную проблему современной фармакологии.

C. E. J. Van Rensburg и соавт. (2000), в своей работе оценивали противомикробные свойства ФК. В ходе исследования было выявлено, что все микроорганизмы, в том числе и *E. Coli*, были чувствительны к ФК при её концентрации 15 г/л, а *S. faecalis* и *K. pneumoniae* проявляли чувствительность в концентрации до 5 г/л (табл. 1) [15].

Таблица 1 – Антимикробная активность фульвовой кислоты (Van Rensburg, 2000)

Микроорганизм (клинические изоляты)	Минимальная бактерицидная концентрация ФК (г/л)
Streptococcus faecalis (ATCC 29212)	≤5
Staphilococcus aureus (ATCC 29213)	15
Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853)	10
Escherichia coli (ATCC 25922)	15
Streptococcus pyogenes	10
Klebsiella pneumoniae	≤5
Proteus mirabilis	15
Candida albicans	15

Также, высокий потенциал ФК в лечении урологической инфекции был обнаружен и против резистентных штаммов энтеробактерий – основных возбудителей ИМП. При исследовании полирезистентных штаммов, вырабатывающих карбапенемазу и бета-лактамазу, сравнивалась эффективность ФК и ципрофлоксацина (табл. 2) [16].

Таблица 2 – Анализ эффективности фульвовой кислоты и ципрофлоксацина в отношении различных штаммов энтеробактерий (Leivers, 2013)

Микроорганизм (клинические изоляты)	Степень ингибирования	Соединение и соответствующая МИК	
		Фульвовая кислота (%)	Ципрофлоксацин (мкг/мл)
K. Pneumoniae ATCC BAA 2146	100%	0,12	>16
	80%	0,12	>16
	50%	0,12	>16
K. Pneumoniae NCTC 13443	100%	0,06	>16
	80%	0,06	>16
	50%	0,06	>16
K. Pneumoniae ATCC BAA 1705	100%	0,06	>16
	80%	0,06	>16
	50%	0,06	>16
K. Pneumoniae ATCC 700603	100%	0,06	0,25
	80%	0,06	0,25
	50%	0,06	0,25
E. coli Клин. Штамм 7	100%	0,06	0,06
	80%	0,06	0,06
	50%	0,06	0,06
E. coli ATCC 25922	100%	0,06	<0,03
	80%	0,06	<0,03
	50%	0,06	<0,03

Примечание: МИК – минимальная ингибирующая концентрация

В результате было установлено, что ФК проявляла высокую эффективность в отношении грамотрицательных бактерий, резистентных к множеству лекарственных средств, включая *NDM-1* положительные штаммы, при этом 100% ингибирование всех микроорганизмов наблюдалось при концентрации ФК ≤ 0,12% [16]. Исходя из представленных данных, можно резюмировать, что ФК способна оказывать влияние на штаммы, обладающие множественной лекарственной устойчивостью.

Заключение. Таким образом, на основании вышеприведенных исследований и их результатов, можно сделать следующие выводы:

1. Всестороннее исследование ГВ и их составляющих действительно представляет собой перспективное направление современной фармакологии и в дальнейшем, возможно, позволит на основе экологически чистых органических веществ создать такой новый класс лекарственных средств, как биогенные стимуляторы сочетанного действия.

2. Многогранность химических, физиологических и биохимических эффектов ГВ, продемонстрированных *in vitro*, дает повод предположить, что они действительно обладают выраженной антибактериальной активностью, а также антипролиферативными и противоопухолевыми свойствами.

3. Однако, такие вопросы, как доза, путь введения и их эффективность применения в клинической практике врача-уролога остаются открытыми. В связи с этим, на наш взгляд, дальнейшее детальное изучение ГВ, а также возможность разработки и применения их в качестве лекарственных средств при лечении заболеваний МПС является весьма целесообразным и перспективным направлением современной медицины в целом и фармакологии, в частности.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.29.43 Урология
76.31.00 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Байтиленов Б.С. Болезни органов мочеполовой системы как актуальная проблема здравоохранения (обзор литературы) // Наука, образование и культура. 2017. N 9(24). С. 98-101.

2. Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г. Российская урология в XXI в. // Урология. 2015. N 5. С. 4-9.

3. Урология. Российские клинические рекомендации / под ред. Ю.Г. Аляев, П.В. Глыбочко, Д.Ю. Пушкарь. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2016. 496 с.

4. Thurman E.M. Organic Geochemistry of Natural Waters. Dordrecht: Martinus Nijhoff. 1985. 516 p.

5. Humic-type fluorescence from chromophoric dissolved organic matter, humic acids, and carbon nanoparticles in water / D. Khundzhua [et al.] // EARSeL eProceedings. 2018. T. 17(1). P. 16-23. DOI: 10.12760/01-2018-1-03

6. Китапова Р.Р., Зиганшин А.У. Биологическая активность гуминовых веществ, получаемых из торфа и сапропеля // Казанский медицинский журнал. 2015. Т. 99. N 1. С. 84-89

7. Антиоксидантная активность высокомолекулярных соединений гуминовой природы / М. В. Зыкова [и др.] // Химия растительного сырья. 2018. N 3. С. 239-250.

8. Kleinhempel D. Ein Beitrag zur Theorie des Huminstoffzustandes // Archives of Agronomy and Soil Science. 1970. Vol. 14(1). P. 3-14. https://doi.org/10.1080/03650347009412655

9. Stevenson F.J. Extraction, fractionation, and general chemical composition of soil organic matter // Humus chemistry. Genesis, composition, reactions. 1982. C. 26-54.

10. Перминова И.В., Жилин Д.М. Гуминовые вещества в контексте зеленой химии. Зеленая химия в России. М.: МГУ. 2004. С. 146-162.

11. Злокачественные новообразования в России в 2019 г. / под ред. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена. 2019. 252 с.

12. Effects of fulvic acid on different cancer cell lines / S.K. Aydin [et al.] // Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings. 2017. Vol. 1(1). P. 1031. https://doi.org/10.3390/proceedings1101031

13. Рафальский В.В., Моисеева Е.М. Эпидемиология неосложнённых внебольничных инфекций мочевыводящих путей в Российской Федерации // Вестник урологии. 2018. Т. 6. N. 2. С. 30-37.

14. Айламазян Э.К. Применение цефиксима при неосложненном пиелонефрите беременных (методические рекомендации для акушеров-гинекологов) // Гинекология. 2006. Т. 8. N 3. С. 28-31.

15. Van Rensburg C.E.J., Van Straten A., Dekker J. An in vitro investigation of the antimicrobial activity of oxifulvic acid // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2000. Vol. 46(5). P. 853-854. doi: 10.1093/jac/46.5.853.

16. Комбинация фульвовой кислоты и антибиотика для подавления роста бактерий, резистентных к множеству лекарственных средств, или лечения инфекций, вызванных ими: пат. 2640928 Рос.Федерация. N 2014140227. Заявл. 06.03.13. Опубл. 12.01.18. Бюл. N 2. 16 с.

SUMMARY

PROSPECTS FOR THE APPLICATION OF HUMIC SUBSTANCES IN THE TREATMENT OF DISEASES OF THE URINARY SYSTEM

Benderskiy N.S., 6th year student, **Oprya P.S.,** 6th year student, **Babyuk S.E.,** 6th year student
Academic advisors: **Kudelina O.M.,** Ph.D. of Medical Sciences, Research Assistant, **Gantsgorn E.V.,** Ph.D. of Medical Sciences, Associate Professor, **Safronenko A.V.,** Dr. Sci. (Med.), Full Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology
Rostov State Medical University
344022, Rostov-on-Don, Nahichevansky av., 29, Russian Federation
E-mail: cornance@yandex.ru

Recently, the number of patients with diseases of the genitourinary system (GUS) has been growing all over the world. This problem is especially true for the adult population. Given this fact, the need to find new approaches to the treatment of GUS diseases, of course, remains a topical issue of modern pharmacology. One of the possible solutions to this problem may be the development of drugs based on humic substances (HS). Given the versatility of the chemical, physiological, and biochemical effects of HS demonstrated in vitro, it can be concluded that they indeed have a pronounced antibacterial activity, as well as antiproliferative and antitumor properties. However, questions such as dose, route of administration and their effectiveness in the clinical practice of a urologist remain open.

Keywords: *humic substances, fulvic acid, humic acid, cancer, oncology, urology, antibacterial agents.*

REFERENCES

1. Bajtilenov B.S. Bolezni organov mochepolovoj sistemy kak aktual'naja problema zdravoohranenija (obzor literatury) // Nauka, obrazovanie i kul'tura. 2017. N 9(24). P. 98-101. (in Russian)
2. Glybochko P.V., Aljaev Ju.G. Rossijskaja urologija v XXI v. // Urologija. 2015. N 5. P. 4-9. (in Russian)
3. Urologija. Rossiĭskie klinicheskie rekomendacii. / red. Ju.G. Aljaev, P.V. Glybochko, D.Ju. Pushkar', M.: GJeOTAR-Media. 2016. 496 p.
4. Thurman E.M. Organic Geochemistry of Natural Waters. Dordrecht: Martinus Nijhoff. 1985. 516 p.
5. Humic-type fluorescence from chromophoric dissolved organic matter, humic acids, and carbon nanoparticles in water / Khundzhua D. [et al.] // EARSeL eProceedings. 2018. T. 17(1). P. 16-23. DOI: 10.12760/01-2018-1-03
6. Kitapova R.R., Ziganshin A.U. Biologic activity of humic substances from peat and sapropel. Kazan medical journal. 2015. Vol. 96(1). P. 84-89. doi: 10.17750/KMJ2015-084 (in Russian)
7. Antioxidant activity of macromolecular compounds of humic etiology. / M.V. Zykova [et al.] // Chemistry of plant raw material. 2018. N 3. P. 239–50. http://dx.doi.org/10.14258/jcprm.2018033925 (in Russian)
8. Kleinhempel D. Ein Beitrag zur Theorie des Huminstoffzustandes // Archives of Agronomy and Soil Science. 1970. Vol. 14(1). P. 3-14. https://doi.org/10.1080/03650347009412655
9. Stevenson F. J. Extraction, fractionation, and general chemical composition of soil organic matter // Humus chemistry. Genesis, composition, reactions. 1982. P. 26-54.
10. Perminova I.V., Zhilin D.M. Humic substances in the context of green chemistry. Green Chemistry in Russia. M .: Moscow University. 2004. P. 146-162. (in Russian)
11. Zlokachestvennye novoobrazovanija v Rossii v 2019 g. / red. A.D. Kaprin, V.V. Starinskij, A.O. Shahzadova. M.: MNIOI im. P.A. Gercena. 2019. 252 p. (in Russian)
12. Effects of fulvic acid on different cancer cell lines / S.K. Aydin [et al.] // Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings. 2017. Vol. 1(1). P. 1031. https://doi.org/10.3390/proceedings1101031
13. Rafalsky V.V., Moiseeva E.M. Epidemiology of uncomplicated outpatient urinary tract infections in the Russian Federation // Vestnik Urologii. 2018. Vol. 6(2). P. 30-37. (in Russian) https://doi.org/10.21886/2308-6424-2018-6-2-30-37
14. Aylamazyan, E.K. (2006). Primenenie tsefiksima pri neoslozhnennom pielonefrite beremennykh (metodicheskie rekomendatsii dlya akusherov-ginekologov) // Gynecology. 2006. Vol. 8(3). P. 28-31. (in Russian)
15. Van Rensburg C.E.J., Van Straten A., Dekker J. An in vitro investigation of the antimicrobial activity of oxifulvic acid // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2000. Vol. 46(5). P. 853-854. doi: 10.1093/jac/46.5.853.
16. Kombinacija ful'vovoj kisloty i antibiotika dlja podavlenija rosta bakterij, rezistentnyh k mnozhestvu lekarstvennyh sredstv, ili lechenija infekcij, vyzvannyh imi: pat. 2640928 Ros.Federacija. N 2014140227. Zajavl. 06.03.13. Opubl. 12.01.18. Bjul. N 2. 16 p. (in Russian)

УДК 61:616-084

ВЛИЯНИЕ ЭТИЛТИОБЕНЗИМИДАЗОЛА ФУМАРАТА НА ПРОЦЕССЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК

Болотина Ю.Д., аспирант 1-го года обучения (ORCID: 0000-0003-3478-0773)
Научный руководитель: **Шустов Е.Б.**, д.м.н., профессор.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14 лит. А, Российская Федерация
E-mail: bolotina.yuliya@pharminnotech.com

Изучено влияние этилтиобензимидазола фумарата на процессы восстановления после физических нагрузок. Выявлено, что этилтиобензимидазола фумарат при однократном применении в дозировке 25 мг/кг способствует ускорению восстановительных процессов в постнагрузочном периоде.

Ключевые слова: *физическая работоспособность, восстановительные процессы, производные тиобензимидазола, этилтиобензимидазола фумарат.*

На сегодняшний день наблюдается интенсивное развитие спорта, увеличение количества спортивных соревнований и объема тренировочных и соревновательных нагрузок. Тренировочный процесс и период подготовки к соревнованиям требуют от спортсмена огромного количества энергии, оставляя все меньше возможностей для отдыха и полноценного восстановления физической работоспособности [1]. Тем не менее, невозможно повысить уровень физических возможностей организма только за счет увеличения объема и интенсивности физических нагрузок, так как это может негативно сказаться на здоровье спортсмена и привести к перетренированности. В связи с этим большое значение приобретают фармакологические средства, позволяющие повысить физическую работоспособность, предотвратить преждевременное развитие утомления и ускорить процессы восстановления после физических нагрузок [2].

Исходя из механизмов развития утомления, наиболее перспективными соединениями для повышения устойчивости к физическим нагрузкам и ускорения процессов восстановления являются соединения, которые по химической структуре близки к естественным метаболитам организма [3]. К таким соединениям можно отнести активаторы цикла Кребса, в частности, янтарная, яблочная, фумаровая, альфа-кетоглутаровая кислоты и препараты их солей [4,5].

Целью данного исследования является изучение влияния этилтиобензимидазола фумарата на процессы восстановления после физических нагрузок.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить влияние этилтиобензимидазола фумарата на процессы восстановления в тесте Трехнагрузочной плавательной пробы (ТПП).

2. Сравнить данный показатель с показателями группы препарата-сравнения этилтиобензимидазола гидрохлорида.

Исследование проводилось на 30 беспородных мышах-самцах с массой тела 20-24 г. в соответствии с приказом Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», согласно утвержденному письменному протоколу. Животные были получены из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская область), прошли необходимый карантин и содержались в стандартных условиях сертифицированного вивария на обычном пищевом рационе со свободным доступом к воде.

Животные были рандомизированы на 3 группы по 10 мышей в каждой. Первой группе животных вводили исследуемое соединение этилтиобензимидазола фумарат (ЭТБИФ) в дозе 25 мг/кг, вторая группа получала референсный препарат из группы синтетических адаптогенов – этилтиобензимидазола гидрохлорид (ЭТБИГХ) в дозе 25 мг/кг, а третья группа – контрольная, получала эквиобъемное количество физиологического раствора. Все соединения вводили внутрижелудочно с помощью зонда за 40 минут до начала исследования. Доза ЭТБИГХ выбрана на основании литературных данных [6], а ЭТБИФ – на основании результатов скринингового исследования в диапазоне доз от 5 мг/кг до 75 мг/кг.

Оценку физической работоспособности и течение восстановительных процессов проводили в тесте «Трехнагрузочной плавательной пробы» с грузом 10% от массы тела, которая является модификацией теста «Вынужденное плавание» [5].

Исследования выполняли в плавательной установке, представляющей собой 200-литровый бассейн высотой 40 см, шириной 35 см и длинной 80 см. Внутри установки располагали контур из оргстекла высотой 30 см, шириной 30 см и длинной 75 см, разделенный на 10 отсеков (15х15 см). Установку заполняли на 2/3 десатурированной водой температуры 22-27°С. Десатурацию воды проводили путем предварительного отстаивания в течение 24 часов. За 30 минут до начала эксперимента животному в области межреберья фиксировалось утяжеление (10% от массы тела). Во время теста животных помещали в соответствующий отсек плавательной установки и одновременно включали секундомер (нагрузка 1). Критерием окончания являлось погружение животного на дно бассейна без плавательных движений или неудачной попытки всплыть на поверхность более трех секунд, после чего животное извлекали из бассейна, обсушивали мягкой тканью и помещали в стандартную клетку. Ровно через 5 минут после извлечения теста животных повторно помещали в плавательную установку для выполнения плавательной пробы (нагрузка 2). Через 45 минут отдыха после нагрузки 2 животное вновь подвергается плавательной нагрузочной пробе (нагрузка 3).

Определяли время плавания животных в секундах на каждом этапе трехнагрузочной пробы. Затем рассчитывали Индекс пробы (ИП), равный отношению времени плавания животных при 1 нагрузке к времени плавания животных при 3 нагрузке.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statictica 6.0 методами непараметрического анализа с использованием критерия Манна-Уитни. Уровень доверительной вероятности был задан равным 95%. Числовые данные, приводимые в таблице, представлены в виде: средняя арифметическая (М) ± ошибка среднего арифметического (m).

Таблица – Результаты оценки физической работоспособности исследуемых соединений в трехнагрузочной плавательной пробе (n=30).

Показатель	Время плавания, сек			ИП, усл.ед
	Нагрузка 1	Нагрузка 2	Нагрузка 3	
Контрольная группа	186±29	20,6±6	50,2±4	0,27
ЭТБИГХ, 25 мг/кг	283±24[1]	52,8±6[1]	160,4±18[1]	0,57[1]
ЭТБИФ, 25 мг/кг	581±80 [1,2]	83±25[1]	296±33[1]	0,51[1]

Примечание: 1 – достоверные значения от показателей контрольной группы (P<0.05), 2 – достоверные значения от показателей группы ЭТБИГХ (P<0.05).

В результате эксперимента было установлено, что наиболее низкие показатели времени плавания и восстановления наблюдались у животных контрольной группы (ИП=0,27). В группе животных, получавших ЭТБИГХ, время плавания при нагрузке 1 было достоверно выше контрольной группы в 1,5 раза (P<0.05), через 5 минут отдыха было выше контрольной группы в 2,5 раза (P<0.05), а через 45 минут отдыха выше в 3 раза (P<0.05), при этом ИП составил 0,57. В группе животных, которым вводили исследуемое соединение ЭТБИФ исходное время плавания было достоверно выше контрольной группы в 3 раза (P<0.05) и выше показателей группы ЭТБИГХ в 2 раза (P<0.05), через 5 минут отдыха ра-

ботоспособность была выше, чем у контрольной группы в 4 раза (P<0.05), а через 45 минут показатели времени плавания превышали значения контрольной группы в 5,9 раза (ИП=0,51) (рис.).

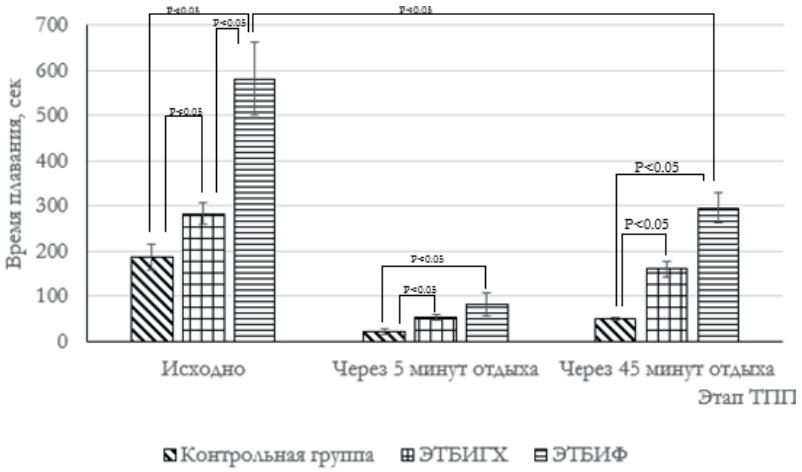


Рисунок. Влияние этилтиобензимидазола фумарата на время плавания животных в тесте Трехнагрузочной плавательной пробы

Ранее экспериментальными исследованиями было установлено, что однократное введение этилтиобензимидазола гидробромида эффективно повышает физическую работоспособность и ускоряет реабилитацию после изнурительных нагрузок [6, 7]. Терапевтический эффект этилтиобензимидазола является функцией его сложного механизма, включающего активацию клеточного генома, оптимизацию митохондриального окисления, снижение окислительного стресса и стимуляцию клеточного иммунного ответа [8]. Производные бензимидазола схожи по химической структуре с пуриновыми основаниями. Смирнов предположил, что это структурное сходство объясняет влияние бемитила на геном клетки, усиление экспрессии РНК и белков, особенно ферментов глюконеогенеза и окислительного фосфорилирования [9]. В настоящее время конкретные механизмы бензимидазол-индуцированной экспрессии РНК и белков до сих пор остаются неизвестными.

Интермедиаты цикла Кребса обладают метаболическим типом действия, их механизм направлен на регуляцию энергетического и пластического обменов, защиту клеточных структур от повреждающих факторов [10, 11].

Таким образом, применение в спортивной медицине препаратов метаболического типа действия, в частности, производных этилтиобензимидазола и фумаровой кислоты, является актуальным, так как данные соединения способствуют возобновлению нарушенных в процессе длительных физических нагрузок биохимических процессов и укорачивают период восстановления спортсменов.

Выводы.

1. Введение этилтиобензимидазола фумарата в дозе 25 мг/кг оказывает положительное влияние на процессы постнагрузочного восстановления при однократном применении, проявляемое как сокращение периода восстановления после физических нагрузок и увеличение длительности плавания животных.

2. Восстановление физической работоспособности при применении этилтиобензимидазола фумарата сопоставимо с таковым при применении этилтиобензимидазола гидрохлорида.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

12.41.45 Связь науки с практикой, внедрение научных достижений

76.35.41 Спортивная медицина и врачебный контроль

76.35.31 Военная медицина и медицинская служба гражданской обороны

76.31.00 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Очерки спортивной фармакологии / под ред. Н.Н. Каркищенко, В.В. Уйба, М. ; СПб: Айсинг. 2013. 288 с.

2. Новиков В.С., Голянич В.М., Шустов Е.Б. Коррекция функциональных состояний при экстремальных воздействиях. СПб: Наука. 1998. 544 с.

3. Оковитый, С. В. Актопротекторы как синтетические адаптогены нового поколения. Психофармакология и биологическая наркология. 2003. Т. 3. N 1-2. С. 510-516.

4. Оковитый С.В., Радько С.В. Применение сукцинатов в спорте // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2015. Т. 92. N 6. С. 59-65.

5. Оковитый С.В., Шустов Е.Б., Болотова В.Ц. Работоспособность. Утомление. Коррекция: монография. М.: Кнорус, 2019. 330 с.

6. Смирнов А.В. Влияние бемитила на перекрестную адаптацию к гипобарической гипоксии и физической нагрузке. Фармакологическая коррекция гипоксических состояний (материалы второй всесоюзной конференции). Гродно. 1991. С. 49 – 50.

7. Дубовик Б.В., Богомазов С.Д. Многофакторный метод оценки физической работоспособности мышей // Фармакология и токсикология. 1987. Т. 50. N 2. С. 116-121.

8. Очерки спортивной фармакологии. Т.2. Векторы фармакопротекции / Н.Н. Каркищенко [и др.]. СПб.: Айсинг, 2014. –448 с.

9. Смирнов А.В. Бемитил: механизм действия и связанные с ним эффекты // Физиологически активные вещества. 1993. Т. 25. С. 5-9.

10. Приходько В.А., Селизарова Н.О., Оковитый С.В. Молекулярные механизмы развития гипоксии и адаптации к ней. Часть I // Архив патологии. 2021. Т. 83. N 2. С. 52-61. DOI 10.17116/patol20218302152.

11. Приходько В.А., Селизарова Н.О., Оковитый С.В. Молекулярные механизмы развития гипоксии и адаптации к ней. Часть II // Архив патологии. 2021. Т. 83. N 3. С. 62-69. DOI 10.17116/patol20218303162.

SUMMARY

EFFECT OF ETHYLTHIOBENZIMIDAZOLE FUMARATE ON RECOVERY PROCESSES AFTER PHYSICAL EXERTION

Bolotina Yu.D., P.G. 1st year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: bolotina.yuliya@pharminnotech.com

The effect of ethylthiobenzimidazole fumarate on recovery processes after physical activity was studied. It was found that ethylthiobenzimidazole fumarate, with a single application at a dosage of 25 mg/kg accelerates the recovery processes increasing the swimming time of animals in the Three-load swimming test.

Keywords: *physical performance, recovery processes, thiobenzimidazole derivatives, ethylthiobenzimidazole fumarate.*

REFERENCES

1. Ocherki sportivnoj farmakologii. / ed. N.N. Karkishchenko, Ujba V.V. M. ; SPb: Ajsing, 2013. 288 p. (in Russian)

2. Novikov V.S., Golyanich V.M., SHustov E.B. Korrekciya funkcional'nyh sostoyanij pri ekstremal'nyh vozdejstviyah. – SPb: Nauka, 1998. – 544 s. (in Russian)

3. Okovityj S.V. Aktoprotektory kak sinteticheskie adaptogeny novogo pokoleniya. Psihofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya. 2003. Vol. 3(1-2). P. 510-516. (in Russian)

4. Okovityj S.V., Rad'ko S.V. Primenenie sukcinatov v sporte // Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoj kul'tury. 2015. Vol. 92(6). P. 59-65. (in Russian)

5. Okovityj S.V., Shustov E.B., Bolotova V.C. Rabotosposobnost'. Utomlenie. Korrekciya: monografiya. M.: Knorus. 2019. 330 p. (in Russian)

6. Smirnov A.V. Vliyanie bemitila na perekrestnuyu adaptaciyu k gipobaricheskoj gipoksii i fizicheskoj nagruzke. Farmakologicheskaya korrekciya gipoksicheskih sostoyanij (materialy vtoroj vsesoyuznoj konferencii). Grodno. 1991. P. 49 – 50. (in Russian)

7. Dubovik B.V., Bogomazov S.D. Mnogofaktornyj metod ocenki fizicheskoj rabotosposobnosti myshej // Farmakologiya i toksikologiya. 1987. Vol. 50(2). P. 116-121. (in Russian)

8. Ocherki sportivnoj farmakologii. Vol.2. Vektory farmakoprotekcii / N.N. Karkishchenko [et al.]. Sankt-Peterburg: Ajsing. 2014. 448 p. (in Russian)

9. Smirnov A.V. Bemitil: mekhanizm dejstviya i svyazannye s nim effekty // Fiziologicheski aktivnye veshchestva. 1993. Vol. 25. P. 5-9. (in Russian)

10. Prikhodko V.A., Selizarova N.O., Okovityi S.V. Molekulyarnye mekhanizmy razvitiya gipoksii i adaptacii k nej. Part I // Arhiv patologii. 2021. Vol. 83(2). P. 52-61. DOI 10.17116/patol20218302152. (in Russian)

11. Prikhodko V.A., Selizarova N.O., Okovityi S.V. Molekulyarnye mekhanizmy razvitiya gipoksii i adaptacii k nej. Part II // Arhiv patologii. 2021. Vol. 83(3). P. 62-69. DOI 10.17116/patol20218303162. (in Russian)

УДК 615.324

ПЕРСПЕКТИВА ПРИМЕНЕНИЯ БЕЛКА МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ В ТЕРАПИИ ПОСТКОВИДНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Гуляева В.Э.[1*], аспирант кафедры фармацевтической технологии института фармации, химии и биологии
Жилякова Е.Т.[1], доктор фармацевтических наук, профессор,
заведующий кафедрой фармацевтической технологии института фармации, химии и биологии
ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.
*__E-mail:__ gulyaeva.valeriya@list.ru

В 2019 году человечество столкнулось с новой коронавирусной инфекций, борьба которой продолжается до сих пор. Вирус проникает во множество органов и систем и повреждает наиболее «слабые места». Наиболее распространенным последствием перенесенного заболевания является «Постковидный синдром». Лактоферрин (ЛФ) является одним из наиболее подходящих веществ для эффективного восстановления после заболевания.

Ключевые слова. *Постковидный синдром, новая коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2, лактоферрин, белок молочной сыворотки, бычий лактоферрин.*

Белки молочной сыворотки представляют собой большую биологическую ценность. Благодаря своей ценности они широко используются в процессе производства лечебного и профилактического питания. Одним из наиболее важных направлений в предотвращении заболевания является должная профилактика и укрепление защитных свойств организма. Поиск новых активных фармацевтических субстанций необходимых для достижения этих целей. В данной статье приводится обзор данных о биологических и терапевтических свойствах лактоферрина. Лактоферрин представляет собой белок молочной сыворотки, представитель семейства трансферринов. ЛФ обладает свойством связывать ионы металлов, в частности ионы Fe^{3+}. В настоящее время ЛФ позиционируется как полифункциональный белок, присутствие которого обнаруживается в большинстве биологических жидкостей организма млекопитающих и человека. Наиболее изученными функциями является: антивирусная, антибактериальная, антиоксидантная и противовоспалительная активность. В связи с этим применение белков молочной сыворотки, в частности Лактоферрина, является перспективным направлением в фармакологии и фармацевтическом производстве.

По данным ВОЗ постковидный синдром наступает спустя 2 недели после выздоровления. Как правило у пациентов наблюдается общая слабость, головные боли, периодические повышения температуры, изменение или полное отсутствие восприятия вкусов и запахов, боли в груди, рассеянность, нарушение сна, эмоциональная нестабильность, снижение аппетита [1]. В настоящее время проведено множество исследований по изучения новой коронавирусной инфекции. Лактоферрин (ЛФ) – белок молочной сыворотки, является одним из перспективных веществ для терапии постковидного синдрома и профилактики новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2. Лактоферрин является представителем семейства трансферринов и встречается во многих биологических жидкостях организма таких как грудное молоко, слюна, слезы [2,3]. К тому же белок обладает выраженными антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, является компонентом врожденного иммунитета. Врожденный иммунитет играет важную роль в ответе на действие вирусных инфекций. Предполагается, что лактоферрин может стимулировать активность NK- клеток и адгезию нейтрофилов, так как является многофункциональным гликопротеином [4]. ЛФ обладает выраженной противовирусной активностью в отношении ряда ДНК- и РНК- вирусов, которые в своем патогенезе используют клеточные мембраны для проникновения в клетку. Лактоферрин препятствует инвазии вирусных агентов в клетки [5]. Уникальные свойства ЛФ обусловлены его сродством к рецепторам клеток, что демонстрирует его особенную роль в процессе доставки АФИ к органам-мишеням. Основываясь на этом свойстве, можно говорить о том, что лактоферрин является одним из наиболее перспективных белков для разработки новых лекарственных средств.

В дополнение к своему сродству с клетками-хозяевами, ЛФ может также усиливать противовирусную защиту путем модуляции иммунного ответа, такого как усиление фагоцитоза и индуцирование апоптоза. Иммуномодулирующие эффекты лактоферрина привлекли внимание, поскольку он защищает от инфекции и чрезмерного воспаления, что достигается за счет взаимодействия с иммунными клетками и цитокинами. Иммуномодулирующие эффекты включают: усиление способности В-клеток к экспрессии антигена и регулирование функции Т-клеток (6)

Коронавирус SARS-CoV-2 относится к вирусам с однонитевым РНК геномом. Он связывается с мембранным рецептором ACE-2 ряда эндотелиальных клеток, которые находятся на поверхности легких, печени, почек, кишечника. Вирус инфицирует Т-лимфоциты, несмотря на низкое содержание ACE-2 у этих клеток. Считается, что дыхательные пути – это первичный портал проникновения SARS-CoV-2, желудочно-кишечный тракт страдает в первую очередь. Кишечник является потенциальным местом репликации SARS-CoV-2, что способствует локальному и системному прогрессированию болезни с поражением почек, печени, легких. Предполагается, что ЛФ конкурирует с коронавирусом за связывание с гепарансульфатом на поверхности клеток слизистой, а также взаимодействует с рецептором ACE-2, не позволяя SARS-CoV-2 проникнуть в клетку-хозяина. В экспериментах был использован препарат Бифферин, который представляет собой комбинацию лактоферрина с цинком и витамином Е, производства ОАО «Лактобио» [7]. Так же на основании множества проведенных исследований была подтверждена эффективность ЛФ в терапии вирусных инфекций. Так, на-

пример, ЛФ может стимулировать антигенпрезентирующие клетки, что позволяет использовать его в качестве адъюванта при вакцинации. Это свойство было доказано при применении вакцины БЦЖ. При пероральном применении ЛФ снижает вероятность развитие пневмонии- наиболее частым и тяжелым осложнением SARS-CoV-2, посредствам блокировки гемагглютинина, который играет ключевую роль в инвазии вируса[8].

Подтверждено действие ЛФ против дрожжевой и плесневой фитофторы.. Установлено эффективное взаимодействие с большинством противогрибковых препаратов (клотримазол, флуконазол и т.д.) [9]. В практическом плане доказана эффективность при терапии кандидозов Активность лактоферрина [10], обычно объясняется его способностью связывать ионы железа Fe^{3+} из окружающей среды. Тем не менее, апо- форма лактоферрина (железоненасыщенная) способна убивать как *C. albicans*, так и *C. krusei*, механизмами, связанными с изменениями проницаемости поверхности клеток. Кроме того, было установлено, что лактоферрицин B, пептид, полученный ферментативным расщеплением бычьего лактоферрина, оказывает летальное действие на виды *Candida* посредством прямого взаимодействия с поверхностью клеток.

Противовоспалительная активность лактоферрина выражается в способности ингибировать провоспалительный цитокин, оказывающий влияние на многие органы и системы организм – интерлейкин-6 (IL-6). Такая особенность ЛФ так же обусловлена его способностью связывать ионы железа – он снижает внутри клеток организма содержание избыточного содержания железа, повышенное содержание которого может привести к чрезмерной восприимчивости к различным инфекциям. При пероральном и интравагинальном применении лактоферрина снижается уровень интерлейкина-6, улучшаются гематологические параметры.

На начальном этапе инфекции активируется защитная система макрофагов/моноцитов. Эти клетки продуцируют воспалительные медиаторы (цитокины и хемокины), которые активируют продуцирование новых нейтрофилов и вызывают дегрануляцию зрелых нейтрофилов в очаге воспаления. ЛФ, который освобождается из вторичных гранул, начинает взаимодействовать с патогеном, связывать ЛПС и ионы железа. Длительное время существовала точка зрения о том, что ЛФ вызывает бактериостатические эффекты, отнимая Fe у бактериальной клетки. Один из механизмов участия ЛФ в антибактериальной защите может заключаться в блокировании реакции гемагглютинации, вызываемой энтеротоксином при инфицировании кишечной палочкой [11], что, вероятно, происходит с участием бактериальной оболочки.

ЛФ является активным компонентом врожденного иммунитета, и способствует его формированию у новорождённых детей. Впервые мнение об участии ЛФ в формировании иммунного ответа было описано в 1980. Прямых доказательств (подкрепленных экспериментально) регуляции иммунной системы ЛФ-ом не существует, но перспективы есть, чему помогут результаты в опытах на лабораторных мышах с дефицитом гена ЛФ [12, 24]. В экспериментах с трансгенными мышами, несущими ген ЛФ, установлено, что они более устойчивы к развитию инфекционных болезней. Почти все механизмы активации иммунитета ЛФ-ом проходят этап полного контакта ЛФ с клеточными мембранами. Данный факт связан с наличием специфических рецепторов к ЛФ, являющихся основными чувствительными окончаниями процесса интернализации, сигнала клеток и транспорта ЛФ в ядерный центр клетки [11]. Но есть и противоречивые результаты изучения этих процессов.

Врожденный иммунный ответ играет важную роль в подавлении вирусной инфекции. Многие гены могут быть вовлечены во врожденный иммунный ответ, например, гены, кодирующие синтез лактоферрина, S100A9 и липокалина 2, которые участвуют в клиренсе SARS-CoV.

Нами были найдены исследования о том, что при применении лактоферрина в виде геля происходит восстановление костной ткани подопытных животных, регенерация костей протекала более быстро, данный факт может быть использован в перспективе для разработки лекарственных препаратов для восстановления костной ткани.

Продолжительные исследования физико-химических и биологических свойств лактоферрина подтверждают, что данный белок является одним из самых перспективных веществ для разработки различных терапевтических средств. Основное преимущество лактоферрина как потенциального носителя лекарственных веществ заключается в том, что он является эндогенным белком, поэтому риск появления аллергических реакций на него практически отсутствует.

Несомненным преимуществом лактофферрина является его особенность не разрушаться при попадании в желудочно-кишечный тракт (в отличие от большинства соединений белковой природы), что позволяет использовать его для включения в лекарственные препараты для перорального применения, а также в биологически активные добавки к пище.

Таким образом, литературные подтверждают, что лактоферрин является перспективной субстанцией для разработки новых лекарственных средств, направленных на профилактику вирусных инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Соловьева Н.В., Макарова Е.В., Кичук И.В. «Коронавирусный синдром»: профилактика психотравмы, вызванной COVID-19 // РМЖ. 2020. N 9. С. 18-22.

2. Рекомендации по ведению больных с коронавирусной инфекцией covid-19 в острой фазе и при постковидном синдроме в амбулаторных условиях / под ред. П.А. Воробьева М., 2021

3. Иммунонутриентные свойства лактоферрина и его защитная роль при новой коронавирусной инфекции COVID-19 / С.В. Орлова [и др.] // Медицинский алфавит. 2021. N 21. С. 22-26. https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-21-22-26

4. Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview / I.A. García-Montoya [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta. 2012. Vol. 1820(3). P. 226-236. DOI: 10.1016/j.bbagen.2011.06.018.

5. Liposomal Lactoferrin as Potential Preventative and Cure for COVID-19 / G. Serrano [et al.] // Int J Res Health Sci. 2020. Vol. 8(1). P. 8P15.

6. A profiling analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different type of cancers vulnerable to SARS-CoV-2 infection / Y.J. Dai [et al.] // Ann Transl Med. 2020. Vol. 8(7). P. 481. doi: 10.21037/atm.2020.03.61.

7. Свойства белка лактоферрина (ЛФ) и его использование в профилактическом и дополнительном лечении COVID-19. [Электронный ресурс]. URL: https://www.lactobio.ru/lactoferrin-as-protective-natural-barrier/tpost/tfkjb9ye91-cvoistva-belka-laktoferrina-lf-i-ego-isp

8. Зорина В.Н. Структура и ингибирующая активность лактоферрина по отношению к вирусу гриппа // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10. N 1. С. 49-54.

9. Fernandes K.E., Carter D.A. The antifungal activity of lactoferrin and its derived peptides: mechanisms of action and synergy with drugs against fungal pathogens // Frontiers in microbiology. 2017. Vol. 8. P. 2. DOI:10.3389/fmicb.2017.00002

10. Inhibition of Candida albicans growth by iron-unsaturated lactoferrin: relation to host defense mechanisms in chronic mucocutal candidiasis / C.H. Kirkpatrick [et al.] // J. Infect. Dis. 1971. Vol. 124(6). P. 539-544. doi: 10.1093/infdis/124.6.539.

11. Роль лактоферрина в биологических средах человека / И.А. Кузнецов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2017. N 3.

SUMMARY

THE PROSPECT OF USING WHEY PROTEIN IN THE TREATMENT OF BRIDGE-LIKE COMPLICATIONS

Gulyaeva V.E.*, postgraduate student of the Department of Pharmaceutical Technology of the Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology;

Zhilyakova E.T., Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor,
Head of the Department of Pharmaceutical Technology of the Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology;
Belgorod State National Research University
Belgorod, 85 Pobedy str., 308015
***E-mail**: gulyaeva.valeriya@list.ru

In 2019, humanity faced a new coronavirus infection, the fight of which continues to this day. The virus penetrates into many organs and systems and damages the most “weak points”. The most common consequence of the transferred disease is “Postcovid syndrome”. Lactoferrin (LF) is one of the most suitable substances for effective recovery after the disease.

REFERENCE

1. Solovyova N.V., Makarova E.V., Kichuk I.V. «Coronavirus syndrome»: prevention of psychotrauma caused by COVID-19 // RMZH. 2020. N 9. P. 18-22. (in Russian)

2. Recommendations for the management of patients with covid-19 coronavirus infection in the acute phase and with postcovid syndrome in outpatient settings / Ed. P.A. Vorobyov. Moscow. 2021. (in Russian)

3. Nikitina E.A., Prokopenko E.V., Volkova L.Yu., Vodolazkaya A.N. Immunonutrient properties of lactoferrin and its protective role in the new coronavirus infection COVID-19 / S.V. Orlova [et al.] // Medical Alphabet. 2021. N 21. P. 22-26. https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-21-22-26

4. Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview / I.A. García-Montoya [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta. 2012. Vol. 1820(3). P. 226-236. DOI: 10.1016/j.bbagen.2011.06.018.

5. Liposomal Lactoferrin as Potential Preventative and Cure for COVID-19 / G. Serrano [et al.] // Int J Res Health Sci. 2020. Vol. 8(1). P. 8P15.

6. A profiling analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different type of cancers vulnerable to SARS-CoV-2 infection / Y.J. Dai [et al.] // Ann Transl Med. 2020. Vol. 8(7). P. 481. doi: 10.21037/atm.2020.03.61.7. Properties of lactoferrin protein (LF) and its use in preventive and complementary treatment of COVID-19. [Internet]. URL: https://www.lactobio.ru/lactoferrin-as-protective-natural-barrier/tpost/tfkjb9ye91-cvoistva-belka-laktoferrina-lf-i-ego-isp

8. Zorina V.N. Structure and inhibitory activity of lactoferrin in relation to the influenza virus // Infection and immunity. 2020. Vol. 10(1). P. 49-54 (in Russian)

9. Fernandes K.E., Carter D.A. The antifungal activity of lactoferrin and its derived peptides: mechanisms of action and synergy with drugs against fungal pathogens // Frontiers in microbiology. 2017. Vol. 8. P. 2. DOI:10.3389/fmicb.2017.00002

10. Inhibition of Candida albicans growth by iron-unsaturated lactoferrin: relation to host defense mechanisms in chronic mucocutal candidiasis / C.H. Kirkpatrick [et al.] // J. Infect. Dis. 1971. Vol. 124(6). P. 539-544. doi: 10.1093/infdis/124.6.539.

11. The role of lactoferrin in human biological environments / I.A. Kuznetsov [et al.] // Modern problems of science and education. 2017. N 3. (in Russian)

УДК 61:615.322

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРУТОВИКА НАСТОЯЩЕГО

Ильяшенко С.А., студ. 5 курса
Руководитель: **Горбацевич Г.И.**, канд. хим. наук, доцент
Белорусский государственный университет (химический факультет),
Кафедра радиационной химии и химико-фармацевтических технологий
220045, Минск, ул. Курчатова, д. 5, Беларусь
E-mail: ilyashenkosveta7@gmail.com; hleb.harbatsevich@gmail.com

В работе исследована антиоксидантная и антимикробная активность фракций различной полярности, полученных из водно-спиртового сухого экстракта трутовика настоящего. В качестве образцов сравнения использовались фракции различной полярности, полученные из водно-спиртового сухого экстракта чаги.

Показано, что наиболее богатые фенольными соединениями этилацетатная (73,571 ± 21,268 мг Э/г) и этанольная (36,343 ± 10,241 мг Э/г) фракции трутовика настоящего отличаются наибольшей радиакал-ингибирующей активностью в отношении DPPH (IC_{50} : 515,6 ± 100,5 мкг/мл; 751,2 ± 19,3 мкг/мл, соответственно) и ABTS радикалов (IC_{50} : 229,7 ± ± 9,6 мкг/мл; 423,3 ± 0,66 мкг/мл, соответственно).

Установлено, что хлороформная, этилацетатная и этанольная фракции трутовика настоящего проявляют антимикробную активность в отношении *Staphylococcus aureus*.

Ключевые слова: *трутовик настоящий, чага, антиоксидантная активность, фенольные соединения, антимикробная активность, фракции, экстракты.*

Введение. Лекарственные средства природного происхождения считаются перспективными в настоящее время, так как они имеют заметные преимущества перед синтетическими препаратами. К таким преимуществам относятся мягкое воздействие на организм, относительно малая частота побочных эффектов, разнообразие биологически активных веществ и эффектов, возможность применения как для профилактики, так и для лечения заболеваний. Перспективным направлением фармакогнозии является изучение химического состава и фармакологической активности базидиальных грибов, в частности, трутовиков. Среди них особое место занимает трутовик настоящий (*Fomes fomentarius*) [1], представляющий интерес для медицины как источник фенольных соединений, обладающих антиоксидантной активностью. Для каждого организма чрезвычайно важной стала проблема сохранения своей целостности и качественного своеобразия в условиях агрессивной окислительной среды. Поэтому антиоксиданты, как соединения поддерживающие устойчивость к самоокислению, широко распространены в природных объектах, в том числе в растительном и животном мире. Большинство природных антиоксидантов являются фенольными соединениями, к которым относятся функционально замещенные фенолы и полифенолы, флавоноиды, токоферолы, производные оксикоричных кислот [2]. Основная часть фенольных антиоксидантов имеет растительное происхождение, однако они являются и незаменимыми компонентами организма животных и человека, поступая в основном с растительной пищей [2].

К основным группа БАВ, содержащимся в трутовике настоящем, относятся стеролы (эргостерол, фунгистерол), полисахариды (ланофил), органические кислоты (фумаровая, рицинолевая, лимонная и яблочная), фенилэтандиолы, фенолкарбоновые кислоты (*n*-гидроксибензойная, протокатеховая, ванилиновая, галловая, сиреневая), флавоноиды (гликозиды лютеолина и дигидрокверцетина) и бензотрополоны (пурпурогаллин). Благодаря содержанию последних трутовик настоящий представляет интерес в качестве потенциального источника природных антиоксидантов. А известные данные о его противоопухолевой, иммуномодулирующей и антимикробной активности, а также опыт его применения в японской и корейской народной медицине определяют актуальность настоящего исследования [3].

Цель данной работы состоит в определении антиоксидантной и антимикробной активности фракций различной полярности трутовика настоящего. К задачам работы относится установление общего содержания фенольных соединений, радикал-ингибирующей (в отношении DPPH и ABTS) и антимикробной активности фракционированных экстрактов *Fomes fomentarius*.

Основная часть. Материалы и методы. Для получения сухих водно-спиртовых экстрактов использовался метод циркуляционной экстракции по Сокслету. Плодовые тела трутовиков (субстрат – береза пушистая), собранные в сентябре 2021 в Минском районе, Республика Беларусь, экстрагировали 12 часов 70% (об/об) этиловым спиртом. Далее растворитель отгоняли под вакуумом, экстракты сушили при 50 °С и хранили их в холодильнике для дальнейшего использования. Для изучения антиоксидантной и антимикробной активности экстракты подвергали фракционированию. Для этого 1 г сухого экстракта диспергировали в 50 мл воды, а затем последовательно взбалтывали 5 порциями по 40 мл петролейного эфира (ПЭ), хлороформа (ХЛ), этилацетата (ЭА). Оставшийся раствор фильтровали: фильтрат представлял собой водную фракцию (H_2O), а осадок растворяли в 96% (об/об) этиловом спирте (EtOH-фракция). Органические фракции отделяли, обезвоживали безводным натрия сульфатом и отгоняли растворитель под вакуумом. На рисунках 1 представлены круговые диаграммы, показывающие распределение по массе (в %) сухого вещества, выделенного из образцов, между фракциями (ПЭ, ХЛ, ЭА, H_2O, EtOH).

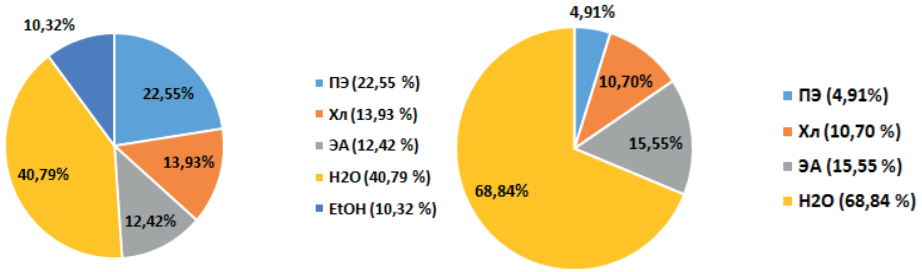


Рисунок 1. Распределение между фракциями сухого вещества, выделенного из трутовика настоящего (слева) и чаги (справа), по массе (в %)

Общее содержание фенольных соединений (ТРС) определяли с использованием реактива Фолина-Чокалтеу [4]. Калибровочный график строили по стандартным растворам галловой кислоты. Общее содержание фенольных соединений (ТРС) выражалась в эквивалентном содержании галловой кислоты (мг) в единице массы сухого экстракта (г).

Радикал-ингибирующую активность фракций оценивали по их способности ингибировать 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил радикал (DPPH). Метод основан на восстановлении 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразила радикала в спиртовом растворе, имеющем малиновую окраску, в дифенилпикрилгидразин, раствор которого окрашен в светло-желтый цвет. Спектрофотометрически при длине волны 517 нм определяли остаточное содержание DPPH-радикала в растворе. Степень ингибирования экстрактов определяли по формуле:

$$I = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%,$$

где I – степень ингибирования, %;

A_0 – оптическая плотность контрольного опыта (без добавления экстракта);

A_1 – оптическая плотность основного опыта (с добавлением экстракта).

На основании данных о степени ингибирования при различных концентрациях экстрактов рассчитывали концентрацию полумаксимального ингибирования (IC_{50}, мкг/мл) [5].

Способность экстрактов ингибировать радикальный катион 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты (ABTS) изучали с использованием спектрофотометрической методики [6].

Антимикробную активность 1 % фракций чаги и трутовика настоящего исследовали методом диффузии в агар (диффузно-луночным методом) в отношении грамположительных (*Staphylococcus aureus* ATCC 15442), грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli* ATCC 11229, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 6538) и дрожжевых грибах (*Candida albicans* ATCC 14053). Учет результатов проводили путем измерения диаметра зоны ингибирования роста вокруг лунок.

Результаты и обсуждение. По результатам теста на ТРС (таблица 1) этилацетатная и этанольная фракции трутовика настоящего содержат максимальное количество фенольных соединений, в то время как в неполярных фракциях их практически не обнаруживается. Это согласуется со способностью фенольных соединений легко растворяться в этилацетате и этаноле. Также результаты ТРС демонстрируют, что содержание фенольных веществ в трутовике настоящем значительны выше, чем в чаге.

Таблица 1 – Сравнительная таблица общего содержания фенольных соединений во фракционированных экстрактах чаги и трутовика настоящего

Образец	Фракция	ТРС, мг /г (в пересчете на галловую кислоту)
Чага (*Inonotus obliquus*)	ПЭ	2,672 ± 0,77
	ХЛ	–
	ЭА	3,769 ± 0,941
	H_2O	2,395 ± 0,566
Трутовик настоящий (*Fomes fomentarius*)	ПЭ	–
	ХЛ	13,018 ± 4,268
	ЭА	73,571 ± 21,268
	H_2O	–
	EtOH	36,343 ± 10,241

Радикал-ингибирующая активность фракционированных экстрактов изучалась на модели DPPH и ABTS радикалов. Фракция ПЭ трутовика настоящего практически не проявляет радикал-нигибирующей активности, в то время как наибольшую ингибирующую активность в отношении DPPH продемонстрировали этилацетатная и этанольная фракции (таблица 2). Важно отметить, что фракции трутовика настоящего проявляют примерно в 10 раз большую ингибирующую активность в отношении хромоген-радикалов DPPH по сравнению с чагой.

Таблица 2 – Радикал-ингибирующая активность фракций чаги и трутовика настоящего в отношении DPPH радикала

Образец	Фракция	IC_{50}, мкг/мл
Чага (*Inonotus obliquus*)	ПЭ	–
	ХЛ	7011,6 ± 204,8
	ЭА	5447,2 ± 1315,5
	H_2O	9608,2 ± 953,1
Трутовик настоящий (*Fomes fomentarius*)	ПЭ	6161 ± 249,6
	ХЛ	1601,9 ± 356,9
	ЭА	515,6 ± 100,5
	H_2O	417,2 ± 284,5
	EtOH	751,2 ± 19,3

Данные, представленные в таблице 3, согласуются с данными о радикал-ингибирующей активности в отношении DPPH (таблица 2): наибольшую ABTS-ингибирующую активность проявляют фракции ЭА и EtOH, в то время как фракции, полученные с использованием петролейного эфира и хлороформа, являются сравнительно малоактивными или не проявляют значимой антиоксидантной активности.

Таблица 3 – Радикал-ингибирующая активность фракций чаги и трутовика настоящего в отношении ABTS

Образец	Фракция	IC_{50}, мкг/мл
Чага (*Inonotus obliquus*)	ПЭ	–
	ХЛ	–
	ЭА	75,1 ± 7,3
	H_2O	2213,9 ± 102
Трутовик настоящий (*Fomes fomentarius*)	ПЭ	–
	ХЛ	3650,1 ± 118,3
	ЭА	229,7 ± 9,6
	H_2O	3280,2 ± 28,8
	EtOH	423,3 ± 0,66

Экспериментально полученные данные по антиоксидантной активности согласуются с результатами определения содержания фенольных веществ (таблица 1). Высокую антиоксидантную активность экстрактов трутовика настоящего (ЭА и EtOH фракций) можно связать со значительным содержанием бензотрополонов (прежде всего, фоментариола) [3].

Результаты испытания на антимикробную активность методом диффузии в агар представлены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4 – Результаты измерения диаметра зон для чаги (*Inonotus obliquus*)

Фракция / Микроорганизм	ПЭ	Хл	ЭА	H_2O
Staphylococcus aureus ATCC 15442	0,9 ± 0,1 мм	1,1 ± 0,3 мм	–	–
Candida albicans ATCC 14053	–	–	–	–
Escherichia coli ATCC 11229	–	–	–	–
Pseudomonas aeruginosa ATCC 6538	0,9 ± 0,1 мм	–	–	–

Таблица 5 – Результаты измерения диаметра зон для трутовика настоящего (*Fomes fomentarius*)

Фракция / Микроорганизм	ПЭ	Хл	ЭА	H_2O	EtOH
Staphylococcus aureus ATCC 15442	–	1,1 ± 0,3 мм	2,1 ± 0,4 мм	–	1,9 ± 0,6 мм
Candida albicans ATCC 14053	–	1,1 ± 0,3 мм	1 ± 0,2 мм	–	–
Escherichia coli ATCC 11229	–	–	–	–	–
Pseudomonas aeruginosa ATCC 6538	–	–	–	–	–

Чага не обладает антимикробной активностью в отношении выбранных штаммов микроорганизмов. ХЛ, ЭА и EtOH фракции трутовика настоящего подавляют рост *Staphylococcus aureus* и проявляют незначительную ингибирующую активность в отношении дрожжеподобных грибов *Candida albicans*. Исследуемые грибы не проявляют антимикробной активности в отношении грамотрицательных *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Таким образом, наиболее богатые фенольными соединениями (73,571 ± 21,268 мг Э/г) этилацетатная и этанольная (36,343 ± 10,241 мг Э/г) фракции трутовика настоящего отличаются наибольшей радиакал-ингибирующей активностью в отношении DPPH (IC_{50} : 515,6 ± 100,5 мкг/мл; 751,2 ± 19,3 мкг/мл, соответственно) и ABTS (IC_{50} : 229,7 ± 9,6 мкг/мл; 423,3 ± 0,66 мкг/мл, соответственно) радикалов. В проведенных тестах трутовик настоящий превосходит по антиоксидантной активности чагу. Кроме того, трутовик настоящий проявляет антимикробную активность в отношении *Staphylococcus aureus*.

Выраженная антиоксидантная активность, а также наличие антимикробной активности у исследованных экстрактов трутовика настоящего свидетельствуют о перспективности его дальнейшей фармацевтической разработки.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.35. Фармхимия
76.31.00. Фармакогнозия

ЛИТЕРАТУРА

1. Arefyev S.P. Systemic analysis of biota of wooddestructive fungi: autoref. dis ...doc. of biol. Sciences. Tyumen: TumSU, 2006. P. 47.

2. Роль фенольных антиоксидантов в повышении устойчивости органических систем к свободно-радикальному окислению / И.В. Сорокина [и др.]. СО РАН ГПНТБ. Новосиб. ин-т орган. химии. Новосибирск, 1997. 68 с.

3. Fomentarols A–D, sterols from the polypore macrofungus Fomes fomentarius // Yi Zang [et al.] // Phytochemistry. 2013. Vol. 9. P. 137–45. doi: 10.1016/j.phytochem.2013.05.003.

4. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Some Brazilian Species / I.M.C. Brighente [et al.] // Pharmaceutical Biology. 2007. Vol. 45(2). P. 156–161. https://doi.org/10.1080/13880200601113131

5. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity // Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 1995. Vol. 28(1). P. 25-30.

6. Monitoring of oxidative stress in biological objects / M.Ya. Khodos [et al.] // Bulletin of the Ural medical academic science. 2017. Vol. 14(3). P. 262 – 274.

SUMMARY

BIOLOGICAL ACTIVITY OF FOMES FOMENTARIUS

Ilyashenko S.A., 5th year student
Academic adviser: **Harbatsevich H.I.**, Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor
Belarusian State University (Faculty of Chemistry),
Department of Radiation Chemistry and Chemical and Pharmaceutical Technologies
220045, Minsk, Kurchatov str., 5, Belarus
E-mail: ilyashenkosveta7@gmail.com; hleb.harbatsevich@gmail.com

In this work the antioxidant and antimicrobial activity of the fractions with different polarity, obtained from water-ethanol dry extracts from *Fomes fomentarius*, has been investigated. Fractions of different polarities, obtained from water-alcohol dry extract from *Inonotus obliquus*, were used as comparison samples.

It has been shown, that the most phenol-rich (73,571 ± 21,268 mg E/g) ethyl acetate and ethanol (36,343 ± 10,241 mg E/g) fractions from *Fomes fomentarius* demonstrated the highest radical scavenging activity against DPPH (IC_{50} : 515.6 ± 100.5 μg/ml; 751.2 ± 19.3 μg/ml, respectively) and ABTS (IC_{50} : 229.7 ± 9.6 μg/ml; 423.3 ± 0.66 μg/ml, respectively).

It has been found, that chloroform, ethyl acetate and ethanol fractions from *Fomes fomentarius* exhibit antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*.

Keywords: *Fomes fomentarius, Inonotus obliquus, antioxidant activity, phenolic compounds, antimicrobial activity, fractions, extracts.*

REFERENCES

1. Arefyev S.P. Systemic analysis of biota of wooddestructive fungi: autoref. dis ...doc. of biol. Sciences. Tyumen: TumSU, 2006. P. 47.

2. The role of phenolic antioxidants in increasing the resistance of organic systems to free radical oxidation / I.V. Sorokina [et al.]. Novosibirsk Institute of Organic Chemistry. Novosibirsk, 1997. P. 68. (in Russian)

3. Fomentarols A–D, sterols from the polypore macrofungus Fomes fomentarius // Yi Zang [et al.] // Phytochemistry. 2013. Vol. 9. P. 137–45. doi: 10.1016/j.phytochem.2013.05.003.

4. 4. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Some Brazilian Species / I.M.C. Brighente [et al.] // Pharmaceutical Biology. 2007. Vol. 45(2). P. 156–161. https://doi.org/10.1080/13880200601113131

5. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity // Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 1995. Vol. 28(1). P. 25-30.

6. Monitoring of oxidative stress in biological objects / M.Ya. Khodos [et al.] // Bulletin of the Ural medical academic science. 2017. Vol. 14(3). P. 262 – 274.

УДК 616.613-003.7-008-092.4-577.1

О НОВОМ БИОХИМИЧЕСКОМ ПРИЗНАКЕ НЕФРОПАТИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С НАРУШЕНИЕМ УРАТНОГО ОБМЕНА

Кальницкий А.С., аспирант 2 года (ORCID: 0000-0003-3500-3052, ResearcherID: AAD-8815-2022)
Научный руководитель: **Жариков А.Ю.**, д.б.н., доцент, проректор по научной работе и инновациям, заведующий кафедрой фармакологии имени профессора В.М. Брюханова, (ORCID: 0000-0003-4884-220X, ResearcherID: N-6003-2016)
Алтайский государственный медицинский университет
656038, г. Барнаул, просп. Ленина, 40, Российская Федерация
E-mail: artem_kalnitsky@mail.ru

Цель работы: изучить биохимическую картину нефропатии, ассоциированной с нарушением уратного обмена с выявлением специфических признаков развития патологии. Было проведено измерение активности лактатдегидрогеназы и гамма-глутамилтранспептидазы в моче экспериментальных животных, а также расчет коэффициента отношения активностей данных ферментов ($К_{ЛДГ/ГГТП}$). По результатам исследования, при моделировании нефропатии, ассоциированной с нарушением уратного обмена у крыс, происходит увеличение активности лактатадегидрогеназы при понижении активности гамма-глутамилтранспептидазы, сопровождающееся ростом $К_{ЛДГ/ГГТП,}$ который можно рассматривать как диагностический признак развития моделируемой патологии, перспективный для применения в комплексной оценке эффективности новых фармакотерапевтических средств.

Ключевые слова: *уратная нефропатия, лактатдегидрогеназа, гамма-глутамилтранспептидаза, биохимическая картина, оксалатный нефролитиаз, фармакологические исследования.*

В последнее время участились случаи регистрации нефропатии, ассоциированной с нарушением уратного обмена (уратной нефропатии) – дисметаболического состояния, характеризующегося накоплением в почечных тканях конкрементов, состоящих из мочевой кислоты – одного из продуктов биотрансформации пуринов [1]. Ввиду ограниченности арсенала средств для осуществления медикаментозной терапии данного состояния [2], актуальным вопросом современной фармакологии является поиск новых способов лекарственной коррекции нефропатии, ассоциированной с нарушением уратного обмена. Известно, что для изучения влияния веществ на течение патологического процесса необходимо выявить диагностические признаки развития соответствующей патологии. Так, в качестве маркеров активации процессов почечного литогенеза традиционно используется активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) в моче, а также наличие воспалительно-дистрофических патогистологических изменений [3].

Цель работы: изучить биохимическую картину нефропатии, ассоциированной с нарушением уратного обмена с выявлением специфических признаков развития патологии.

Задачи исследования:

- провести моделирование нефропатии, ассоциированной с нарушением уратного обмена на крысах Вистар;
- провести измерение активности ЛДГ и ГГТП в моче экспериментальных животных, а также рассчитать значение коэффициента отношения активностей ЛДГ и ГГТП ($К_{ЛДГ/ГГТП}$);
- осуществить изъятие почек после эфирной эвтаназии с последующим определением патогистологических признаков, подтверждающих формирование заболевания.

Материалы и методы

Для осуществления экспериментального исследования использовали 43 крысы-самца сток Вистар, средней массой 260 г. Лабораторных животных распределили на группу сравнения (8 крыс), 2 подопытные группы: подопытную группу-1 (8 крыс) и подопытную группу-2 (12 крыс), а также контрольную группу (10 крыс). Крысы группы сравнения были интактными, в то время как на животных подопытных групп-1 и 2 осуществляли 3-недельное моделирование уратной нефропатии путем ежедневных интрагастральных инъекций мочевой кислоты (1000 мг/кг) в смеси с оксониевой кислотой (500 мг/кг) [4]. В контрольной группе формировали оксалатный нефролитиаз, предоставляя лабораторным животным раствор этиленгликоля в концентрации 1% вместо воды для питья [5].

Перед началом экспериментального исследования, а затем еженедельно осуществляли сбор мочи лабораторных крыс, накопленной за сутки, в которой определяли экскрецию креатинина, активность ЛДГ и ГГТП с последующим расчетом $К_{ЛДГ/ГГТП}$ по формуле:

$$Клдг_{/ГГТП} = \gamma ЛДГ \ / \gamma ГГТП,$$

где $К_{ЛДГ/ГГТП}$ – коэффициент отношения активностей ЛДГ и ГГТП, γЛДГ – активность ЛДГ (ЕД/мг креатинина в сутки), γГГТП – активность ГГТП (ЕД/мг креатинина в сутки).

По окончании третьей недели эксперимента осуществляли эвтаназию экспериментальных крыс посредством использования эфира диэтилового с последующим взятием почек для изучения патогистологических признаков развития моделируемых заболеваний. Для этого изготавливали срезы почечной ткани, изготовленные с захватом области почечного сосочка (средняя толщина – 6мм), окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Косса (для фиксации кальциевых конкрементов) с последующим исследованием при использовании увеличения х400 с целью фиксации гистологического состояния почек, а также количества и площади депозитов.

Обработку результатов исследования с помощью методов статистического анализа осуществляли в программе Statistica 12.0. Статистическую значимость различий результатов биохимических исследований считали критериями Манна-Уитни (межгрупповые различия) и Уилкоксона (внутригрупповые различия), патогистологических исследований – критерием Стьюдента для независимых выборок. Данные представлены медианой и 25,75 перцентилями (биохимические исследования), а также средним значением и стандартной ошибкой среднего (патогистологические исследования).

Результаты и обсуждение

Согласно результатам проведенных биохимических исследований, активность ЛДГ в моче крыс подопытных групп 1 и 2, а также контрольной группы возрастала на протяжении эксперимента, будучи к заключительной неделе исследования статистически значимо выше аналогичных исходных значений в 7,5 (p=0,012), 6,3 (p=0,001) и 4 раза (p=0,008) соответственно (таблица 1).

Активность ГГТП в контрольной группе также возрастала на протяжении второй половины исследования, превышая первоначальный показатель в 2,6 раз на 2-й неделе исследования (p=0,030), в 2,4 раза – на заключительной (p=0,047). В подопытных группах 1 и 2, напротив, отмечалось снижение активности данного энзима, которая к концу исследования была статистически значимо ниже исходной в 3 (p=0,017) и 2,2 раза (p=0,001) соответственно (Таблица 1).

Таблица 1 – Активность ЛДГ и ГГТП в моче экспериментальных крыс

	γЛДГ			γГГТП		
	ПГ-1	**ПГ-2**	**КГ**	**ПГ-1**	**ПГ-2**	**КГ**
Исходный уровень	0,10 (0,06;0,21)	0,07 (0,06;0,10)	0,01 (0,01;0,03)	0,74 (0,48;1,12)	0,58 (0,46;0,71)	0,18 (0,07;0,27)
7-й день	0,13 (0,11;0,19)	0,15 (0,12;0,20) p=0,004	0,05 (0,02;0,07) p=0,022	0,34 (0,24;0,45) p=0,017	0,26 (0,18;0,57) p=0,006	0,41 (0,27;0,43)
14-й день	0,23 (0,22;0,29) p=0,049	0,32 (0,23;0,55) p=0,001	0,05 (0,03;0,08) p=0,022	0,29 (0,20;0,45) p=0,017	0,36 (0,25;0,50) p=0,006	0,47 (0,29;0,77) p=0,030
21-й день	0,75 (0,44;1,07) p=0,012	0,44 (0,28;0,85) p=0,001	0,04 (0,02;0,08) p=0,008	0,25 (0,21;0,38) p=0,017	0,26 (0,24;0,31) p=0,001	0,44 (0,32;0,60) p=0,047

Примечание: ПГ-1 – подопытная группа-1, ПГ-2 – подопытная группа-2, КГ – контрольная группа, γЛДГ – активность ЛДГ (ЕД/мг креатинина в сутки), γГГТП – активность ГГТП (ЕД/мг креатинина в сутки), p – статистическая значимость внутригрупповых различий по отношению к исходному уровню

При этом обозначенные выше изменения активностей ЛДГ и ГГТП ожидаемо привели к статистически значимому росту $K_{ЛДГ/ГГТП}$ в подопытных группах 1 и 2 к 21 дню эксперимента в 19 (p=0,012) и 12 раз (p<0,001) соответственно при стабильности показателя в контрольной группе (Таблица 2).

Таблица 2 – Значения $K_{ЛДГ/ГГТП}$ в моче экспериментальных крыс

	$K_{ЛДГ/ГГТП}$		
	ПГ-1	**ПГ-2**	**КГ**
Исходный уровень	0,14 (0,10;0,18)	0,13 (0,10; 0,17)	0,07 (0,05; 0,10)
7-й день	0,37 (0,27; 0,57) p=0,012	0,53 (0,28; 0,77) p<0,001	0,11 (0,08; 0,17)
14-й день	0,92 (0,67; 1,09) p=0,012	0,88 (0,60; 1,68) p<0,001	0,10 (0,04; 0,11)
21-й день	2,75 (1,55; 3,18) p=0,012	1,56 (1,14; 3,39) p<0,001	0,09 (0,06; 0,15)

Примечание: ПГ-1 – подопытная группа-1, ПГ-2 – подопытная группа-2, КГ – контрольная группа, $K_{ЛДГ/ГГТП}$ – коэффициент отношения активностей ЛДГ и ГГТП, p – статистическая значимость внутригрупповых различий по отношению к исходному уровню.

На этом фоне активность ЛДГ и ГГТП, а также значения $К_{ЛДГ/ГГТП,}$ зафиксированные в группе сравнения, не имели статистически значимых отличий по сравнению с исходным уровнем (в таблицах не представлены).

По итогам патогистологических исследований, ткани почек группы сравнения не имели каких-либо изменений относительно гистологической нормы (Рисунок, а).

В подопытной группе-1 образование почечных конкрементов было зафиксировано в 100% случаев (Рисунок, б), а в подопытной группе-2 – в 76,9% случаев (Рисунок, в). Среднее количество камней в подопытной группе-1 составило 3,2±0,4, в подопытной группе-2 – 4,2±0,8 при средней площади 432,8±41,8 и 1340,5±211,1 мкм^2 соответственно. При этом депозиты в почках крыс обеих подопытных групп обнаруживались в просветах почечных канальцев, подвергшихся кистозному расширению, а также имевшим эпителий с признаками дистрофии. Кроме того, в строме определялась выраженная воспалительная инфильтрация.

В контрольной группе обнаруживали коричнево-черные депозиты средним числом 7,9±1,6, расположенные в почечных канальцах как в виде одиночных кристаллов, так и образуя скопления депозитов. Средняя площадь камней составила 298,8±34,2 мкм^2 (рис., г).

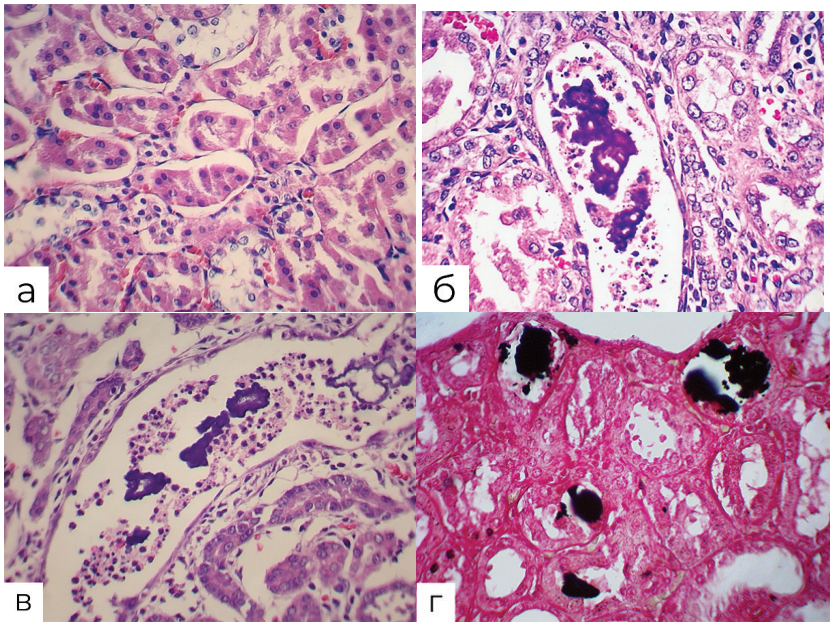


Рисунок. Гистологическая картина почек экспериментальных крыс. Увеличение х400

Примечание: а – интактная группа, депозиты не обнаружены. Окраска гематоксилином и эозином; б – мочекислые конкременты в подопытной группе-1. Окраска гематоксилином и эозином; в – мочекислые конкременты в подопытной группе-2. Окраска гематоксилином и эозином; г – оксалатные конкременты в подопытной группе. Окраска по Косса

Таким образом, результаты патогистологического исследования почек экспериментальных крыс свидетельствуют о достоверном формировании уратной нефропатии в подопытных группах 1 и 2, а также оксалатного нефролитиаза – в контрольной группе при отсутствии развития почечной патологии в группе сравнения.

По итогам измерения биохимических показателей, во всех группах, подвергавшихся моделированию заболеваний, происходил статистически значимый рост активности ЛДГ, являющейся цитоплазматическим энзимом, определяющимся в моче в условиях нарушение целостности клеточных мембран [6]. При этом активность ГГТП в контрольной группе, крысы которой подвергались моделированию оксалатного нефролитиаза, также статистически значимо повышалась на протяжении эксперимента, что подтверждается проведенными ранее исследованиями [3]. На этом фоне, в моче крыс как подопытной группы-1, так и подопытной группы-2 отмечалось статистически значимое снижение активности данного фермента. Стоит отметить, что данная динамика активности ГГТП при моделировании уратной нефропатии на настоящий момент не поддается объяснению, однако явное статистически значимое активности фермента, наблюдаемое сразу в двух подопытных группах, является доказательством связи между уровнем ГГТП и развитием данного патологического состояния.

При этом ввиду разнонаправленного характера изменения активностей ЛДГ и ГГТП в подопытных группах 1 и 2, значения $К_{ЛДГ/ГГТП}$ в моче животных данных экспериментальных групп статистически значимо возрастали против стабильности значений аналогичного показателя в контрольной группе. Следовательно, рост $К_{ЛДГ/ГГТП}$ можно рассматривать в качестве селективного признака развития нефропатии, ассоциированной с нарушением уратного обмена.

Заключение

Биохимическая картина нефропатии, ассоциированной с нарушением уратного обмена характеризуется увеличением активности ЛДГ при сопутствующем снижении активности ГГТП в моче. При этом наблюдается последовательный рост значения $К_{ЛДГ/ГГТП}$, который можно рассматривать как новый признак развития данной патологии.

Источник финансирования
Исследование не имело спонсорской поддержки.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.00 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Sakhaee K. Epidemiology and clinical pathophysiology of uric acid kidney stones // J. Nephrol. 2014. Vol. 27. P. 241–245. https://doi.org/10.1007/s40620-013-0034-z

2. Современные исследования эффективности цитратной терапии уратного нефролитиаза в России / А.Д. Каприн [и др.] // Медицинский Совет. 2017. Т. 11. С. 176-180. https://doi.org/10.21518/2079-701X-2017-11-176-180

3. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В., Жариков А.Ю., Азарова О.В., Мотин Ю.Г. Функция почек в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза // Нефрология. 2008. Т. 12. № 1. С. 69–74. https://doi.org/10.24884/1561-6274-2008-12-1-69-74

4. Перфильев В.Ю., Зверев Я.Ф., Жариков А.Ю. Условия развития уратного нефролитиаза и подходы к его моделированию // Нефрология. 2017. Т. 21. № 4. С. 48–54. https://doi.org/10.24884/1561-6274-2017-21-4-48-54

5. Жариков А.Ю., Брюханов В.М., Зверев Я.Ф. Современные методы моделирования оксалатного нефролитиаза // Нефрология. 2008. Т. 12. N 4. С. 28–35. https://doi.org/10.24884/1561-6274-2008-12-4-28-35

6. Kabakov A.E., Gabai V.L. Cell Death and Survival Assays // Methods Mol. Biol. 2018. Vol. 1709. P. 107–127. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7477-1_9

SUMMARY

ON A NEW BIOCHEMICAL SIGN OF NEPHROPATHY ASSOCIATED WITH URATE METABOLISM DISTURBANCE

Author: **Kalnitsky A.S.,** 2nd year postgraduate student (ORCID: 0000-0003-3500-3052, ResearcherID: AAD-8815-2022)
Supervisor: **Zharikov A.Yu**., Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Vice-Rector for Research and Innovation, Head of the Department of Pharmacology named after Professor V.M. Bryukhanov,
(ORCID: 0000-0003-4884-220X, ResearcherID: N-6003-2016)
Altai State Medical University
656038, Barnaul, Lenina avenue, 40, Russian Federation
E-mail: artem_kalnitsky@mail.ru

Purpose of the research: to study the biochemical picture of nephropathy associated with impaired urate metabolism with the identification of specific signs of the development of pathology. The activity of lactate dehydrogenase and gamma-glutamyl transpeptidase in the urine of experimental animals was measured, as well as the coefficient of the ratio of the activities of these enzymes ($K_{LDH/GGTP}$) was calculated. According to the results of the study, when modeling nephropathy associated with impaired urate metabolism in rats, there is an increase in the activity of lactate dehydrogenase with a decrease in the activity of gamma-glutamyl transpeptidase, accompanied by an increase in $K_{LDH\ /\ GGTP}$, which can be considered as a diagnostic sign of the development of a simulated pathology, promising for use in a comprehensive assessment of the effectiveness of new pharmacotherapeutic agents.

Keywords: *urate nephropathy, lactate dehydrogenase, gamma-glutamyl transpeptidase, biochemical picture, oxalate nephrolithiasis, pharmacological studies.*

REFERENCES

1. Sakhaee K. Epidemiology and clinical pathophysiology of uric acid kidney stones // J. Nephrol. 2014. Vol. 27. P. 241–245. https://doi.org/10.1007/s40620-013-0034-z

2. Modern studies of the effectiveness of citrate therapy for urate nephrolithiasis in Russia / A.D. Kaprin [et al.] // Medical Council. 2017. Vol. 11. P. 176–180. (in Russian) https://doi.org/10.21518/2079-701X-2017-11-176-180

3. Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V., Zharikov A.Yu., Azarova O.V., Motin Yu.G. Kidney function in conditions of experimental oxalate nephrolithiasis // Nephrology. 2008. Vol. 12. № 1. P. 69–74. (in Russian) https://doi.org/10.24884/1561-6274-2008-12-1-69-74

4. Perfilyev V.Yu., Zverev Ya.F., Zharikov A.Yu. Conditions for the development of urate nephrolithiasis and approaches to its modeling // Nephrology. 2017. Vol. 21(4). P. 48–54. (in Russian) https://doi.org/10.24884/1561-6274-2017-21-4-48-54

5. Zharikov A.Yu., Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F. Modern methods of modeling oxalate nephrolithiasis // Nephrology. 2008. Vol. 12(4). P. 28–35. (in Russian) https://doi.org/10.24884/1561-6274-2008-12-4-28-35

6. Kabakov A.E., Gabai V.L. Cell Death and Survival Assays // Methods Mol. Biol. 2018. Vol. 1709. P. 107–127. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7477-1_9

УДК 616:002.2

ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНОВ НА МОЗГ ЧЕЛОВЕКА

Ким Е.А., студ. 2 курса
Руководитель: **Арсениев Н.А.**, кандидат биологических наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: elizaveta.kim@spcpu.ru

В данной статье рассматривается действие и общие характеристики цитокинов, а также гемопоэтические факторы роста, влияние интерлейкина-1β на мозг и выработку в областях мозга интерлейкина при депрессивном расстройстве и болезни Альцгеймера.

Ключевые слова: *цитокины, интерлейкин-1β, ростовые факторы, болезнь Альцгеймера, мозг.*

Выработка иммунорегуляторных цитокинов в головном мозге – это физиологический процесс, который имеет важнейшее значение для реализации основных функций мозга, например памяти, обучения, адаптации. Этот процесс объясняется биологическими свойствами цитокинов, которые представляют собой молекулы, обеспечивающие взаимодействие клеток посредством множества различных механизмов. Целью данной статьи является обзор влияния цитокинов группы интерлейкина-1β на головной мозг.

Понятие о цитокинах

Цитокины – это эндогенные полипептидные и белковые медиаторы межклеточного взаимодействия, регулирующие эмбриональное развитие, некоторые нормальные физиологические функции организма, защитные реакции при внедрении патогенов и развитии опухолей, формирование аллергических, аутоиммунных и иных иммунопатологических процессов и восстановлении поврежденных тканей при травмах[9].

Цитокины делятся на 5 основных групп:

1. Интерфероны (альфа, бета и гамма): первоначально их распознавали по способности защищать клетки от вирусной инфекции;
2. Интерлейкины: разнообразные иммунорегуля-торные факторы, называемые в исторической последовательности;
3. Гематопоэтические колониестимулирующие факторы (эритропоэтин, гранулоцитарно-макрофаговый колониестимулирующий фактор) (ГМ-КСФ), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) и макрофаговый колониестимулирующий фактор (М-КСФ): структурно различающиеся, но функционально близкие факторы, регулирующие гемопоэз;
4. Факторы некроза опухолей (альфа и бета): структурно близкие белки, обнаруживающие цитотоксическую активность in vitro;
5. Разнообразные факторы роста (например, тромбоцитарный фактор роста): названия даны в соответствии с клеточной системой, в которой была обнаружена их активность.

Некоторые цитокины использовались для лечения аутоиммунных заболеваний, вирусных инфекций и рака, а также для регенерации кожи. В частности, интерфероны (INFs) использовались для лечения рака, гепатита B и C и рассеянного склероза, а интерлейкины (ILs) и факторы некроза опухолей (TNFs) использовались для лечения различных видов рака. Что касается гемопоэтических факторов роста (HGFs), то эпоэтин использовался при анемии, а колониестимулирующие факторы (CSFs) – при нейтропении. Другие факторы роста были широко изучены, хотя большинству из них еще предстоит продемонстрировать клиническую значимость in vivo, прежде чем они появятся на рынке[18].

Ростовые факторы

Гемопоэтические факторы роста играют жизненно важную роль в функциональной активации всех зрелых клеток. В биологической и патологической роли иммунная система выполняет свою роль благодаря клеткам, которые охватывают ее как единое целое. Такие клетки происходят из гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге в результате кровеобразующего процесса гемопоэза, который дает начало миелоидным прогениторным клеткам и лимфоидным прогениторным клеткам[2]. Миелоидные прогениторные клетки состоят из мегакариоцитов, эритроцитов, тучных клеток и миелобластов. Клетки миелобластов дифференцируются в иммунные клетки, такие как базофил, нейтрофил, эозинофил и моноциты. Из подмножества миобластных клеток образуются моноциты, которые впоследствии развиваются в макрофаги, играющие инициирующую роль в реакциях иммунной системы, противостоящей чужеродному материалу, патогенам и поврежденным клеткам в ЦНС. Гемопоэтические факторы роста являются важным фактором, способствующим нейропоэзу в костном мозге. Они могут в определенной степени предотвратить гибель нейронов. В мышиной модели наблюдалось, что гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор восстанавливает когнитивные способности за счет восстановления уровня ацетилхолина[17]. Цитокины участвуют в регуляции роста, дифференцировки и функциональных свойств различных тканей (фактор роста фибробластов, фактор роста эндотелиальных клеток, фактор роста эпидермиса) и трансформирующий фактор роста (ТФР). Цитокины не обладают антигенной специфичностью, вырабатываются различными клетками организма, как правило, в ответ на активирующий стимул. Биологические эффекты цитокинов опосредуются через высокоспецифичные мембранные рецепторы. Цитокины формируют цитокиновую сеть. Одни цитокины могут индуцировать синтез других (каскад). В сети цитокины могут действовать согласованно (синергизм). Например, воспалительные реакции стимулируются несколькими цитокинами – ИЛ1, ИЛ6, ФНОα[3]. При полном отсутствии или повышенном количестве цитокинов происходит нарушение роста.

Интерлейкин-1β. К цитокинам относят интерфероны, колониестимулирующие факторы (CSF), хемокины, трансформирующие ростовые факторы; фактор некроза опухолей; интерлейкины и другие медиаторы[6]. Интерлейкины, имеющие порядковые номера, начиная с 1, не относятся к одной подгруппе цитокинов, а делятся на провоспалительные, отдельные регуляторные цитокины, ростовые и дифференцировочные факторы лимфоцитов.

Новые исследования показали, что повышение уровня провоспалительных цитокинов играет множественную роль как в нейродегенерации, так и в нейропротекции. Экзогенное введение рекомбинантного интерлейкина-1β (IL-1β), центрально или системно, наряду с экспериментальным инсультом у грызунов приводит к усугублению ишемического повреждения[19]. Интерлейкин-1β занимает центральное место в воспалительной реакции и является ключевым медиатором и модулятором целого ряда связанных с ней биологических функций; поэтому его производство и высвобождение обычно очень жестко регулируется[8,20].

Все больше данных свидетельствует о том, что IL-1β может быть вовлечен в патогенез большого депрессивного расстройства. Согласно недавним исследованиям, введение IL-1β животным вызывало депрессивноподобное поведение, напоминающее то, которое наблюдается у пациентов с депрессией, а повышенная продукция IL-1β была постоянно обнаружена у пациентов с депрессией; лечение антагонистом рецепторов IL-1 ослабляло депрессивноподобное поведение у животных[8]. Кроме того, предыдущие исследования показали, что стресс увеличивает выработку IL-1β в областях мозга, включая префронтальную кору, которая важна для регуляции эмоций и участвует в адаптации к стрессу[12].

Повышение уровня IL-1β было обнаружено в крови пациентов с болезнью Альцгеймера (БА). Также сообщалось о повышенных уровнях как IL-1α, так и IL-1β в сыворотке крови пациентов с БА; однако в сыворотке крови пациентов с легким когнитивным расстройством (MCI) не было обнаружено изменений в уровнях цитокинов по сравнению со здоровым контролем[4]. Кроме того, недостаточно данных, чтобы предположить, что повышенный уровень IL-1 в плазме крови при БА вызван активацией периферического иммунитета в процессе патогенеза БА. Вместо этого, повышенный уровень циркулирующего IL-1 может быть связан с центральными изменениями при БА. К сожалению, в других исследованиях не было обнаружено различий в уровне IL-1 в крови между контрольной группой и пациентами с БА. Результаты исследования уровня IL-1 в крови при MCI также противоречивы: в некоторых исследованиях он повышался по сравнению со здоровыми людьми, в других – нет. Эти противоречивые результаты могут быть связаны с различиями в чувствительности диагностических и скрининговых инструментов, низким уровнем IL-1 в крови или изменением уровня IL-1 только в субпопуляции или на определенной стадии пациентов с БА[1].

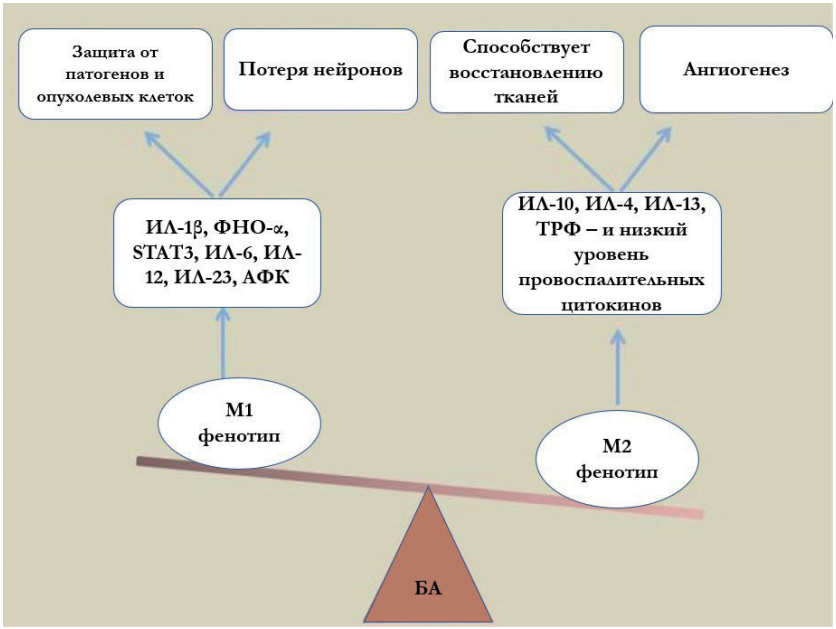


Рисунок. Роль различных воспалительных цитокинов, выделяемых различными подтипами микроглии при болезни Альцгеймера

Многие данные свидетельствуют о том, что у подопытных крыс, которым вводили IL-1β, выявились нарушения поведения (частая смена актов, усиление двигательной и снижение исследовательской активности)[20]. Нарушение поведения животных сопровождалось повышением содержания дофамина в гипоталамусе, но не серотонина и норадреналина. Взрослые крысы, которым вводили ИЛ-1β, в тестах отличались повышенной стресс-реактивностью. Особенности нарушений поведения животных с повышенным уровнем ИЛ-1β в раннем постнатальном онтогенезе оказались аналогичными компонентам СДВГ – синдрома дефицита внимания с гиперактивностью у детей[1]. Это: частая смена форм поведения; высокая активность; большая выраженность проявлений в подростковом, но не взрослом возрасте; общие причины, вызывающие СДВГ и повышение уровня ИЛ-1β в крови и мозге.

Заключение

IL-1 является первым описанным воспалительным цитокином и обладает многочисленными действиями, которые способствуют как повреждению, так и восстановлению. В данной статье было рассмотрено влияние цитокинов на головной мозг.

Таким образом, в нормальных условиях покоя уровень IL-1β обычно ниже уровня распознавания, и для усиления экспрессии IL-1β необходим стимул. Многие статьи подтверждают роль IL-1β в пространственном распознавании и контекстуальном обучении. Цитокины – это гораздо больше, чем основные сигнальные воспалительные молекулы, поскольку они играют ключевую роль в модуляции когнитивных функций в физиологических условиях. Лучшее понимание взаимодействия между всей иммунной системой и синаптической пластичностью, безусловно, будет иметь ключевое значение для разработки методов лечения нейрональных, когнитивных и аффективных расстройств, при которых наблюдается дефицит этих механизмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. The Potential Role of Cytokines and Growth Factors in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease / Ogunmokun G. [et al.] // Cells. 2021. Vol. 10(10). P. 2790. doi: 10.3390/cells10102790.

2. Mast cells as sources of cytokines, chemokines, and growth factors / K. Mukai [et al.] // Immunological reviews. 2018. Vol. 282(1). P. 121-150. doi: 10.1111/imr.12634.

3. Silva A. C., Lobo J. M. Cytokines and growth factors // Current Applications of Pharmaceutical Biotechnology. 2019. Vol. 171. P. 87-113. doi: 10.1007/10_2019_105.

4. The Potential Role of Cytokines and Growth Factors in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease / G. Ogunmokun [et al.] // Cells. 2021. Vol. 10(10). P. 2790. doi: 10.3390/cells10102790.

5. Murray K.N., Parry-Jones A.R., Allan S.M. Interleukin-1 and acute brain injury // Frontiers in cellular neuroscience. 2015. Vol. 9. P. 18. https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00018

6. Patterson S.L. Immune dysregulation and cognitive vulnerability in the aging brain: Interactions of microglia, IL-1β, BDNF and synaptic plasticity // Neuropharmacology. 2015. Vol. 96. P. 11-18. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.12.020.

7. Postprandial macrophage-derived IL-1β stimulates insulin, and both synergistically promote glucose disposal and inflammation / E. Dror [et al.] // Nature immunology. 2017. Vol. 18(3). P. 283-292. doi: 10.1038/ni.3659.

8. Apigenin ameliorates chronic mild stress-induced depressive behavior by inhibiting interleukin-1β production and NLRP3 inflammasome activation in the rat brain / R. Li [et al.] // Behavioural brain research. 2016. Vol. 296. P. 318-325. doi: 10.1016/j.bbr.2015.09.031.

9. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity // European journal of pharmacology. 2004. Vol. 500(1-3). P. 399-411. doi: 10.1016/j.ejphar.2004.07.040.

10. Diverse activators of the NLRP3 inflammasome promote IL-1β secretion by triggering necrosis / S. P. Cullen [et al.] // Cell reports. 2015. Vol. 11(10). P. 1535-1548. doi: 10.1016/j.celrep.2015.05.003.

11. Anders H.J. Of inflammasomes and alarmins: IL-1β and IL-1α in kidney disease // Journal of the American Society of Nephrology. 2016. Vol. 27(9). P. 2564-2575. doi: 10.1681/ASN.2016020177.

12. Behavioral changes in male mice fed a high-fat diet are associated with IL-1β expression in specific brain regions / C.P. Almeida-Suhett [et al.] // Physiology & behavior. 2017. Vol. 169. P. 130-140. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.11.016.

13. Liu X., Quan N. Microglia and CNS interleukin-1: beyond immunological concepts // Frontiers in neurology. 2018. Vol. 9. P. 8. doi: 10.3389/fneur.2018.00008.

14. Park J.C., Han S.H., Mook-Jung I. Peripheral inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease: a brief review // BMB reports. 2020. Vol. 53(1). P. 10-19. doi: 10.5483/BMBRep.2020.53.1.309.

15. Khandaker G.M., Dantzer R. Is there a role for immune-to-brain communication in schizophrenia? // Psychopharmacology. 2016. Vol. 233(9). P. 1559-1573. doi: 10.1007/s00213-015-3975-1.

16. Antidepressant activity of anti-cytokine treatment: a systematic review and meta-analysis of clinical trials of chronic inflammatory conditions / N. Kappelmann [et al.] // Molecular psychiatry. 2018. Vol. 23(2). P. 335-343. doi: 10.1038/mp.2016.167.

17. Low-dose penicillin in early life induces long-term changes in murine gut microbiota, brain cytokines and behavior / S. Leclercq [et al.] // Nature communications. 2017. Vol. 8(1). P. 1-12. doi: 10.1038/ncomms15062.

18. Effect of hydrogen-rich water on the chondriosome damage and cytokines in brain tissue of rats with traumatic brain injury / J. Fu [et al.] // Zhonghua wei Zhong Bing ji jiu yi xue. 2018. Vol. 30(4). P. 317-321. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.04.006.

19. Filiano A.J., Gadani S.P., Kipnis J. How and why do T cells and their derived cytokines affect the injured and healthy brain? // Nature Reviews Neuroscience. 2017. Vol. 18(6). P. 375-384. doi: 10.1038/nrn.2017.39.

20. Панова М.С., Панченко А.С. Роль цитокинов и их генетического полиморфизма в развитии гипоксически-ишемической энцефалопатии у доношенных новорожденных детей // Педиатр. 2017. Т. 8. N 6. С. 99-104. doi: 10.17816/PED8699-104

SUMMARY

THE EFFECT OF CYTOKINES ON THE HUMAN BRAIN

Kim E.A., 2nd year student
Supervisors: **Arseniyev N.A.**, Ph.D., associate professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. Prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: elizaveta.kim@spcpu.ru

This article discusses the effect and general characteristics of cytokines as well as hematopoietic growth factors, the effect of interleukin-1β on the brain and interleukin production in the brain areas of depressive disorders and Alzheimer's disease.

Keywords: *cytokines, interleukin-1β, growth factors, Alzheimer's disease, brain.*

REFERENCES

1. The Potential Role of Cytokines and Growth Factors in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease / Ogunmokun G. [et al.] // Cells. 2021. Vol. 10(10). P. 2790. doi: 10.3390/cells10102790.

2. Mast cells as sources of cytokines, chemokines, and growth factors / K. Mukai [et al.] // Immunological reviews. 2018. Vol. 282(1). P. 121-150. doi: 10.1111/imr.12634.

3. Silva A. C., Lobo J. M. Cytokines and growth factors // Current Applications of Pharmaceutical Biotechnology. 2019. Vol. 171. P. 87-113. doi: 10.1007/10_2019_105.

4. The Potential Role of Cytokines and Growth Factors in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease / G. Ogunmokun [et al.] // Cells. 2021. Vol. 10(10). P. 2790. doi: 10.3390/cells10102790.

5. Murray K.N., Parry-Jones A.R., Allan S.M. Interleukin-1 and acute brain injury // Frontiers in cellular neuroscience. 2015. Vol. 9. P. 18. https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00018

6. Patterson S.L. Immune dysregulation and cognitive vulnerability in the aging brain: Interactions of microglia, IL-1β, BDNF and synaptic plasticity // Neuropharmacology. 2015. Vol. 96. P. 11-18. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.12.020.

7. Postprandial macrophage-derived IL-1β stimulates insulin, and both synergistically promote glucose disposal and inflammation / E. Dror [et al.] // Nature immunology. 2017. Vol. 18(3). P. 283-292. doi: 10.1038/ni.3659.

8. Apigenin ameliorates chronic mild stress-induced depressive behavior by inhibiting interleukin-1β production and NLRP3 inflammasome activation in the rat brain / R. Li [et al.] // Behavioural brain research. 2016. Vol. 296. P. 318-325. doi: 10.1016/j.bbr.2015.09.031.

9. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity // European journal of pharmacology. 2004. Vol. 500(1-3). P. 399-411. doi: 10.1016/j.ejphar.2004.07.040.

10. Diverse activators of the NLRP3 inflammasome promote IL-1β secretion by triggering necrosis / S. P. Cullen [et al.] // Cell reports. 2015. Vol. 11(10). P. 1535-1548. doi: 10.1016/j.celrep.2015.05.003.

11. Anders H.J. Of inflammasomes and alarmins: IL-1β and IL-1α in kidney disease // Journal of the American Society of Nephrology. 2016. Vol. 27(9). P. 2564-2575. doi: 10.1681/ASN.2016020177.

12. Behavioral changes in male mice fed a high-fat diet are associated with IL-1β expression in specific brain regions / C.P. Almeida-Suhett [et al.] // Physiology & behavior. 2017. Vol. 169. P. 130-140. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.11.016.

13. Liu X., Quan N. Microglia and CNS interleukin-1: beyond immunological concepts // Frontiers in neurology. 2018. Vol. 9. P. 8. doi: 10.3389/fneur.2018.00008.

14. Park J.C., Han S.H., Mook-Jung I. Peripheral inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease: a brief review // BMB reports. 2020. Vol. 53(1). P. 10-19. doi: 10.5483/BMBRep.2020.53.1.309.

15. Khandaker G.M., Dantzer R. Is there a role for immune-to-brain communication in schizophrenia? // Psychopharmacology. 2016. Vol. 233(9). P. 1559-1573. doi: 10.1007/s00213-015-3975-1.

16. Antidepressant activity of anti-cytokine treatment: a systematic review and meta-analysis of clinical trials of chronic inflammatory conditions / N. Kappelmann [et al.] // Molecular psychiatry. 2018. Vol. 23(2). P. 335-343. doi: 10.1038/mp.2016.167.

17. Low-dose penicillin in early life induces long-term changes in murine gut microbiota, brain cytokines and behavior / S. Leclercq [et al.] // Nature communications. 2017. Vol. 8(1). P. 1-12. doi: 10.1038/ncomms15062.

18. Effect of hydrogen-rich water on the chondriosome damage and cytokines in brain tissue of rats with traumatic brain injury / J. Fu [et al.] // Zhonghua wei Zhong Bing ji jiu yi xue. 2018. Vol. 30(4). P. 317-321. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.04.006.

19. Filiano A.J., Gadani S.P., Kipnis J. How and why do T cells and their derived cytokines affect the injured and healthy brain? // Nature Reviews Neuroscience. 2017. Vol. 18(6). P. 375-384. doi: 10.1038/nrn.2017.39.

20. Panova M.S., Panchenko A.S. The role of cytokines and their genetic polymorphism in the development of hypoxic-ischemic encephalopathy among full-term newborn children // Pediatrician. 2017. Vol. 8(6). P. 99-104. doi: 10.17816/PED8699-104 (in Russian)

УДК 61:615.272.4

АПРОБАЦИЯ МОДЕЛИ ЖИРОВОЙ ДИСТРОФИИ ПЕЧЕНИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ОРОТОВОЙ КИСЛОТОЙ, С РЕФЕРЕНТНЫМ ПРЕПАРАТОМ

Кованcков В.Е., студ. 2 курс (ORCID: 0000-0001-5783-8339), **Копачёва Е.А.**, студ. 2 курса (ORCID: 0000-0003-2241-0724), **Семивеличенко Е.Д.** (ORCID: 0000-0002-8464-7711), **Плиско Г.А.** (ORCID: 0000-0003-0869-3430)
Руководитель: **Ивкин Д.Ю.**, кандидат биологических наук,
доцент, начальник центра экспериментальной фармакологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
Российская Федерация, 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, лит. А
E-mail: vladislav.kovanskov@spcpu.ru

Существующие модели неалкогольной жировой болезни печени, применяемые для изучения эффективности лекарственных препаратов, характеризуются большой длительностью воспроизведения и высокой смертностью тест-систем, в связи с чем, актуальной задачей является апробация скрининговой модели данной патологии.

На основе результатов биохимического и гистологического исследований выявлено, что высокоуглеводная диета с добавлением 1% оротата калия в течение 4 недель вызывает средневыраженную баллонную дистрофию, слабовыраженный гепатит и увеличение содержания аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы в крови у крыс и менее значимые изменения у мышей. Также отмечена низкая смертность животных.

Применение урсодезоксихолевой кислоты на заявленной модели вызывает уменьшение выраженности дистрофии печени и снижение уровня аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы в крови.

Ключевые слова: *НАЖБП, урсодезоксихолевая кислота, аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, баллонная дистрофия, гепатит.*

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) в настоящее время является одной из наиболее актуальных для исследования патологий печени, распространённость которой в мире варьирует от 6,3 до 33%, в среднем 24% [1]. НАЖБП объединяет в себе различные морфофизиологические изменения в печени, связанные с избыточным накоплением жиров в гепатоцитах, тесно связанных с ожирением и метаболическим синдромом [2].

Существующие модели НАЖБП связаны с высоким риском смерти животных и большой продолжительностью воспроизведения [3], поэтому целью работы стала апробация краткосрочной доклинической модели НАЖБП.

В ряде исследований показано гепатотоксическое действие оротовой кислоты, способной индуцировать НАЖБП у грызунов. В качестве препарата-гепатопротектора использовалась урсодезоксихолевая кислота, широко применяемая в практике при лечении различных заболеваний печени [4].

Исследование проведено на 21 аутбредных белых крысах-самцах, массой 260–265 г и на 30 инбредных мышах-самцах линии C57BL/6, массой 16–18 г. Методом рандомизации крысы были разделены на 3 группы (по 7 крыс в каждой): 1-я группа – интактные животные, 2-я – модель НАЖБП, 3-я – модель НАЖБП + УДХК, мыши были разделены на 2 группы (по 10 и 20 мышей соответственно): 1-я группа – интактные животные, 2-я – модель НАЖБП. Исследуемый препарат вводили после первой контрольной точки 1 раз в день через зонд в пересчёте 150 мг/кг.

Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев), Методическими указаниями по содержанию и использованию лабораторных животных (Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. – Washington, D.C., 1996) и Директивой 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.

НАЖБП моделировали, сочетая высокоуглеводную диету и введение оротовой кислоты (в форме оротата калия) в течение 4 недель. В состав диеты входили 75% лабораторного корма, 24% фруктозы и 1% оротата калия. Интактные животные получали стандартный комбикорм.

В ходе эксперимента оценивали летальность, а также массу тела животных (1 раз в 2 недели). В точке, соответствующей 4 неделям эксперимента (1 контрольная точка), выводили вторую группу крыс и вторую группу мышей, брали кровь с последующим биохимическим анализом (определяли активность АЛТ и АСТ) и забирали печень для гистологического исследования. Третью группу крыс переводили на стандартный корм и ежедневное введение урсодезоксихолевой кислоты 150 мг/кг через зонд. Во 2-й контрольной точке (8 недель эксперимента) были выведены все оставшиеся животные. Эвтаназию животных проводили в соответствии с внутренним стандартизированным операционным протоколом путем усыпления углекислым газом в CO2-боксе модели THF3481-V01 (BIOSCAPE (EHRET), Германия) с последующим сливанием крови через гильотинирование. Проводили биохимическое исследование забранной крови. Уровень АЛТ и АСТ определяли по общепринятым методикам с помощью стандартных наборов реактивов на автоматическом биохимическом анализаторе ERBA XL-100 (Erba group, Чехия).

Полученные органы помещались в 10%-й забуференный формалин и фиксировались в течение 24ч. Далее производилась вырезка образцов и помещение их в гистологические кассеты. Образцы тканей подвергались стандартной гистологической проводке в гистопроцессоре Thermo Scientific Excelsior AS (Thermo Shandon Limited, Англия), после чего происходила заливка в парафин и микротомия с использованием ротационного микротома. Срезы толщиной 3-3,5 мкм помещались на предметные стекла, окрашивались гематоксилином и эозином. Аналитический этап работы проводился с использованием проходящего света и микроскопа Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Германия). Оценивали следующие признаки: выраженность баллонной, жировой и вакуольной дистрофии, степень активности гепатита (0 – отсутствие признака, 1 – слабо выраженный, 2 – умеренно выраженный, 3 – выраженный признак).

Сопоставление частотных характеристик качественных показателей осуществлено с помощью непараметрического критерия Фишера. С учетом распределения количественных данных, которое удовлетворяло критериям нормальности в качестве статистической обработки результатов исследования выполняли расчёт средних значений и стандартных ошибок среднего (M ± m). Для оценки статистических различий применяли однофакторный дисперсионный анализ (One-Way ANOVA) с помощью программы GraphPad Prism 8.0.2. Различия считали статистически достоверными при $p<0,05$.

Показатель общей смертности животных к окончанию 4-й недели эксперимента во 2-х группах крыс и мышей значимо не различался, составив соответственно 14,3 и 15% (таб. 1).

Таблица 1 – Выживаемость животных в исследуемых группах

Группа животных	2 недели	4 недели	6 недель	8 недель
Интакт (крысы)	0/7	0/7	0/7	0/7
НАЖБП (крысы)	1/7	1/7	-	-
НАЖБП + УДХК (крысы)	1/7	1/7	2/7	2/7
Интакт (мыши)	0/10	0/10	0/10	0/10
НАЖБП (мыши)	2/20	3/10	-	-

Масса тела экспериментальных животных статистически значимо не изменялась на протяжении эксперимента как внутри групп, так и между группами животных, находившихся на диете НАЖБП, НАЖБП + УДХК и интактными животными.

Согласно данным биохимического исследования, активность индикаторных ферментов цитолиза (АЛТ и АСТ) к первой контрольной точке эксперимента повышалась во вторых группах крыс и мышей по сравнению с группой интакта (средние показатели АЛТ в группе интакта мышей составляли 22,8 ± 8,2 МЕ/л, интакта крыс 27,5 ± 2,4 МЕ/л, группе контроля мышей 103,8±13,5 МЕ/л, группе контроля крыс 65,9±24,2 МЕ/л; средние показатели АСТ в группе интакта мышей составляли 65,7±23,2 МЕ/л, в группе контроля крыс 50,3±7,3 МЕ/л, в группе контроля мышей 383,4±56,2 МЕ/л, в группе контроля крыс 91,9±18,9 МЕ/л). Содержание АЛТ и АСТ в крови животных 3 группы крыс, получавших препарат, ко второй экспериментальной точке, снизилось в среднем на 48,4 ± 0,8% ($p < 0,05$) (до средних значений АЛТ 32,1±8,2 МЕ/л и АСТ 54,1±5,3 МЕ/л).

При оценке данных гистологического исследования печени методом бальной системы (1-слабо выраженное проявление 2-умеренно выраженное 3-выраженное) после первой контрольной точки в группе мышей выявлено незначительное проявление баллонной дистрофии и гепатита. В то же время в группе крыс выявлено наличие умеренно-выраженной баллонной дистрофии и слабовыраженного диффузного гепатита. После второй контрольной точки проявление баллонной дистрофии в печени крыс не регистрировалось, гепатит гранулематозный и слабовыраженный (таблица 2).

Таблица 2 – Данные гистологического исследования

Группа животных	Выраженность баллонной дистрофии (сумма баллов)	Выраженность жировой дистрофии (сумма баллов)	Степень активности гепатита (сумма баллов)	Выраженность вакуольной дистрофии (сумма баллов)
Контрольная точка 1 (4 недели)				
Интакт мыши (10 особей)	0	0	0	0
Контроль мыши (17 особей)	6	5 (менее 1%)	2	-
Интакт крысы (7 особей)	1	2 (около 1%)	0	0
Контроль крысы (4 особи)	12	5 (около 5%)	6	0
Контрольная точка 2 (8 недель)				
Крысы НАЖБП+УДХК (5 особей)	0	1 (менее 1%)	1	1
Контроль крысы (3 особи)	0	5 (менее 1%)	5	6

Полученные нами данные позволяют сделать вывод о влиянии диеты с повышенным содержанием углеводов в сочетании с оротовой кислотой на состояние печени крыс и мышей. Модель НАЖБП у крыс оказалась более выраженной, диета у крыс вызывает стойкое увеличение уровня АЛТ и АСТ в крови, свидетельствуя о повреждении клеток печени и снижении их работоспособности, что подтверждается данными гистологического исследования.

По результатам изложенного сделаны следующие выводы:

1) Диета с повышенным содержанием углеводов и 1% оротовой кислоты за короткий срок вызывает патологические изменения в печени, схожие с НАЖБП.

2)Урсодезоксихолевая кислота успешно купирует проявления НАЖБП, индуцированной комбинацией оротовой кислоты и диеты.

3) Полученные данные позволяют рекомендовать указанную модель для дальнейшего использования в качестве быстровоспроизводимой модели НАЖБП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention / Z. Younossi [et al.] // Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2018. Vol. 15(1). P. 11–20. doi: 10.1038/nrgastro.2017.109.

2. Буеверов А.О., Богомолов П.О., Маевская М.В. Патогенетическое лечение неалкогольного стеатогепатита: обоснование, эффективность, безопасность // Терапевтический архив. 2007. Т.79. N 8. С. 1-4.

3. Влияние производного 2-этил-6метил-3-гидроксипиридина на течение неалкогольной жировой болезни в печени / Д.С. Суханов [и др.] // Молекулярная медицина. 2020. Т. 18. N 1. С. 23-25.

4. Гепатопротекторы: от теории к практике / Б. Губергриц [и др.]. М.: Лебедь. 2012. 52 с.

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К. 2012. С. 363-374.

SUMMARY

APPROBATION OF A MODEL OF FATTY LIVER DYSTROPHY INDUCED BY OROTIC ACID WITH A REFERENCE DRUG

V.E. Kovanskov, 2nd year student (ORCID: 0000-0001-5783-8339); **E.A. Kopacheva**, 2nd year student (ORCID: 0000-0003-2241-0724); **E.D. Semivelichenko** (ORCID: 0000-0002-8464-7711), **G.A. Plisko** (ORCID: 0000-0003-0869-3430)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, , Russian Federation, 197022
E-mail: vladislav.kovanskov@spcpu.ru

The existing models of non-alcoholic fatty liver disease used to study the effectiveness of drugs are characterized by a long duration of reproduction and high mortality of test systems, and therefore, an urgent task is to test a screening model of this pathology.

Based on the results of biochemical and histological studies, it was revealed that a high-carbohydrate diet with the addition of 1% potassium orotate for 4 weeks causes moderate balloon dystrophy, mild hepatitis and an increase in the content of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in the blood of rats and less significant changes in mice. Low animal mortality was also noted.

The use of ursodeoxycholic acid on the claimed model causes a decrease in the severity of liver dystrophy and a decrease in the level of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in the blood.

REFERENCES

1. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention / Z. Younossi [et al.] // Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2018. Vol. 15(1). P. 11–20. doi: 10.1038/nrgastro.2017.109.

2. Bueverov A.O., Bogomolov P.O., Mayevskaya M.V. Pathogenetic treatment of non-alcoholic steatohepatitis: justification, efficacy, safety // Therapeutic Archive. 2007. Vol.79(8). P. 1-4. (in Russian)

3. The effect of a derivative of 2-ethyl-6methyl-3-hydroxypyridine on the course of non-alcoholic fatty liver disease / D.S. Sukhanov [et al.] // Molecular medicine. 2020. Vol. 18(1). P. 23-25. (in Russian)

4. Lukashevich G. M., Fomenko P. G. Hepatoprotectors: from theory to practice / B. Gubergrits [et al.]. Moscow: Lebed. 2012. 52 p. (in Russian)

5. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part One. M.: Vulture and K. 2012. P. 363-374. (in Russian)

УДК 65.615.038

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ МАЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

Кованcков В.Е., студ. 2 курса (ORCID: 0000-0001-5783-8339),
Кушнир В.И., студ. 3 курса, **Булатова С.А.**, студ. 2 курса
Руководитель: **Ивкин Д.Ю.**, кандидат биологических наук, доцент,
начальник центра экспериментальной фармакологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, лит. А
E-mail: vladislav.kovanskov@spcpu.ru

Исследован антигипоксический эффект производных малоновой кислоты на модели острой гемической гипоксии и длительной гипоксии в тесте «плавание до отказа» по показателю продолжительности жизни мышей. Показано, что наиболее эффективными антигипоксантами являются производные под кодовыми названиями В1 и В3, наименее – В2. На модели острой гемической гипоксии было выяснено, что наиболее эффективная доза производных малоновой кислоты составляет 100 мг/кг. Полученные нами данные позволяют рекомендовать данные производные для дальнейшего изучения.

Ключевые слова: *острая гемическая гипоксия, предельное плавание, малоновая кислота, нитрит натрия, антигипоксические средства.*

Гипоксия является сложным патологическим процессом, основывающимся на снижении энергообеспечения органов и тканей в результате снижения митохондриального окислительного фосфорилирования, вызванного нарушением функционирования дыхательной и сердечно-сосудистой систем, транспорта крови или митохондриальной дисфункцией.

Методы терапии данной патологии предусматривают использование лекарственных препаратов, воздействующих на внутриклеточные биохимические процессы, связанные с активацией анаэробного гликолиза и повышением эффективности биохимических реакций аэробного окисления субстратов, а также введение извне макроэргических соединений [1].

Синтез и изучение различных производных лекарственных веществ, применяемых в практике, могут способствовать открытию более эффективных аналогов, которые могут использоваться в медицине, а также для ускорения адаптации спортсменов к тренировочным нагрузкам. Поэтому целью данного исследования явилась сравнительная оценка антигипоксического действия различных потенциально активных производных малоновой кислоты [2].

Исследование проведено на 190 белых лабораторных аутбредных мышах-самках массой 17–26 г, полученных из питомника лабораторных животных ФГУП ПЛЖ «Рапполово». Все исследования были проведены в соответствии с Международными правилами по работе с лабораторными животными и согласованы биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Животные содержались в вентилируемых клетках при температуре воздуха 20–22°С, относительной влажности 40–60%, световом режиме 12:12 в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев), Методическими указаниями по содержанию и использованию лабораторных животных (Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. – Washington, D.C., 1996) и Директивой 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Использовался полнорационный лабораторный корм при свободном доступе к водопроводной питьевой воде.

Испытуемые образцы различных производных малоновой кислоты: вещество 1 (В1), вещество 2 (В2), вещество 3 (В3), вещество 4 (В4) вводили внутрижелудочно через зонд в виде водных растворов однократно за 30 мин до начала моделирования гипоксии. Животные контрольных групп получали воду для инъекций в эквиобъемном количестве. Методом рандомизации животных распределили по 10 особей на группу.

На первом этапе эксперимента изучалась наиболее эффективная доза исследуемых веществ на модели острой гемической гипоксии в различных дозировках: 25 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг. На втором этапе эксперимента проводилось изучение влияния показавших свою эффективность на первом этапе эксперимента производных в наиболее эффективной дозе на модели длительного гипоксического воздействия в тесте «предельное плавание».

Для создания модели острой гемической гипоксии животным вводили внутрибрюшинно натрия нитрит (300 мг/кг) в виде 10% раствора, а затем фиксировали продолжительность жизни мышей [3].

Изучение влияния длительного гипоксического воздействия проводили с помощью теста «Предельное плавание» [4], который моделировали прикреплением лабораторным животным в области крестца к шкуре груза 7,5% от массы тела и погружением в воду бассейна (температурой 24-25 градусов). Высота уровня воды в бассейне была не меньше 35-40 см. Секундомер включался при первых плавательных движениях. Критерием прекращения плавания (остановка секундомера) являлось погружение животного на дно бассейна без плавательных движений, а также появление пузырьков вытесняемого из легких воздуха.

Статистическая обработка проводилась с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8.0.2. В отношении всех количественных данных применяли методы описательной статистики: подсчитывались средние значения (M) и стандартная ошибка среднего (SM). При нормальном распределении полученных данных межгрупповые различия количественных показателей анализировали методом дисперсионного анализа (ANOVA). Различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p<0,05$.

При анализе полученных результатов было установлено, что исследуемые производные малоновой кислоты проявляют достоверную антигипоксическую активность (таб.1). Наиболее выраженным антигипоксическим эффектом обладали вещества 1 и 3, наименьшей – вещество 2. Наиболее эффективная доза составила 100 мг/кг.

Таблица 1 – Влияние производных малоновой кислоты на продолжительность жизни мышей на модели острой гемической гипоксии

Группа	Модель острой гемической гипоксии	
	Время жизни, секунд	Уровень значимости (р)
Дозировка 25 мг/кг		
Контроль	739,3±92,8	
В1	1126,8±80,4	P<0,05
В2	889,4±78,7	*
В3	950,9±120,01	P<0,05
В4	905±75,8	P<0,05
Дозировка 50 мг/кг		
Контроль	743,8±87,2	
В1	772,4±66,3	P<0,05
В2	728,1±45,7	*
В3	752,8±54,2	P<0,05
В4	753,5±27,06	*

Группа	Модель острой гемической гипоксии	
	Время жизни, секунд	Уровень значимости (p)
Дозировка 100 мг/кг		
Контроль	770,4±90,9	
B1	1161,7±148,4	P<0,05
B2	901,8±145,4	P<0,05
B3	1222,7±104,7	P<0,05
B4	1186,7±291,7	*

Примечание. * – данные не подвержены нормальному распределению.

Результаты второго этапа эксперимента на модели длительного гипоксического воздействия в тесте «предельное плавание» в установленной для всех веществ дозе 100 мг/кг показали умеренно выраженную антигипоксическую активность производного B1 по сравнению с группой контроля (увеличение времени предельного плавания в 1,185 раза, P<0,05) и отсутствие статистически значимых изменений при введении веществ B3 и B4 (рис. 1).

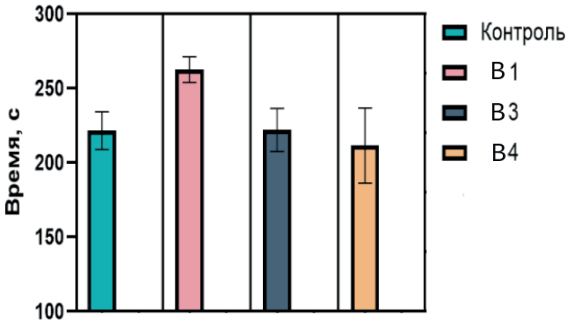


Рисунок 1. Длительность предельного плавания животных при воздействии острой гемической гипоксии, а также при введении изучаемых препаратов (M±m)

Таким образом, на основании проведенных исследований можно заключить, что: производное малоновой кислоты B1 оказывало положительное воздействие на моделях острой гемической гипоксии и длительного гипоксического воздействия. Аналогичный эффект в условиях моделирования острой гемической гипоксии показали соединения B3 и B4, но при этом их влияние на время жизни животных в тесте «предельное плавание» не превосходило таковое в контрольной группе. Вещество B2 оказалось наименее эффективных из всех представленных соединений.

По результатам изложенного сделаны следующие выводы: производное малоновой кислоты B1 успешно повышает сопротивляемость организма острой гемической и длительной гипоксии, в то время как остальные производные (B2, B3 и B4) оказались менее эффективны. Полученные данные позволяют рекомендовать вещество 1 для дальнейшего изучения в качестве антигипоксанта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фармакологическая коррекция переносимости одновременного гипоксического и температурного воздействия на функциональное состояние организма / Е. Б. Шустов [и др.] // Биомедицина. 2021. Т. 17. N 1. С. 57-69. DOI 10.33647/2074-5982-17-1-57-69

2. Бажанова Е.Д., Оковитый С.В., Белых М.А. Влияние 4,4'-(пропандиамидо)дибензоата натрия и метформина на динамику апоптоза и пролиферации гепатоцитов у мышей с сахарным диабетом и ожирением // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018. Т. 81. N 5. С. 17-20.

3. Антигипоксическая активность различных солей этилметилгидроксипи-ридина / Д.Ю. Ивкин [и др.] // Молекулярная медицина. 2020. Т. 18. N 4. С. 36-41. DOI 10.29296/24999490-2020-04-05

4. Биомедицинское (доклиническое) изучение лекарственных средств, влияющих на физическую работоспособность. Методические рекомендации / Н. Н. Каркищенко [и др.]. М., 2017. С. 133.

5. Поверяева М.А. Модель сочетанного воздействия экстремальных факторов, как ин-струмент поиска новых эффективных стимуляторов работоспособности // Аспирантские чтения – 2021: молодые ученые – медицине : сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Самара, 13–14 октября 2021 года. Самара: СамЛюксПринт, 2021. С. 385-387.

6. Оценка влияния производных этилтиобензимидазола на выживаемость мышей в условиях гипоксии / С.В. Радько [и др.] // Инновации в здоровье нации : сборник материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 08–09 ноября 2017 года. СПб.: СПХФА. 2017. С. 25-29.

SUMMARY

RESEARCHING OF THE EFFECT OF MALONIC ACID DERIVATIVES ON THE SURVIVAL OF MICE IN HYPOXIA

Kovanskov V.E., 2nd year student (ORCID: 0000-0001-5783-8339),
Kushnir V.I., 3nd year student; **Bulatova S.A.,** 2nd year student
Supervisor: **Ivkin D.Yu**., Candidate of Biological Sciences, Associate Professor,
Head of the Center for Experimental Pharmacology
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: vladislav.kovanskov@spcpu.ru

The antihypoxic effect of malonic acid derivatives on the model of acute hemic hypoxia and pro-longed hypoxia in the "swimming to failure" test was studied in terms of longevity of mice. The derivatives codenamed substance 1 and substance 3 were shown to be the most effective antihypoxants, while substance 2 was the least effective. On the model of acute hemic hypoxia, it was found that the most effective dosage of malonic acid derivatives is 100 mg/kg. The data we obtained allow us to recommend these derivatives for further study.

REFERENCES

1. Pharmacological correlation of the tolerability of simultaneous hypoxic and temperature effects on the functional state of the organism / E.B. Shustov [et al.] // Biomedicine. 2021. Vol. 17(1). P. 57-69. DOI 10.33647/2074-5982-17-1-57-69 (in Russian)
2. Bazhanova E.D., Okovity S.V., Belykh M.A. Effect of 4,4'-(propanediamido)sodium dibenzoate and metformin on the dynamics of apoptosis and proliferation of hepatocytes in mice with diabetes mellitus and obesity // Experimental and clinical pharmacology. 2018. Vol. 81(5). P. 17–20. (in Russian)
3. Antihypoxic activity of various ethylmethyl-hydroxypridine salts / D.Yu. Ivkin [et al.] // Molecular medicine. 2020. Vol. 18(4). P. 36-41. DOI 10.29296/24999490-2020-04-05. (in Russian)
4. Biomedical (pre-clinical) study of drugs affecting physical performance // Methodological recommendations / N.N. Karkishchenko [et al.]. Moscow, 2017. P. 133. (in Russian)
5. Poveryaeva M.A. The model of combined impact of extreme factors as an instrument for the search for new effective stimulants of working capacity // Postgraduate readings - 2021: young scientists in medicine : A collection of materials of the All-Russian Scientific and practical Conference with international participation, Samara, October 13-14. 2021. Samara: Sam-Luxprint, 2021. P. 385-387. (in Russian)
6. Evaluation of the effect of ethylthiobenzimidazole derivatives on the survival of mice in hypoxia conditions / S.V. Radko [et al.] // Innovations in the health of the nation : A collection of materials of the V All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation, St. Petersburg, November 08-09, 2017. St. Petersburg: SPHFA. 2017. P. 25-29. (in Russian)

УДК 577.1

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

Коликова А.Р., студ. 3 курса, **Мацюк С.К.**, студ. 3 курса,
Мельникова Ю.Д., студ. 3 курса, **Мороз П.И.**, студ. 3 курса
Руководители: **Кириллова Н.В.,** докт. биол. наук, проф. (ORCID: 0000-0003-3379-0646),
Спасенкова О.М., канд. мед. наук, доц. (ORCID: 0000-0002-2924-7651)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376 Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, дом 14. Российская Федерация
E-mail: anastasiya.kolikova@spcpu.ru

В обзоре проанализированы данные научных публикаций об оценки состояния оксидативного стресса при физических нагрузках. Приводятся показатели системы свободно-радикального окисления и системы антиоксидантной защиты, инициируемые физическими нагрузками различной интенсивности. Выявлено, что физические упражнения вызывают широко распространенные изменения в многочисленных клетках, тканях и органах в ответ на повышенную метаболическую потребность.

Ключевые слова: *окислительный стресс, физические нагрузки, ферменты антиоксидантной защиты, прооксиданты.*

За последние десятилетия в литературе накоплен значительный экспериментальный материал о генерации у аэробов активных форм кислорода – прооксида. Активные формы кислорода способны к взаимопревращению и благодаря высокой химической реакционной способности они, за исключением перекиси водорода, имеют малое время жизни. Прооксиданты – естественные компоненты любой аэробной клетки, так как они постоянно образуются при метаболизме кислорода, а также в ходе многих ферментативных процессов. Считают, что активные формы кислорода играют значительную роль в обеспечении нормальной физиологической активности клеток, участвуют в синтезе ряда биологически активных метаболитов, являются активаторами митогенеза, клеточной пролиферации, дифференциации и эмбриогенеза. Активные метаболиты кислорода могут индуцировать транскрипцию ряда генов, в частности, в растениях они могут выступать в качестве вторичных внутриклеточных посредников, участвующих в активации фактора транскрипции, вызывающего экспрессию генов, кодирующих некоторые цитокинины. Кроме того, активные формы кислорода служат бактерицидными агентами, а некоторые представители прооксидантов обладают инсулиноподобным действием, а именно, индуцируют транспорт глюкозы внутрь клеток и стимулируют синтез гликогена. [1-4].

Длительные и сверхинтенсивные физические упражнения способны индуцировать окислительный стресс. Продолжительные тренировки на выносливость также способны негативно влиять на антиоксидантный статус спортсмена. Усиленные аэробные нагрузки связаны с окислительным стрессом и повреждением тканей. Окислительный стресс может оказывать двоякий эффект: негативный, вызывая повреждение его структур, либо положительный, активируя защитные системы [5, 6].

Таким образом, образование высоко реактивных свободных радикалов кислорода в клетках аэробов происходит постоянно, что может представлять для последних значительную потенциальную опасность. Поэтому нормальное функционирование и развитие клеток в кислородном окружении стало возможным только с возникновением эффективных средств защиты – специализированных ферментативных и неферментативных антиоксидантов, т.е. генерирование активных форм кислорода должно постоянно уравновешиваться их инактивацией антиоксидантной системой клеток.

Целью работы был обзор данных литературы по структурно-функциональным особенностям ферментов антиоксидантной системы в норме и в условиях окислительного стресса при физических нагрузках.

Супероксиддисмутаза (СОД – супероксид: супероксидоксидоре-дуктаза, КФ 1.15.1.1) – является ключевым ферментом, лимитирующим процессы превращения супероксидного радикала в другие активные формы кислорода, так как катализирует реакцию образования перекиси водорода и триплетного кислорода из суперокидного анион-радикала:

O2- + O2- + 2 H + H2O2 + O2 [7].

В отсутствии СОД идет, хотя и с более низкой скоростью (константа скорости =102 М-1с-1), спонтанная дисмутация супероксидного радикала с образованием перекиси водорода и токсичного синтглетного кислорода. Кроме того, супероксидные радикалы могут вступать во взаимодействие с перекисью водорода с высвобождением более реакционно-способных гидроксильных радикалов. Как известно, эти короткоживущие радикалы представляют еще большую опасность для жизнедеятельности клеток, чем сам супероксидный радикал. Поэтому, чем интенсивнее будет вовлекаться супероксидные радикалы в реакцию дисмутации, катализируемую СОД, тем меньше будет генерироваться этих опасных радикалов кислорода в клетках. Установлено, что ферментативная дисмутация супероксидных анион-радикалов идет с очень большой скоростью (константа скорости = 2,37 х 10^9 M^{-1} c^{-1}) в интервалах pH от 5,0 до 10,0, поэтому эффективность ферментативного обезвреживания супероксидных радикалов намного превышает способность других известных небелковых антиоксидантов. Супероксиддисмутазная активность была идентифицирована Фридовичем в 1969 году и к настоящему времени накоплено много новых фактов, указывающих на ключевую роль СОД для кислородпотребляющих организмов. Супероксиддисмутаза обнаружена практически во всех прокариотических и эукариотических клетках. Фермент всегда присутствует у аэробов, а также у факультативных анаэробов, имеются сообщения о наличие СОД у некоторых облигатных анаэробов.

В настоящее время известно семейство супероксиддисмутаз, все представители которого являются металлопротеинами, но различаются друг от друга особенностями структурной организации, металлом, входящим в состав активного центра, и местом локализации в клетках тканей: Cu,Zn-СОД, Mn-СОД и Fe-СОД. Медь-цинк-зависимая супероксиддисмутаза содержится в ядерном и цитозольном матриксе эукариотических клеток, а также в межмембранном пространстве митохондрий. Уровень Cu,Zn-СОД в цитозоле клеток эукариот достаточно высок – около 1% от пула растворимых белков. Cu,Zn-СОД является внутриклеточным ферментом и в межклеточных жидкостях (крови, лимфе и др.) разрушается в течение 5-10 мин. В межклеточном пространстве тканей и биологических жидкостях был обнаружен еще один вид СОД, который был назван – экстрацеллюларной (внеклеточной) СОД (Э-СОД). Внеклеточный фермент – это высокомолекурный (120 000 – 135 000 Да) секреторный белок, в состав активного центра которого входит Cu2 и Zn2+. Э-СОД является высокогликозилированным белком, поэтому она резистентна к денатурирующему действию органических растворителей, хорошо растворима в 80-95% этаноле, растворах сульфата аммония и др. В состав Э-СОД входят 4 идентичных субъединицы (мм около 30 000 Да), которые нековалентно связаны между собой. По своему строению и свойствам вне-клеточная СОД близка к цитозольной Cu,Zn-СОД, в частности, оба фермента сходны по строению и конформации активных центров, а также чувствительности к цианидам, перекиси водорода, азиду[8].

Каталаза (перекись водорода: перекись водорода – оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.6) является одним из компонентов мультиферментной антиоксидазной системы организма, которая защищает последний от токсичных метаболитов кис-

лорода. Характерной функцией каталазы является высокоэффективный катализ диспропорционирования молекул перекиси водорода с образованием воды и молекулярного кислорода (константа скорости реакции = 10^7 $M^{-1}c^{-1}$), причем каталазы из различных объектов (животные ткани, бактерии и др.) проявляют при разложении перекиси сходную каталитическую активность.

$$2H_2O_2 \longrightarrow O_2 + 2H_2O$$

Каталаза широко распространена и обнаружена во всех живых организмах, в которых происходят процессы клеточного дыхания с участием цитохромов. В органах и тканях высших животных и человека, высокая концентрация каталазы сосредоточена в печени и эритроцитах, также в мышцах, почках, легких и лейкоцитах, минимальное содержание фермента отмечено для нервной ткани и мозга. Наиболее высокая активность фермента отмечена в печени лошадей, баранов и морских свинок, а для человека этот показатель намного ниже. Сравнительное исследование активности каталазы эритроцитов показало, что максимальные ее значения характерны для обезьян, человека и морских свинок, а наименьшее – для собак. Каталаза является внутриклеточным ферментом (концентрация фермента составляет 10^{-6} М) и локализована, главным образом, в матриксе пероксисом, в митохондриях, а также некоторое ее количество присутствует на внутренних мембранах и в цитозоле[9]. К настоящему времени выполнено огромное число работ по выделению и очистки, а также изучению строения, физико-химическим свойствам, биологической роли и функциям различных каталаз. Для выделения каталазы из различных источников используются рутинные методы выделения белков и ферментов из биологического материала. Например, такие как дифференциальное высаливание, гель-распределительная и ионообменные хроматографии, электрофоретические методы и др. Кроме того, для выделения каталазы могут быть использованы методы аффинной лигандообменной металлохелатной хроматографии, а в последнее время также метод обращенных аэрозолиевых мицелл [10].

Каталаза является гемсодержащим ферментом, ее молекула состоит из четырех идентичных субъединиц, каждая из которых содержит в качестве простетической группы железопорфириновый комплекс. Каталаза – это высокомолекурный белок, молекулярные массы каталаз, выделенных из различных источников, составляют 220 000 – 270 000 Да, а ее отдельных субъединиц около 61 000 Да. Изучена аминокислотная последовательность различных каталаз, которые включают более 500 аминокислот. Рентгеноструктурные и электронномикроскопические исследования кристаллов фермента показали, что его молекула имеет сферическую форму незначительно сольватирована, степень спирализации нативного белка составляет около 50% и компактно упакована в тетрамолекулярную ячейку. Многочисленные исследования, посвященные изучению функциональных групп фермента, показали, что каталаза имеет «открытые» SH-, тирозиновые и гистидиновые группы. Порфирин в белковой глобуле находится в гидрофобном окружении. Считают, что пятой координационной связью геминное железо может быть связано с одной из карбоксилатных групп пропионовой кислоты гемина или с гуанидиновыми группами остатков аргинина апофермента, либо с атомами азота гистидина, а шестая – с водой [11].

Пероксидаза (перекись водорода – оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.7) – входит в состав мультиферментной антиоксидазной системы клеток. Основной функцией пероксидазы является защита клеток от токсичной перекиси водорода, образующейся в них в процессе различных ферментативных и неферментативных реакций. Пероксидаза катализирует окисление субстратов широкого ряда электрондонорных субстратов перекисью водорода:

$$E + H_2O_2 \quad [ES]$$
$$[ES] + AH_2 \quad E + P + 2H_2O,$$

где AH_2 – окисляемый субстрат, донор электронов и водорора; Р – продукты реакции, образующиеся в результате рекомбинации или диспропорционирования радикалов АН', промежуточных продуктов этой реакции. Пероксидаза является одним из широко распространенных белков в живых организмах (растительных и животных тканях, грибах и бактериях), что является свидетельством о жизненно важной необходимости его присутствия и в низших и высших организмах. Животные пероксидазы отличаются сложной четвертичной структурой, большими молекулярными массами, ковалентно связанным гемом и характеризуются более узкой субстратной специфичностью, что привело к выделению растительных пероксидаз в отдельную классификационную группу. В животных тканях пероксидаза присутствует в высоких концентрациях в различных секреторных железах, лейкоцитах, макрофагах, что, по-видимому, указывает на ее участие в защитных реакциях макроорганизма [12].

Глютатион пероксидаза (КФ 1.11.1.9) селенсодержащий фермент, восстанавливающий перекись водорода (H_2O_2) и другие органические перекиси (ROOH). Глутатионпероксидаза катализирует реакции, в которых восстановленный глутатион (GSH) восстанавливает перекиси до воды или гидроксипроизводного и в результате переходит в окисленную форму. Кроме того, фермент способен также восстанавливать и гидроперекиси липидов:

$$2\ GSH + H_2O_2 \quad GSSG + 2\ H_2O;\ 2\ GSH + ROOH \quad GSSG + ROH + H_2O$$

Глютатион пероксидаза широко распространена у большинства изученных организмов. Однако она отсутствует у растений, бактерий, простейших и насекомых, что способствует их высокой чувствительности к активным формам кислорода. По-видимому, в отличие от других ферментов обмена глутатиона, которые присутствуют уже у анаэробных бактерий, селенсодержащая глютатион пероксидаза, как эволюционно более молодой фермент, появилась только у позвоночных. В клетках млекопитающих, в основном, глютатион пероксидаза находится в растворимой форме, однако обнаружены изоформы фермента, связанные с плазматической мембраной и микросомами. Изучение выделенных препаратов глютатион пероксидазы из различных тканей рыб и млекопитающих, показало, что фермент является го-

мотетрамером с молекулярными массами от 74 до 105 кДа, соответственно, молекулярные массы его субъединиц были равны от 18 до 25 кДа. Установлена высокая степень гомологии по первичной структуре для ферментов, выделенных из различных источников[13]. За последние годы было показано, что ген глютатион пероксидазы локализован в хромосоме 3 и при выделении и секвенировании специфической мРНК и комплементарной ей к ДНК установлено наличие в генах фермента мышей и человека двух экзонов и одного интрона, которые содержат около 1733 нуклеотидов. Показано также, что Se абсолютно необходим для биосинтеза глютатион пероксидазы и в мРНК фермента селеноцистеин кодируется триплетом УГА, который в отсутствии селеноцистеинил-тРНК транслируется как терминирующий кодон. Эти данные были подтверждены при синтезе фермента в бесклеточной системе из печени крыс с использованием селеноцистеинил-тРНК. Уровень активности глютатион пероксидазы в тканях зависит от количества образующихся прооксидантов, кроме того индукция синтеза фермента может быть вызвана присутствием Se, ионами металлов и эстрагенами. Показано, что активность глютатион пероксидазы может меняться при различных патологических процессах, например, снижение уровня активности фермента наблюдают при ишемических повреждениях тканей, атеросклерозе, а повышение – при употреблении алкоголя, болезни Дауна и т.д. Недостаточность глютатион пероксидазы также может быть причиной некоторых заболеваний человека, таких как болезнь Кешана, мышечная дистрофия, патологические изменения внутренних органов и др.[14].

Понятие окислительного стресса включает в себя состояние физиологической системы, характеризующееся повышенным содержанием реактивных форм кислорода, которое может вызвать нарушение на молекулярном уровне жизненно важных структур и функций. Окислительные повреждения, включая перекисное окисление липидов, белков и нуклеиновых кислот, развиваются, когда активные формы кислорода превышают антиоксидантные способности организма [8-10].

Длительные и сверхинтенсивные физические упражнения способны индуцировать окислительный стресс. Margonis K. с соавт. изучал возможность применения маркеров окислительного стресса для ранней диагностики перетренированности, которая вызывала устойчивый лейкоцитоз, повышение перекисного окисления липидов (56%), белковых карбонилов (73%), каталазы (96%), глутатионпероксидазы и окисленного глутатиона (GSSG) (25%) и приводила к снижению восстановленного глутатиона (GSH) (31%), соотношения GSH/ GSSG (56%) и общей антиоксидантной активности [5]. В ходе изучения динамики маркеров окислительного стресса непосредственно в процессе выполнения скоростно-силового упражнения Hamdi Pepe с соавт. было установлено достоверное снижение активности супероксиддисмутазы (СОД) после бега на 800 м, активности каталазы и содержания продуктов ПОЛ – после бега на 1500 м [15]. Продолжительные тренировки на выносливость также способны негативно влиять на антиоксидантный статус спортсмена. Усиленные аэробные нагрузки связаны с окислительным стрессом и повреждением тканей [16]. Истощающие упражнения у тренированных юношей сразу после их выполнения повышали ПОЛ, общий антиоксидантный статус и активность каталазы, отмечался лейкоцитоз. В период срочного восстановления (30 мин после тренировки) определялись повышенный общий антиоксидантный статус и общий глутатион плазмы [17]. L. Sun с соавт. указывают, что упражнения на выносливость вызывают усталость по причине митохондриальной дисфункции. Упражнения на выносливость вызывают увеличение активности комплексов I, IV, V и повышение содержания GSH в митохондриях печени при неизменном содержании малонового диальдегида (МДА). Упражнения также вызывали повышение маркеров окислительного и митохондриального стресса в печени. Окислительный стресс может оказывать двоякий эффект: негативный, вызывая повреждение его структур, либо положительный, активируя защитные системы [18]. К подобным выводам приходят Wagner K.-H. с соавт. В противоположность большинству опубликованных данных о негативном воздействии сверхдлительных спортивных состязаний исследование данных авторов показывает, что, несмотря на временное повышение маркеров, никакого длительного оксидативного стресса либо повреждения ДНК не отмечается у тренированных спортсменов триатлона благодаря предварительному назначению антиоксидантов и общих защитных изменений в антиоксидантной системе [19]. По сведениям из других источников (McAnulty S.R. с соавт.), у спортсменов триатлона в результате выступлений отмечается значительное повышение маркеров окислительного стресса. Нарушение структуры ДНК является лишь самой глубокой стадией повреждения клетки и происходит не при любом эпизоде окислительного стресса, что не делает это состояние безопасным и безвредным [20].

Анализ научно-исследовательских статей позволяет сделать вывод, что в ходе подготовки высококвалифицированных спортсменов отмечено повышение содержания продуктов ПОЛ и снижение ферментов антиоксидантной защиты по мере перехода от периода базовой подготовки к специально подготовительному и соревновательному этапу, а также при возрастании доли нагрузок скоростно-силовой направленности. Исследование антиоксидантного статуса спортсменов и поиск эффективных мер их защиты от окислительного стресса в условиях тренировочного процесса представляет собой перспективное направление профилактики широкого спектра профессиональной спортивной патологии.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

34.00.00 Биология

34.01.05 Материалы, характеризующие биологию в целом и взаимосвязь ее с другими науками и областями деятельности

ЛИТЕРАТУРА

1. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Медицинская пресса, 2006. 400 с.

2. Зенков М.К., Меньщикова Е.Б., Шегин С.М. Окислительный стресс, диагностика, терапия, профилактика. Новосибирск, 1993. 181 с.

3. Скулачев В.П. Возможная роль АФК в защите от вирусных инфекций // Биохимия.-1998. Т. 63. N 12. С. 1691-1694.

4. Хокачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. М.: Мир, 1988. 568 с.

5. Effect of alpha-tocopherol supplementation on plasma homocysteine and oxidative stress in highly trained athletes before and after exhaustive exercise / S.R. McAnulty [et al.]. // The Journal of Nutritional Biochemistry. 2005. Vol. 16(9). P. 530–537. doi: 10.1016/j.jnutbio.2005.02.001.

6. Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: Implications for diagnosis / K. Margonis [et al.]. // Free Radical Biology and Medicine. 2007. Vol. 43(6). P. 901–910. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.05.022.

7. Sorting of Phaseolin to the vacuole is saturable and requires a shot C-terminal peptide / L. Frigerio []et al. // Plant Cell. 1998. Vol. 10(6). P.1031-1042. DOI:10.2307/3870688

8. Bannister J.V., Bannister W.H. The biology and Chemistry of active oxigen // Development in Biochemistry. V. 26. New York. 1984. P. 150-162.

9. Cohen G. Catalase, glutation peroxidase, superoxide dismutase and cytochrome P-450 // Handbook of neurochem. Second edition. 1983. Vol. 4. P. 315-33.

10. Еремин А.Н., Метелица Д.И. Сорбция СОД и каталазы из микроэмульсионных веществ в гептане // Прикл. биохим. и микробиол. 1997. Т. 33. N 5. С. 512-518.

11. Molecular genetics of superoxide dismutase in plants / J. Scandalios, ed., Oxidative stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. New-York. 1997. P. 527-568.

12. Метелица Д.Н. Активация кислорода ферментными системами. М.: Наука, 1982. 256 с.

13. Колесниченко Л.С., Кулинский В.М., Манторова Н.С., Шапиро Л.А. // Укр. биохим. журнал. 1990. Т.62. № 4. С. 60-65.

14. Flohe L. Free radical in biology / Flohe L. // Ed. Pryor W. A. New York: Acad, press. 1982. Vol.5. P.223.

15. Effect of antioxidant supplementation on urine and blood markers of oxidative stress during extended moderate-altitude training / J.M. Pfeiffer [et al.]. // Wilderness & Environmental Medicine. 1999 Vol. 10(2). P. 66–74. doi: 10.1580/1080-6032(1999)010[0066:eoasou]2.3.co;2.

16. Six weeks of aerobic dance exercise improves blood oxidative stress status and increases interleukin-2 in previously sedentary women / D. Leelarungrayub [et al.]. // Journal of Bodywork and Movement Therapies. 2011. Vol. 15(3). P. 355–362. doi: 10.1016/j.jbmt.2010.03.006.

17 Acute, food-induced moderate elevation of plasma uric acid protects against hyperoxiainduced oxidative stress and increase in arterial stiffness in healthy humans / J. Vukovic [et al.]. // Atherosclerosis. 2009. Vol. 207(1). P. 255–260 doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.04.012.

18. Blood reflects tissue oxidative stress depending on biomarker and tissue studied / A.S. Veskoukis [et al.] // Free Radical Biology and Medicine. 2009. Vol. 47(10). P. 1371–1374. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.014.

19. Well-trained, healthy triathletes experience no adverse health risks regarding oxidative stress and DNA damage by participating in an ultra-endurance event / K.-H. Wagner [et al.]. // Toxicology. 2010. Vol. 278(2). P. 211–216. doi: 10.1016/j.tox.2009.09.006.

20. Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress / J.M. Morillas-Ruiz [et al.]. // Clinical Nutrition. 2006. Vol. 25(3). P. 444–453. doi: 10.1016/j.clnu.2005.11.007.

SUMMARY

BIOCHEMICAL INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS DURING PHYSICAL EXERTION

Kolikova A.R., student. 3rd year, **Matsyuk S.K.**, student. 3rd year,
Melnikova Yu.D., student. 3 courses, **Moroz P.I**., student. 3 courses
Heads: **Kirillova N.V**., doctor. Biol. sciences, prof. (ORCID: 0000-0003-3379-0646),
Spasenkova O.M., Candidate of Medical Sciences, Associate Professor (ORCID: 0000-0002-2924-7651)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376 St. Petersburg, Prof. Popova, house 14. Russian Federation
E-mail: anastasiya.kolikova@spcpu.ru

There are analyzed data of scientific publications on the assessment of the state of oxidative stress during physical exertion in the review. The indicators of the system radical oxidation and antioxidant protection systems initiated by physical exertion of varying intensity are given. It has been revealed that physical exercise causes widespread changes in numerous cells, tissues and organs in response to increased metabolic demand.

Keywords: *oxidative stress, physical activity, antioxidant defense enzymes, pro-oxidants.*

REFERENCES

1. Dubinina E.E. Products of oxygen metabolism in the functional activity of cells. Physiological and clinical-biochemical aspects. St. Petersburg: Medical Press, 2006. 400 p. (in Russian)

2. Zenkov M.K., Menshikova E.B., Shegin S.M. Oxidative stress, diagnostics, therapy, revention. Novosibirsk, 1993. 181 p. (in Russian)

3. Skulachev V.P. The possible role of ROS in protection from viral infections // Biochemistry. 1998. Vol. 63(12). P. 1691-1694. (in Russian)

4. Hokachka P., Somero J. Biochemical adaptation. Moscow: Mir. 1988. 568 p. (in Russian)

5 Effect of alpha-tocopherol supplementation on plasma homocysteine and oxidative stress in highly trained athletes before and after exhaustive exercise / S.R. McAnulty [et al.]. // The Journal of Nutritional Biochemistry. 2005. Vol. 16(9). P. 530–537. doi: 10.1016/j.jnutbio.2005.02.001.

6. Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: Implications for diagnosis / K. Margonis [et al.] // Free Radical Biology and Medicine. 2007. Vol. 43(6). P. 901–910. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.05.022.

7. Sorting of Phaseolin to the vacuole is saturable and requires a shot C-terminal peptide / L. Frigerio []et al. // Plant Cell. 1998. Vol. 10(6). P.1031-1042. DOI:10.2307/3870688

8. Bannister J.V., Bannister W.H. The biology and Chemistry of active oxigen // Development in Biochemistry. V. 26. New York. 1984. P. 150-162.

9. Cohen G. Catalase, glutation peroxidase, superoxide dismutase and cytochrome P-450 // Handbook of neurochem. Second edition. 1983. Vol. 4. P. 315-33.

10. Eremin A.N., Metelitsa D.I. Sorption of SOD and catalase from microemulsion substances in heptane // Prikl. biochim. and microbiol. 1997. Vol. 33(5). P. 512-518. (in Russian)

11. Scandalios J.G. [Ed.] Molecular genetics of superoxide dismutase in plants / J. Scandalios, ed., Oxidative stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. New-York, 1997. P. 527-568.

12. Metelitsa D.N. Activation of oxygen by enzyme systems. M.: Nauka. 1982. 256 p. (in Russian)

13. Kolesnichenko L.S., Kulinsky V.M., Mantorova N.S., Shapiro L.A. // Ukr. biochem. journal. 1990. Vol.62. No. 4. pp. 60-65.

14. Flohe L. Free radical in biology / Flohe L. // Ed. Pryor W. A. New York: Acad, press, 1982. Vol.5. P.223.

15. Effect of antioxidant supplementation on urine and blood markers of oxidative stress during extended moderate-altitude training / J.M. Pfeiffer [et al.]. // Wilderness & Environmental Medicine. 1999 Vol. 10(2). P. 66–74. doi: 10.1580/1080-6032(1999)010[0066:eoasou]2.3.co;2.

16. Six weeks of aerobic dance exercise improves blood oxidative stress status and increases interleukin-2 in previously sedentary women / D. Leelarungrayub [et al.]. // Journal of Bodywork and Movement Therapies. 2011. Vol. 15(3). P. 355–362. doi: 10.1016/j.jbmt.2010.03.006.

17 Acute, food-induced moderate elevation of plasma uric acid protects against hyperoxiainduced oxidative stress and increase in arterial stiffness in healthy humans / J. Vukovic [et al.]. // Atherosclerosis. 2009. Vol. 207(1). P. 255–260 doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.04.012.

18. Blood reflects tissue oxidative stress depending on biomarker and tissue studied / A.S. Veskoukis [et al.] // Free Radical Biology and Medicine. 2009. Vol. 47(10). P. 1371–1374. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.014.

19. Well-trained, healthy triathletes experience no adverse health risks regarding oxidative stress and DNA damage by participating in an ultra-endurance event / K.-H. Wagner [et al.] // Toxicology. 2010. Vol. 278(2). P. 211–216. doi: 10.1016/j.tox.2009.09.006.

20. Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress / J.M. Morillas-Ruiz [et al.] // Clinical Nutrition. 2006. Vol. 25(3). P. 444–453. doi: 10.1016/j.clnu.2005.11.007.

ОБЗОР СПЕКТРА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ И ПЕРСПЕКТИВ ПРИМЕНЕНИЯ В ФАРМАКОЛОГИИ РАСТЕНИЙ GARDENIA JASMINOIDES AND SCHISANDRA CHINENSIS

Комарова А.В., студ. 2 курса
Руководитель: **Орехова И.А.**, канд. биол. наук, доц.
(ResearcherID: I-5507-2018; ORCCID ID 0000-0003-4078-7023)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anna.komarova@spcpu.ru

В ходе работы были изучены данные, характеризующие потенциал применения веществ, полученных из различных частей растений, а также культуры тканей *Gardenia jasminoides* и *Schisandra chinensis*. Проведен анализ литературы о наличии различных биологически активных веществ (БАВ) в данных растениях, а также о перспективах их применения в производстве лекарственных средств.

Ключевые слова: *Лимонник китайский Schisandra chinensis, Гардения жасминовидная Gardenia jasminoides, вторичные метаболиты, противоопухолевая активность, фармакологические свойства.*

Целью данной работы является сбор и анализ литературных данных о продуктах вторичного метаболизма растений *Schisandra chinensis и Gardenia jasminoides*. Объектами выбраны *лимонник китайский и гардения жасминовидная,* продуцирующие вещества, которые обеспечивают адаптогенное воздействие на организм человека. Актуальность изучения,

обнаружения перспективных источников, выделения, получения готовых лекарственных средств, обладающих такими свойствами, в настоящее время возрастает в связи с непрекращающимся техногенным воздействием, распространением различных инфекций, высокой информационной нагрузки на организм человека. В этих условиях необходимость обнаружения и изучения веществ, способствующие нормализации тонуса, улучшению гармоничной работы систем организма, представляют значительный интерес. В данном направлении ведутся многочисленные исследования состава, биологической активности и безопасности веществ получаемых из лекарственных растений. Кроме того, объекты данного исследования были выбраны с целью оценки целесообразности получения каллусных культур *Schisandra chinensis, Gardenia jasminoides.* Как известно, введение растений в культуру используется для стандартизации процесса выращивания в оптимальных заданных условиях, получения продуктов первичного и вторичного метаболизма вне зависимости от природных воздействий.

Гардения жасминовидная – вечнозеленый колючий кустарник, рода Gardenia семейства Rubiaceae, которое обладает широким спектром биологически активных веществ. Из гардении были изолированы следующие классы веществ: иридоиды (генипозид, гарденозид, генипин и его производные, шанжизид) глюкозидов, флавоноиды (кверцетин, рутин, D-маннол), органические кислоты, шафрановые глюкозиды, монотерпены, тритерпеноиды, которые являются основными веществами растения.[1]

В настоящее время из всего перечня биологически активных веществ G.Jasminoides обуславливают биологическую активность экстрактов и представляют наибольший интерес иридоиды (генипозид и генипин), а также флавоноиды и таннин.

Стоит отметить, что при различных видах экстракции состав полученных веществ практически не меняется, однако в экстракте с этанолом был обнаружен наибольший спектр веществ: сапонин, таннин, флавоноиды, алкалоиды, гликозиды, фенолы. Наибольшее и сравнительно равное содержание в экстрактах имеют алкалоиды и флавоноиды, фенолов меньше приблизительно на треть, а таннинов – в полтора раза.[2]

В то же время, отмечено, что растворимость в воде была выше нежели растворимость в этаноле, а значит количественный выход лучше именно в водных экстрактах. [2]

Всего насчитывается 20 различных вторичных метаболитов, изученных на данный момент достаточно хорошо. [3] В их состав входят: генипозид (самое характерное для гардении вещество и доминирующие по количеству) и его производные и изомеры, хлорогеновая кислота и ее производные и изомеры, кофейная кислота, шанжизид, а также кроцин и его изомеры (желтый краситель, ранее получаемый только из шафрана)[4].

Основные полифенольные составляющие, как флавоноиды, сапонин, таннин способствуют антимикробной активности к патогенными микроорганизмам, обнаруживаемым в ранах, что дает потенциал использования экстрактов как заживляющих средств.

Таннин-содержащие средства используются в качестве антигельминтных, антиоксидантных, противовирусных и антимикробных агентов.[2]

Важными вторичными метаболитами *Gardenia jasminoides* являются иридоидные глюкозиды. Среди них самым характерным является генипозид – биологически-активное вещество, обладающее противовоспалительной[5], антиоксидантной[6], нейропротекторной, антидиабетической, противоопухолевой[7] гепатопротекторной и желчегонной активностью.

Однако, в последние годы было достаточное количество свидетельств о гепатотоксичности и нефротоксичности генипозида[8], что может сократить область применения потенциальных лекарств.

Кроме генипозида рассматривают генипин (образуется при гидролизе генипозида и гарденозида β-глюкозидазой), который относят к производным генипозида. [9]Является характерным для гардении веществом, это предшественник голубого натурального красителя. В промышленных масштабах генипин как правило выделяют в ходе микробного синтеза, используя *Penicillum nigrans.*

Отмечается, что генипин может проявлять угнетающие тирозиназу свойства, а также является антиоксидантом. Исследования в области токсичности генипина не проводились, предполагают, так же как у генипозида, нефротоксическое и гепатотоксическое воздействия, есть вероятность кардиотоксичности.

Гепатопротекторные свойства у-генипозида позволяют рассматривать его как потенциальный компонент или полноценное лекарственное средство для лечения заболеваний печени. При экспериментах in vivo, было обнаружено, что после воздействия четыреххлористым метаном на мышей и множественных изменений в работе их печени и в ферментном регулировании, пероральное лечение генипозидом в количестве 400 мг/кг значительно улучшило состояние.[10]

В целом, касательно гепатопротекторных свойств данные спорные – последние исследования заявляют о потенциальном токсическом воздействии генипозида на печень и кровь. В данной области требуются дополнительные исследования.

Противовоспалительные свойства генипозида не опровергаются, более того, он показал свою эффективность в экспериментах in vivo при воспалении молочных желез у мышей.[11]

Кроме того, генипозид показал хорошие протекторные свойства при острых повреждениях легких, останавливая паталогические изменения в легочных тканях, включая изменения в альвеолярных стенках, альвеолярную геморрагию. Также снизил воспалительные клетки и общую концентрацию белка в бронхоальвеолярном лаваже . [12]

Нейропротекторное свойство заметно при использовании в качестве средства терапии при болезни Альцгеймера[13]. Генипозид предотвращает митохондриальные изменения в клетках и синаптические повреждения в культуре клеток нейронов гиппокампа. Причем препарат в данном случае и на данный момент имеет потенциал скорее для предотвращения болезни, нежели для ее лечения.

Генипин и генипозид играют роль в угнетении различный стадий опухолевого процесса, на данный момент обсуждается потенциальное применение в лечении различных видов рака. [14]

Подводя итоги, можно сделать вывод, что несмотря на успешное выделения большого спектра вторичных метаболитов из гардении (преимущественно используются плоды гардении, рассматривается перспектива введения в культуру как более надежного способа получения биологически-активных веществ), исследования в области их применения к различным заболеваниям все еще активно ведутся и знания о различных воздействиях метаболитов на процессы организма неполноценны. Для практического применения требуется множество дополнительных исследований как по уже изученным лекарственным свойствам вторичных метаболитов, так и по их токсическому воздействию. Исследования начались совсем недавно, являются противоречивыми и требуют дополнительного изучения как на практике, так и в теории.

Лимонник китайский – вид цветковых растений рода Schisandra семейства Schisandreaceae. Обладает широким перечнем хорошо изученных биологически активных веществ, содержащихся как в различных частях растения, так и в культурах дедифференцированных клеток. Считается растением-адаптогеном, а также обладает рядом других свойств.

Лимонник китайский, несмотря на его широкое применение в народной китайской медицине, впервые был упомянут в качестве растения-адаптогена в СССР в 1960-х годах, в связи с чем в России исследования лимонника хорошо укоренились и углубились.

Фармакологические свойства лимонника китайского изучены, также как и методы выделения отдельных веществ из его тканей. Лимонник имеет противовоспалительные, нейростимулирующие и нейропротекторные[15], иммуномодулирующие, респираторнозащитные, гастропротекторные свойства.

Веществами, обеспечивающими биологическую активность лимонника, являются лигнаны. Их делят на четыре класса, согласно их строению и составу [13]. Наиболее биологически активными и изученными являются лигнаны дибензоциклооктадиена, в научной литературе они называются «лигнаны Schisandra chinensis». [17]

В самом большом количестве в лимоннике содержится шизандрин и его производные. В зависимости от состава, они имеют различные свойства, но как правило проявляют антиоксидантные и нейропротекторные.

Основные лигнанами лимонника китайского определенные ВЭЖХ с детекцией в УФ-свете являются: гомизин А (гепатопротекторный эффект[18], противовирусный эффект от ВИЧ и ВПЧ, противовоспалительный), гомизин В, гомизин J, шизандрин, шизандрин С, шизандрин В, γ-шизандрин (все шизандрины проявляют противоопухолевый эффект, а гамма-шизандрин – противовоспалительный эффект [19,20]

В целом лигнаны дибензоциклооктадиена – могут проявлять противоязвенную активность[21].

Основываясь на терапевтических свойства лигнанов их объединили в четыре большие группы: адаптогенное действие, гепатопротекторное действие, гепатостабилизирующее действие и гепаторегенерирующее действие.

Первая группа – лигнаны, имеющие адаптогенные свойства – являются нейростимулирующими, иммуностимулирующими и антиоксидантными свойствами. [22] Также, лигнаны этой группы демонстрируют способность подавлять развитие атеросклероза.

Вторая группа – лигнаны, имеющие гепатопротекторные свойства – эти свойства тесно связаны с ростом содержания аскорбиновой кислоты на печеночном уровне, подавление окисления НАДФН*Н. Также сообщалось, что протекторные лигнаны могут защищать от холестаза, вызванного токсическими веществами.

Третья группа – лигнаны, имеющие стабилизирующие свойства – способствуют транскрипции мРНК в гепатоцитах, стимулируют их пролиферацию и повышают приток крови к печени.

Четвертая группа – гепаторегенерирующие лигнаны – способны повышать уровни митохондриального глутатиона печени и активность метохондриальной редуктазы [23]

Экспериментально подтверждены гепатопротекторные и детоксифицирующие свойства лигнанов для печеночной паренхимы. Кроме того, лигнаны лимонника китайского демонстрируют иммуностимулирующие, противовирусные и адаптогенные свойства (однако достоверных сведений о эффективности адаптогенов нет)[24].

Экстракт Лимонника китайского активно используется в терапии, а в исследованиях на животных показал увеличение резистентности лабораторных животных к разным формам стресса (статическая и динамическая физическая нагрузка, тепловой стресс, повышенное кислородное и пониженное атмосферное давление)[25]

При сравнении гомизина А, N, шизандрина и шизандрина С, наибольшую способность к подавлению пролиферации клеток карциномы печени продемонстрировал гомизин N при концентрациях действующего вещества от 80 до 320 μМ. Шизандрин также подавлял деление клеток при достаточной концентрации, однако скорость смерти клеток была ниже нежели у гомизина N. Таким образом, гомизин N является одним из лигнанов с наибольшим потенциалом к противоопухолевому действию, с высокими показателями как для стимулиции апоптоза, так и для подавления пролиферации клеток карциномы печени. [23]

Еще одним более современным кандидатом в области противораковой терапии является гомизин J, подавляющий раковые клетки довольно широкого спектра разновидностей, что делает его одним из наиболее перспективных лигнанов для изучения. На данный момент действие гомизина J имело сильный цитотоксический эффект на всех 13 различных протестированных образцах раковых клеток, что свидетельствует о его широком спектре действий. [19]

Шизандрин А и шизандрин В проявляют сильные антиоксидантные свойства, что в свою очередь дает им способность быть нейропротекторами при синдроме ишемии-реперфузии, путем усиления церебральных митохондриальных антиоксидативных эффектов. [15]

Подводя итоги, можно сказать, что несмотря на активные исследования ранних лет в области применения лимонника китайского в качестве адаптогена и нейростимулятора, современные исследования демонстрируют высокую противоопухолевую активность многих его соединений, что обуславливает перспективность исследований в этой области. На данный момент используются как культуры тканей лимонника, так и его плоды и другие части растения, однако культурам дедифференцированных

клеток отдается все большее предпочтение благодаря их стабильности. Лимонник китайский – хорошо изученное растения, известны его биологически активные вещества, основная область их действия. В связи с этим на данный момент требуются исследования в области применения упомянутых соединений in vivo и разработку вариантов их практического применения.

В заключение можно сказать, что растения G.Jasminoides и S.Chinensis имеют различную степень изученности в плане применения как растений-продуцентов биологически активных веществ с адаптогенными свойствами. Введение же данных растений в культуру даст широкие возможности для изучения этих свойств, на ряду с другими (противоопухолевыми, противовоспалительными и другими), а также позволит стандартизировать процесс получения продуцируемых веществ, сделать его независимым от погодных условий и времени года, более экономным и менее энергозатратным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yin F., Liu J. Research and application progress of Gardenia jasminoides // Chinese Herbal Medicines. 2018. Vol. 10(4). DOI:10.1016/j.chmed.2018.09.001

2. Ellis J., Arul A., Nayagam J. Microscopic, Physicochemical and Phytochemical Analysis of Gardenia // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2018. Vol. 10(1). P. 97. DOI:10.22159/ijpps.2018v10i1.21665

3. Chemical constituents from flowers of wild Gardenia jasminoides ellis / Hu Zhang [et al.] // International Journal of Laboratory Hematology. 2016. Vol. 38(1). P. 42–49.

4. Comparative analysis of sixteen active compounds and antioxidant and anti- in fl uenza properties of Gardenia jasminoides fruits at di ff erent times and application to the determination of the appropriate harvest period with hierarchical cluster analysis / M. Shan [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. 2019. Vol. 233. P. 169–178. doi: 10.1016/j.jep.2019.01.004.

5. Anti-inflammatory evaluation of gardenia extract , geniposide and genipin / H. Koo [et al.] // J Ethnopharmacol. 2006. Vol. 103(3). P. 496–500. doi: 10.1016/j.jep.2005.08.011.

6. Geniposide, a novel agonist for GLP-1 receptor , prevents PC12 cells from oxidative damage via MAP kinase pathway / J. Liu [et al.] // Neurochem Int. 2007. Vol. 51(6-7). P. 361–369. doi: 10.1016/j.neuint.2007.04.021.

7. A Review on the Phytochemistry, Pharmacology, Pharmacokinetics and Toxicology of Geniposide, a Natural Product. / M. Shan [et al.]/ // Molecules. Vol. 22(10). P. 1–29. doi: 10.3390/molecules22101689.

8. Taylor P. Natural Product Research : Formerly Natural Product Letters Potential hepatotoxicity of geniposide , the major iridoid glycoside in dried ripe fruits of Gardenia jasminoides. 2012. P. 37–41.

9. Brys M., Urbanska K. Novel Findings regarding the Bioactivity of the Natural Blue Pigment Genipin in Human Diseases // Int J Mol Sci. 2022. Vol. 23(2). P. 1–14. doi: 10.3390/ijms23020902.

10. Comparative evaluation of hepatoprotective activities of geniposide, crocins and crocetin by CCl4-induced liver injury in mice / P. Chen [et al.] // Biomolecules and Therapeutics. 2016. Vol. 24(2). P. 156–162. doi: 10.4062/biomolther.2015.094

11. Geniposide inhibited lipopolysaccharide-induced apoptosis by modulating TLR4 and apoptosis-related factors in mouse mammary glands / X. Song [et al.] // Life Sciences. 2014. Vol. 119(1–2). P. 9–17. doi: 10.1016/j.lfs.2014.10.006.

12. Geniposide , an Iridoid Glucoside Derived from Gardenia jasminoides , Protects against Lipopoly- saccharide-Induced Acute Lung Injury in Mice / Y. Xiaofeng [et al.] // Planta Med. 2012. Vol. 78(6). P. 557–564. doi: 10.1055/s-0031-1298212.

13. Geniposide alleviates amyloid-induced synaptic injury by protecting axonal mitochondrial trafficking / H. Zhang [et al.] // Frontiers in Cellular Neuroscience. 2017. Vol. 10. P. 1–13. https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00309

14. Medicinal supplement genipin induces p53 and Bax-dependent apoptosis in colon cancer cells / J. Ye [et al.] // Oncology Letters. 2018. Vol. 16(3). P. 2957–2964. doi: 10.3892/ol.2018.9025

15. Zhang M. Schisandra chinensis Fructus and Its Active Ingredients as Promising Resources for the Treatment of Neurological Diseases // Int J Mol Sci. 2018. Vol. 19(7). doi: 10.3390/ijms19071970

16. Lu Y., Chen D. Analysis of Schisandra chinensis and Schisandra sphenanthera. 2009. Vol. 1216(11). P. 1980–1990. doi: 10.1016/j.chroma.2008.09.070.

17. Szopa A. Phytochemical studies and biological activity of three Chinese Schisandra species (Schisandra sphenanthera , Schisandra henryi and Schisandra rubri fl ora): current fi ndings and future applications. 2019. Vol. 18. P. 109–128.

18. Improvement of phase I drug metabolism with Schisandra chinensis against CCl4 hepatotoxicity in a rat model / M. Zhu [et al.] // Planta Medica. 2000. Vol. 66(6). P. 521–525. DOI:10.1055/s-2000-11202

19. Anticancer activity of gomisin J from Schisandra chinensis fruit. / S. Jung [et al.] // Oncology Reports. 2019. P. 711–717. https://doi.org/10.3892/or.2018.6850

20. Molecular mechanisms of antiproliferative effects induced by Schisandra-derived dibenzocyclooctadiene lignans (+)-deoxyschisandrin and (-)-gomisin N in human tumour cell lines / E. Casarin [et al.] // Fitoterapia. 2014. Vol. 98. P. 241–247. doi: 10.1016/j.fitote.2014.08.001.

21. Hernandez D.E., Hancke J.L., Wikman G. Evaluation of the anti-ulcer and antisecretory activity of extracts of aralia elata root and schizandra chinensis fruit in the rat // Journal of Ethnopharmacology. 1988. Vol. 23(1). P. 109–114. DOI: 10.1016/0378-8741(88)90120-1

22. In vivo antioxidant action of a lignan-enriched extract of Schisandra fruit and an anthraquinone-containing extract of Polygonum root in comparison with schisandrin B and emodin / P.Y. Chiu [et al.] // Planta Medica. 2002. Vol. 68(11). P. 951–956. doi: 10.1055/s-2002-35661.

23. Gomisin N isolated from Schisandra chinensis significantly induces anti-proliferative and pro-apoptotic effects in hepatic carcinoma / Su Youn YiM [et al.] // Molecular Medicine reports. 2008. Vol. 1(17). P. 667–671.

24. European Medicines Agency. Reflection paper on the adaptogenic concept // European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use. 2008. P. 6.

25. Panossian A., Wikman G. Pharmacology of Schisandra chinensis Bail .: An overview of Russian research and uses in medicine // J Ethnopharmacol. 2008. Vol. 118(2). P. 183–212. doi: 10.1016/j.jep.2008.04.020.

SUMMARY

Komarova A.V., 2nd year student
Academic advise: **Orekhova I.A.**, candidate of biological sciences, docent
(ResearcherID: I-5507-2018; ORCCID ID 0000-0003-4078-7023)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: anna.komarova@spcpu.ru

Research of data characterizing the usage potential of substances, isolated from different parts of plant and as cell cultures of Gardenia jasminoides and Schisandra chinensis was carried out The analysis overlooked the presence biologically active substances in these plants as well as their potential in further development of medical substances.

Keywords: *Schisandra chinensis, Gardenia jasminoides, secondary metabolites, anti-tumor activity., pharmacological properties.*

REFERENCES

1. Yin F., Liu J. Research and application progress of Gardenia jasminoides // Chinese Herbal Medicines. 2018. Vol. 10(4). DOI:10.1016/j.chmed.2018.09.0012.

2. Ellis J., Arul A., Nayagam J. Microscopic , Physicochemical and Phytochemical Analysis of Gardenia // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2018. Vol. 10(1). P. 97. DOI:10.22159/ijpps.2018v10i1.21665

3. Chemical constituents from flowers of wild Gardenia jasminoides ellis / Hu Zhang [et al.] // International Journal of Laboratory Hematology. 2016. Vol. 38(1). P. 42–49.

4. Comparative analysis of sixteen active compounds and antioxidant and anti- in fl uenza properties of Gardenia jasminoides fruits at di ff erent times and application to the determination of the appropriate harvest period with hierarchical cluster analysis / M. Shan [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. 2019. Vol. 233. P. 169–178. doi: 10.1016/j.jep.2019.01.004.

5. Anti-inflammatory evaluation of gardenia extract , geniposide and genipin / H. Koo [et al.] // J Ethnopharmacol. 2006. Vol. 103(3). P. 496–500. doi: 10.1016/j.jep.2005.08.011.

6. Geniposide , a novel agonist for GLP-1 receptor , prevents PC12 cells from oxidative damage via MAP kinase pathway / J. Liu [et al.] // Neurochem Int. 2007. Vol. 51(6-7). P. 361–369. doi: 10.1016/j.neuint.2007.04.021.

7. A Review on the Phytochemistry, Pharmacology, Pharmacokinetics and Toxicology of Geniposide, a Natural Product. / M. Shan [et al.]/ // Molecules Vol. 22(10). P. 1–29. doi: 10.3390/molecules22101689

8. Taylor P. Natural Product Research : Formerly Natural Product Letters Potential hepatotoxicity of geniposide , the major iridoid glycoside in dried ripe fruits of Gardenia jasminoides. 2012. P. 37–41.

9. Brys M., Urbanska K. Novel Findings regarding the Bioactivity of the Natural Blue Pigment Genipin in Human Diseases // Int J Mol Sci. 2022. Vol. 23(2). P. 1–14. doi: 10.3390/ijms23020902.

10. Comparative evaluation of hepatoprotective activities of geniposide, crocins and crocetin by CCl4-induced liver injury in mice / P. Chen [et al.] // Biomolecules and Therapeutics. 2016. Vol. 24(2). P. 156–162. doi: 10.4062/biomolther.2015.094

11. Geniposide inhibited lipopolysaccharide-induced apoptosis by modulating TLR4 and apoptosis-related factors in mouse mammary glands / X. Song [et al.] // Life Sciences. 2014. Vol. 119(1–2). P. 9–17. doi: 10.1016/j.lfs.2014.10.006.

12. Geniposide , an Iridoid Glucoside Derived from Gardenia jasminoides , Protects against Lipopoly- saccharide-Induced Acute Lung Injury in Mice / Y. Xiaofeng [et al.] // Planta Med. 2012. Vol. 78(6). P. 557–564. doi: 10.1055/s-0031-1298212.

13. Geniposide alleviates amyloid-induced synaptic injury by protecting axonal mitochondrial trafficking / H. Zhang [et al.] // Frontiers in Cellular Neuroscience. 2017. Vol. 10. P. 1–13. https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00309

14. Medicinal supplement genipin induces p53 and Bax-dependent apoptosis in colon cancer cells / J. Ye [et al.] // Oncology Letters. 2018. Vol. 16(3). P. 2957–2964. doi: 10.3892/ol.2018.9025

15. Zhang M. Schisandra chinensis Fructus and Its Active Ingredients as Promising Resources for the Treatment of Neurological Diseases // Int J Mol Sci. 2018. Vol. 19(7). doi: 10.3390/ijms19071970.

16. Lu Y., Chen D. Analysis of Schisandra chinensis and Schisandra sphenanthera. 2009. Vol. 1216(11). P. 1980–1990. doi: 10.1016/j.chroma.2008.09.070.

17. Szopa A. Phytochemical studies and biological activity of three Chinese Schisandra species (Schisandra sphenanthera , Schisandra henryi and Schisandra rubri fl ora): current fi ndings and future applications. 2019. Vol. 18. P. 109–128.

18. Improvement of phase I drug metabolism with Schisandra chinensis against CCl4 hepatotoxicity in a rat model / M. Zhu [et al.] // Planta Medica. 2000. Vol. 66(6). P. 521–525. DOI:10.1055/s-2000-11202

19. Anticancer activity of gomisin J from Schisandra chinensis fruit. / S. Jung [et al.] // Oncology Reports. 2019. P. 711–717. https://doi.org/10.3892/or.2018.6850

20. Molecular mechanisms of antiproliferative effects induced by Schisandra-derived dibenzocyclooctadiene lignans (+)-deoxyschisandrin and (-)-gomisin N in human tumour cell lines / E. Casarin [et al.] // Fitoterapia. 2014. Vol. 98. P. 241–247. doi: 10.1016/j.fitote.2014.08.001.

21. Hernandez D.E., Hancke J.L., Wikman G. Evaluation of the anti-ulcer and antisecretory activity of extracts of aralia elata root and schizandra chinensis fruit in the rat // Journal of Ethnopharmacology. 1988. Vol. 23(1). P. 109–114. DOI: 10.1016/0378-8741(88)90120-1

22. In vivo antioxidant action of a lignan-enriched extract of Schisandra fruit and an anthraquinone-containing extract of Polygonum root in comparison with schisandrin B and emodin / P.Y. Chiu [et al.] // Planta Medica. 2002. Vol. 68(11). P. 951–956. doi: 10.1055/s-2002-35661.

23. Gomisin N isolated from Schisandra chinensis significantly induces anti-proliferative and pro-apoptotic effects in hepatic carcinoma / Su Youn YiM [et al.] // Molecular Medicine reports. 2008. Vol. 1(17). P. 667–671.

24. European Medicines Agency. Reflection paper on the adaptogenic concept // European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use. 2008. P. 6.

25. Panossian A., Wikman G. Pharmacology of Schisandra chinensis Bail .: An overview of Russian research and uses in medicine // J Ethnopharmacol. 2008. Vol. 118(2). P. 183–212. doi: 10.1016/j.jep.2008.04.020.

УДК 61:616-092.9

ВЛИЯНИЕ ПОДАВЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ КАЛЬПАИНОВ НА КОГНИТИВНЫЕ СПОСОБНОСТИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ИНТОКСИКАЦИИ ХЛОРИДОМ МАРГАНЦА

Кудринская В.М., студ. 4 курса
Руководитель: [2]**Ивлева И.С.**, м.н.с., [1]**Арсениев Н.А.**, к.б.н., доц.
[1]Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф.Попова, д.14, Российская Федерация
[2]Институт экспериментальной медицины
197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д.12, Российская Федерация
E-mail: v.kudrinskaja2011@yandex.ru

Одной из причин развития марганцевой энцефалопатии может быть активация кальпаинов, кальций-зависимых протеаз. В работе дана оценка сохранности когнитивных функций у крыс с выраженной марганцевой интоксикацией в условиях подавления активности кальпаинов. Было установлено, что подавление активности кальпаинов не приводит к сохранности пространственной памяти и не предотвращает накопление марганца в клетках ЦНС у лабораторных животных.

Ключевые слова: *марганец, марганцовая энцефалопатия, кальпаины, кальпастатин, нейровоспаление, когнитивные функции.*

Марганец (Mn) является 12-м элементом по распространенности в земной коре, также он содержится в воде и продуктах питания. Mn необходим для нормального функционирования организма млекопитающих. Суточная потребность металла составляет 1,8 – 2,3 мг для здорового взрослого человека. К продуктам с высоким содержанием Mn относятся: цельнозерновые продукты, рис, орехи, морепродукты, шоколад, фрукты, листовые зеленые овощи и специи [1].

Mn относится к металлам с переменной валентностью, причем Mn^{2+} и Mn^{3+} являются наиболее распространенными в тканях млекопитающих. Mn участвует во многих биохимических процессах, например, в метаболизме аминокислот, липидов, белков, углеводов, синтезе и обмене нейромедиаторов, синтезе инсулина и меланина [1]. Входит в состав нескольких ферментов: аргиназа, ацетил-СоА карбоксилаза, фосфоенолпируватдекарбоксилаза, пируваткарбоксилаза, супероксиддисмутаза, глутаминсинтетаза и гликозилтрансфераза [2].

Поступление в организм Mn в концентрациях, превышающих допустимые уровни, приводит к развитию марганцевой энцефалопатии. Чрезмерное накопление Mn чаще всего происходит при вдыхании большого количества взвешенных в воздухе частиц металла или его соединений, а также после потребления питьевой воды с повышенным содержанием Mn. К наиболее подверженным избыточному накоплению Mn относятся люди, занимающиеся сваркой, добычей и переработкой полезных ископаемых, содержащих соединения металла. Марганцевая энцефалопатия имеет фенотипические особенности, аналогичные идиопатической Болезни Паркинсона, такие как тремор, когнитивный дефицит, брадикинезия и ригидность. Однако при марганцевой энцефалопатии не наблюдается образование телец Леви [4].

Вдыхаемый Mn поступает в систему кровообращения через слизистую оболочку носа и может пересекать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) несколькими путями, включая облегченную диффузию и активный транспорт из обонятельной луковицы в кору головного мозга. Mn накапливается в базальных ганглиях: хвостатое ядро, бледный шар, черная субстанция, субталамическое ядро [3].

Попадая в клетки головного мозга с помощью различных транспортеров, например, через ДМТ-1 или в связанной с трансферрином форме через трансферриновый рецептор, Mn накапливается в митохондриях нейронов и астроцитов, где он ингибирует окислительное фосфорилирование, увеличивает количество кальция в матриксе, что в конечном итоге приводит к увеличению активных форм кислорода (АФК). Было показано, что Mn вызывает стресс эндоплазматического ретикулума, который связан с высвобождением кальция в цитозоль, что, в свою очередь, может вызвать апоптоз по каспаза-опосредованному пути.

Высокие дозы Mn приводят к активации глиальных клеток, вызывая высвобождение из них АФК и медиаторов воспаления (оксида азота (NO), цитокинов, простагландинов). Также было показано, что Mn влияет на дофаминергическую, ГАМКергическую, глутаматергическую и холинергическую системы. В частности, угнетение действия ацетилхолина, который модулирует основные когнитивные функции, такие как обучение, память и передвижение, связано с интоксикацией марганцем [5].

Выбор лечения в настоящее время ограничен препаратами леводопы и хелатированием с помощью EDTA. Леводопа проникает в ЦНС, где подвергается декарбоксилированию, превращается в дофамин, облегчая тем самым проявления моторных симптомов. Однако ее терапевтический эффект ограничен и неустойчив. В результате хелатирования Mn с помощью EDTA удается снизить уровень Mn в крови, однако неврологическая симптоматика почти не изменяется. Поскольку EDTA является неспецифическим хелатором двухвалентных ионов, имеются ограничения применения препарата и возможны развития серьезных побочных эффектов.

По этой причине необходим поиск новых мишеней для эффективного фармакологического воздействия с целью подавления развития или снижения выраженности марганцевой энцефалопатии.

Ранее было показано, что при избыточном воздействии Mn у экспериментальных животных в клетках центральной нервной системы (ЦНС) происходит активация кальпаинов, которые представляют собой семейство внутриклеточных кальций-зависимых протеаз, специфическая активность которых связана с различными физиологическими функциями: миграция клеток, апоптоз, синаптическая передача и др. [6]. Наиболее изученными и широко представленными кальпаинами в клетках ЦНС являются m- и μ-кальпаины, их эндогенным ингибитором является кальпастатин. Обе изоформы кальпаина обладают сходными биохимическими характеристиками, но их активация происходит при разных концентрациях ионов Ca^{2+}: μ-кальпаин требует микромолярной концентрации Ca^{2+}, m-кальпаин – миллимолярной. Чрезмерная активация кальпаинов вызывает нарушение регуляции многих физиологических функций, приводит к активации каспаз и нарушает синаптическую передачу.

Цель работы: Оценить сохранность когнитивных функций у крыс с выраженной марганцевой интоксикацией в условиях подавления активности кальпаинов.

Задачи:

1. Оценить сохранность пространственной памяти у крыс с марганцевой интоксикацией в условиях подавления активности кальпаинов;
2. Оценить сохранность рабочей памяти у крыс с марганцевой интоксикацией в условиях подавления активности кальпаинов;
3. Определить содержание марганца в клетках стриатума и гиппокампа у крыс с марганцевой интоксикацией в условиях подавления активности кальпаинов.

Материалы и методы

Работа была выполнена на взрослых самцах крыс линии Вистар, 220–250 г. Животные были разделены на три группы: первая группа получала интраназальные инъекции $MnCl_2$ (1 мг/жив в объеме 20 мкл в день), вторая группа получала интраназальные инъекции $MnCl_2$ (1 мг/жив в объеме 20 мкл в день) и кальпастатина (Cast) (1 мкг/жив в объеме 10 мкл в день) и третья группа, которая получала 20 мкл физиологического раствора интраназально. В течение всего эксперимента, раз в три дня, производили контрольные взвешивания животных.

Тестирование пространственной памяти у лабораторных животных проводили с помощью «водного лабиринта Морриса» на 27-й день эксперимента. Использовали круглый бассейн диаметром 150 см и высотой 60 см, заполненный водой на высоту 43 см. Температура воды составляла 22 ± 1 °C. Для того, чтобы сделать воду непрозрачной, в неё добавляли молоко. Квадратную платформу из оргстекла размером 10 × 10 см помещали в центр одного из секторов на глубину 1–1,5 см. В качестве стартовых позиций были выбраны северо-восточная (NE), восточная (E), южная (S) и юго-западная (SW) области бассейна. В качестве пространственных ориентиров использовали визуальные стимулы – геометрические фигуры, расположенные на стенках бассейна в позициях NW, NE, SE и SW.

В течение четырёх дней подряд (23-й – 26-й дни эксперимента) производили обучение животных. Для этого крысам давали по 4 попытки для поиска скрытой под водой платформы: крысу помещали в воду в одной из стартовых областей бассейна. В каждую из четырёх попыток одного дня стартовую позицию меняли. Попытка заканчивалась в момент нахождения крысой платформы или через 90 с после начала попытки, если крыса не могла найти платформу. В этом случае крысу аккуратно рукой направляли к платформе. В течение 30 с животное оставляли сидеть на платформе. Новую попытку предъявляли через 90–120 с после удаления крысы с платформы в предыдущей попытке. На 5-й день (27-й день эксперимента) проводили тестирование, в ходе которого оценивали время, проведенное животным в целевом квадранте.

Для оценки рабочей памяти у крыс применялся тест «Y-образный лабиринт» на 30-й день эксперимента. Установка представляет собой лабиринт с тремя равнозначными рукавами 50 × 16 × 31 см. После помещения крысы в лабиринт, она начинает обследовать новое пространство, поочередно посещая каждый рукав. Регистрировались количество и последовательность заходов крысы в рукава лабиринта за 8 мин теста и вычислялся процент спонтанных альтернаций.

Через 30 дней эксперимента животные были декапитированы, у них извлекался стриатум и гиппокамп. В структурах мозга лабораторных животных измеряли уровни марганца методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС).

Образцы ткани взвешивали и гомогенизировали в трех объемах деионизованной воды с сопротивлением не менее 10 МОм/см (воду с данными характеристиками получали с помощью системы очисти воды Milli-Q Direct, картридж

Прогард Т3). К гомогенату добавляли концентрированную азотную кислоту (1:1 v/v) и инкубировали ночь при комнатной температуре (до полного растворения материала).

Анализ уровня марганца проводили на спектрофотометре ZEEnit 650 P производства фирмы Analytik Jena (Германия). Средства поверки прибора: государственные стандартные образцы водных растворов ионов марганца (ГСО 7443-98). Все калибровочные растворы готовили на деионизованной воде с описанными выше характеристиками. Концентрацию марганца в образцах измеряли в двуполевом режиме, который за счет изменения величины напряженности магнитного поля позволяет продолжить калибровочную кривую вплоть до 1000 мкг/мл. Для каждого образца анализ проводили дважды. Результаты измерения нормировали на массу образца и представляли, как мкг/г ткани.

Результаты и обсуждение.

На первом этапе исследования мы оценивали последствия введения $MnCl_2$ и кальпастатина на общеорганизменном уровне. При анализе массы животных на протяжении эксперимента было показано, что крысы, получавшие хлорид марганца, начиная с 3-го дня и до конца эксперимента, имеют меньший прирост массы тела по сравнению с контрольной группой (рис. 1). Так же можно заметить, что животные, получавшие $MnCl_2$ и Cast, демонстрируют снижение в приросте массы с 12 дня и до конца эксперимента по сравнению с контрольными крысами.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что применение кальпастатина снижает негативные эффекты от введения $MnCl_2$ лабораторным животным на прирост массы тела на ранних этапах, однако не предотвращает их.

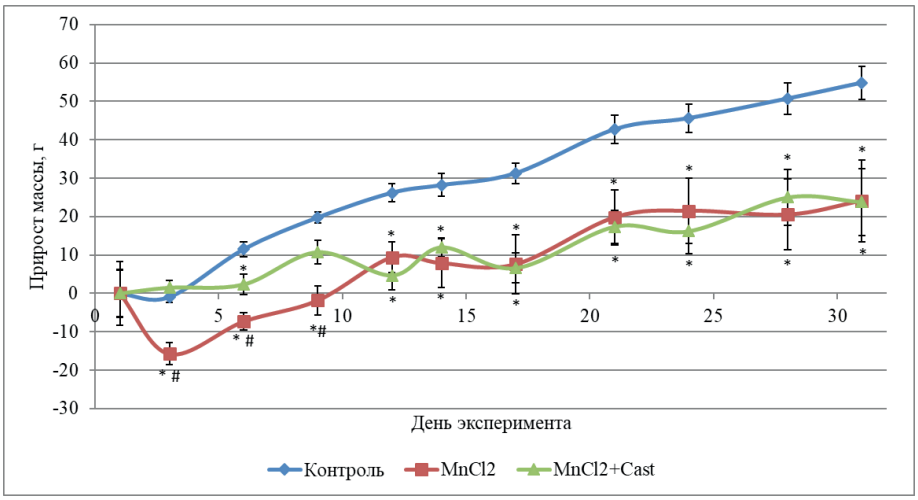


Рисунок 1. Динамика изменения массы тела животных.

Данные представлены как среднее ± ошибка среднего ($n_1 = n_2 = n_3 = 10$); точки для наглядности соединены линиями; критерий Стьюдента для независимых выборок; * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; # – $p < 0,05$ по сравнению с группой животных, получавших $MnCl_2$

В современной литературе показано, что у людей, подвергшихся хронической интоксикации соединениями Mn, наблюдается нарушение пространственной и рабочей памяти. В связи с чем, нами была проведена оценка пространственной памяти у лабораторных животных на 27-й день эксперимента с помощью теста «водный лабиринт Морриса». Оказалось, что у крыс, получавших $MnCl_2$, и у крыс, получавших $MnCl_2$ и кальпастатин, в 1,8 и в 1,6 раз соответственно наблюдается снижение времени, проведенного в целевом квадранте, по сравнению с контрольной группой.

Введение кальпастатина не предотвращает нарушение пространственной памяти у экспериментальных крыс, вызванное хронической интоксикацией марганца.

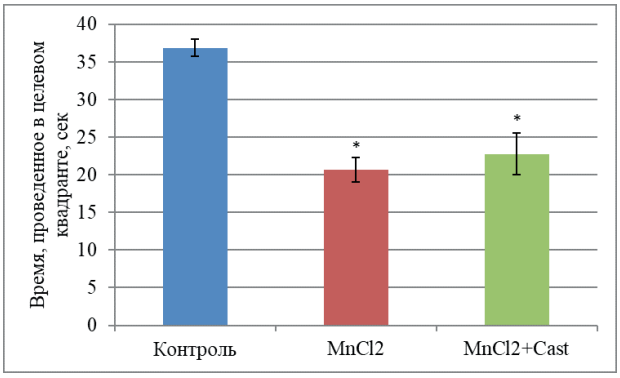


Рисунок 2. Оценка пространственной памяти в тесте «Водный лабиринт Морриса».

Данные представлены как среднее ± ошибка среднего ($n_1 = n_2 = n_3 = 10$); критерий Стьюдента для независимых выборок; * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Оценку рабочей памяти проводили с помощью теста «Y-образный лабиринт» на 30-й день эксперимента. На рисунке 3 показано, что хроническое введение $MnCl_2$ и кальпастатина не влияет на рабочую память у экспериментальных животных.

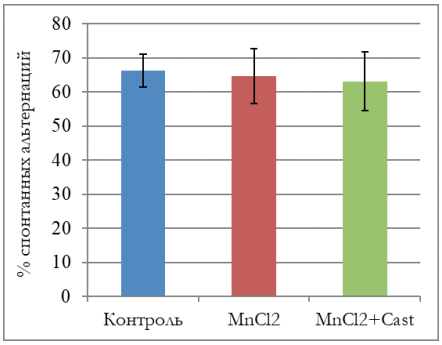


Рисунок 3. Оценка рабочей памяти в тесте «Y-образнный лабиринт».
Данные представлены как среднее ± ошибка среднего ($n_1 = n_2 = n_3 = 10$);
критерий Стьюдента для независимых выборок

Для того чтобы показать, что выявленные поведенческие изменения связаны с накоплением марганца в ЦНС, мы определяли его содержание в стриатуме и гиппокампе лабораторных животных. Оказалось, что у крыс, получавших $MnCl_2$, наблюдается 4,5-кратное увеличение уровня марганца в стриатуме и 1,7-кратное – в гиппокампе по сравнению с контролем. Введение кальпастатина совместно с $MnCl_2$ не предотвращает накопление металла в клетках исследуемых структур: уровень марганца в 4 раза выше в стриатуме и в 1,4 раза – в гиппокампе по сравнению с контролем.

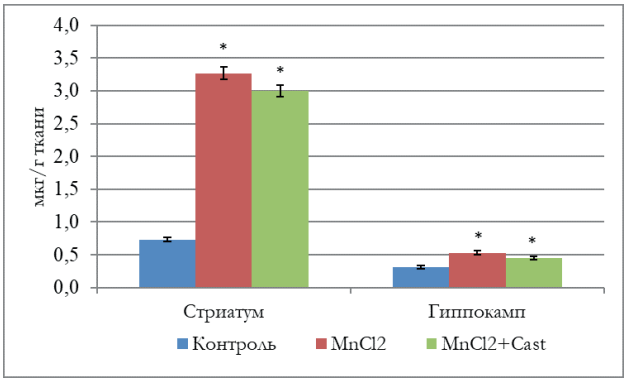


Рисунок 4. Содержание марганца в клетках ЦНС.
Данные представлены как среднее ± ошибка среднего ($n_1 = n_2 = n_3 = 10$);
критерий Стьюдента для независимых выборок; * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

Заключение. Применение синтетического ингибитора кальпаинов – кальпастатина в условиях марганцевой интоксикации не приводит к улучшению когнитивных функций у лабораторных животных.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

34.00.00 Биология
34.39.00 Физиология
34.39.23 Высшая нервная деятельность. Поведение

ЛИТЕРАТУРА

1. Manganese in the Diet: Bioaccessibility, Adequate Intake, and Neurotoxicological Effects / Martins A.C. [et al.] // J Agric Food Chem. 2020. Vol. 68(46). P. 12893-12903. doi: 10.1021/acs.jafc.0c00641
2. Aschner M., Erikson K. Manganese // Adv Nutr. 2017. Vol. 8(3). P. 520-521. doi: 10.3945/an.117.015305
3. Brain manganese and the balance between essential roles and neurotoxicity / R.C. Balachandran [et al.] // J Biol Chem. 2020. Vol. 295(19). P. 6312-6329. doi: 10.1074/jbc.REV119.009453
4. Manganese-induced neurodegenerative diseases and possible therapeutic approaches / A.C. Martins Jr [et al.] // Expert Rev Neurother. 2020. Vol. 20(11). P. 1109-1121. doi: 10.1080/14737175.2020.1807330
5. Filipov N.M., Dodd C.A. Role of glial cells in manganese neurotoxicity // J Appl Toxicol. 2012. Vol. 32(5). P. 310-317. doi: 10.1002/jat.1762
6. Protective effect of calpain inhibitors against manganese-induced toxicity in rats / I.S. Ivleva [et al.] // Metab Brain Dis. 2022. Vol. 37(4). P. 1003-1013. doi: 10.1007/s11011-022-00916-7

SUMMARY

THE EFFECT OF CALPAIN ACTIVITY SUPPRESSION ON COGNITIVE ABILITIES IN RATS UNDER CONDITIONS OF MANGANESE CHLORIDE INTOXICATION

Kudrinskaia V.M., 4th year student
Scientific supervisor: [2]**Ivleva I.S.,** junior researcher**,** [1]**Arseniev N.A.,** PhD in biology, senior lecturer
[1]St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
Prof. Popov St. 14, St. Petersburg, 197376, Russian Federation
[2]Institute of experimental medicine
Acad. Pavlov Street 12, St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: v.kudrinskaja2011@yandex.ru

Activation of calpains, calcium-dependent proteases, may be one of the reasons for the development of manganese encephalopathy. The study assesses the preservation of cognitive functions in rats with manganese intoxication under conditions of suppression of calpain activity. It was found that the suppression of calpain activity does not lead to the preservation of spatial memory and does not prevent the accumulation of manganese in CNS cells in laboratory animals.

Keywords: *manganese, manganism, calpains, calpastatin, neuroinflammation, cognitive functions.*

REFERENCES

1. Manganese in the Diet: Bioaccessibility, Adequate Intake, and Neurotoxicological Effects / Martins A.C. [et al.] // J Agric Food Chem. 2020. Vol. 68(46). P. 12893-12903. doi: 10.1021/acs.jafc.0c00641
2. Aschner M., Erikson K. Manganese // Adv Nutr. 2017. Vol. 8(3). P. 520-521. doi: 10.3945/an.117.015305
3. Brain manganese and the balance between essential roles and neurotoxicity / R.C. Balachandran [et al.] // J Biol Chem. 2020. Vol. 295(19). P. 6312-6329. doi: 10.1074/jbc.REV119.009453
4. Manganese-induced neurodegenerative diseases and possible therapeutic approaches / A.C. Martins Jr [et al.] // Expert Rev Neurother. 2020. Vol. 20(11). P. 1109-1121. doi: 10.1080/14737175.2020.1807330
5. Filipov N.M., Dodd C.A. Role of glial cells in manganese neurotoxicity // J Appl Toxicol. 2012. Vol. 32(5). P. 310-317. doi: 10.1002/jat.1762
6. Protective effect of calpain inhibitors against manganese-induced toxicity in rats / I.S. Ivleva [et al.] // Metab Brain Dis. 2022. Vol. 37(4). P. 1003-1013. doi: 10.1007/s11011-022-00916-7

УДК 616:002.2

ВЛИЯНИЕ АМПИЦИЛЛИНА И МЕТРОНИДАЗОЛА НА ВЫРАЖЕННОСТЬ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ У КРЫС

Кукушкина Е.С., студ. 5 год обучения
Руководители: [1]**Арсениев Н.А.,** к.б.н., доцент, [2]**Майстренко В.А.,** младший научный сотрудник
[1]Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
[2]Институт экспериментальной медицины,
197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12, Российская Федерация
E-mail: kukushkina.ekaterina@pharminnotech.ru

Проведено исследование влияния антибактериальных лекарственных препаратов (Ампициллин и Метронидазол) на показатели нейровоспаления: интерлейкин-1β (IL-1β), фактор некроза опухоли-α (TNF-α) и маркер активации микроглии (IBA-1) у животных после введения липополисахарида (ЛПС). Обнаруженное повышение провоспалительных цитокинов IL-1β и TNF-α в экспериментальной группе демонстрирует, что введение субсептической дозы ЛПС приводит к развитию нейровоспаления у крыс, тогда как использование антибактериальных препаратов на этот процесс не влияет.

Ключевые слова: *нейровоспаление, липополисахарид, провоспалительные цитокины, гиппокамп, стриатум, периферическое воспаление, антибактериальные препараты.*

Воспалительные заболевания – это обобщённое название комплексного, местного или общего патологического процесса, возникающего в ответ на повреждения клеточных структур организма. Также воспалительное заболевание возникает вследствие действия патогенного раздражителя и, следовательно, проявления реакций, нацеленных на ликвидацию продуктов повреждения или раздражителей, например, бактериальной природы. Воспаление формирует так называемый «портрет больного», выражающийся следующими симптомами: гипо-/гипертермия, высокая утомляемость, асоциальность, эмоциональная лабильность, снижение познавательного интереса и другие. Известно, что воспаление может

инициировать развитие таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз, болезнь Паркинсона [1]. При лечении воспалительных заболеваний бактериальной природы используют антибактериальные препараты. Многолетний опыт их применения, а также многочисленные исследования в этой области показывают иммуносупрессивное действие антибиотиков на микробиоту человека [2]. Среди общественности широко распространено непонимание принципов работы антибиотиков. Неправильный приём антибиотиков: раннее прекращение приёма, приём в дозировках отличных от рецепта врача или инструкции и приём антибактериальных препаратов без необходимости, в том числе для лечения ОРВИ без присоединённой бактериальной инфекции – сильно увеличивает опасность распространения устойчивых к антибиотикам штаммов бактерий. На данный момент неизвестны последствия частого и неконтролируемого применения антибиотиков на работу центральной нервной системы (ЦНС), в частности на головной мозг.

В научной среде существуют модели воспалительного процесса у экспериментальных животных, инициированные посредством введения разных веществ, например, ЛПС. Он представляет собой макромолекулярное соединение, которое входит в состав наружной мембраны грамотрицательных бактерий. ЛПС включает 3 ковалентно-связанных компонента: липид А, центральный олигосахарид и О-антиген. Наиболее антигенпредставляющей частью ЛПС является О-антиген. В экспериментах используют разные дозы и способы введения эндотоксина. Известно, что ЛПС, при системном введении, вызывает периферический воспалительный процесс, который самостоятельно купируется через 9 дней после его начала [3, 4]. Так же известно, что многие нейродегенеративные заболевания имеют мультифакториальную этиологию, одной из которых является воспаление. Однако до сих пор не ясны механизмы перехода периферического воспаления в нейровоспаление, а также, какую роль в этих процессах могут играть антибактериальные препараты при частом и неконтролируемом их применении.

Цель работы: Изучение влияние антибактериальных лекарственных препаратов (Ампициллин и Метронидазол) на показатели нейровоспаления (IL-1β, TNF-α, IBA-1) у животных.

Задачи:

1. Определить уровни маркеров нейровосполения в стриатуме и гиппокампе крыс при эксперементальной эндотоксинемии.

2. Определить изменение показателей нейровосполения в стриатуме и гиппокампе крыс при использовании Ампициллина и Метронидазола в модели эксперементальной эндотоксинемии.

Материалы и методы: Для эксперимента брали 40 лабораторных крыс Wistar (Рапполово) весом 250-260 г. Животные содержались в обычных условиях согласно стандартам: по 10 особей в клетке. Им был предоставлен свободный доступ к воде и еде. Установлен световой режим: день – с 8 до 20 часов, ночь – с 20 до 8 часов; и температура воздуха 20-22Со. Используемые препараты: коммерческий ЛПС, синтезированный компанией SIGMA из E. coli O55:B5, 25 мг лиофилизата. Физиологический раствор – 9% раствор хлорида натрия (NaCl). Ампициллин (гранулы для приготовления суспензии для приема внутрь 250 мг/5 мл), Метронидазол (таблетки 250 мг).

Приручение животных к рукам до начала эксперимента (хэндлинг); введение препаратов; измерение глубокой температуры тела крыс; декапитация (забор исследуемого материала); выделение тотальной матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) фенол-хлороформным способом; постановка обратной транскрипции (ОТ) с последующей полимеразной цепной реакцией в реальном времени (ПЦР-РВ); статистическая обработка полученных данных с использованием программы Statistica 7.0. Использован дисперсионный анализ ANOVA с последующим применением критерия Фишера. Данные представлены как среднее +/- ошибка среднего.

Ход эксперимента: Эксперимент 1. Для пилотного эксперимента по отработке воспалительной модели болезни Паркинсона брали самцов крыс Wistar весом 250-260г. Случайным образом животных разделили на 2 группы по 10 голов в каждой: первой группе интраперитонеально вводили ЛПС 1мг/кг животного, второй группе – интраперитонеально вводили 9% физиологический раствор. Затем на протяжении 4 часов через каждые 30 минут измеряли глубокую температуру тела для определения системной воспалительной реакции. На десятый день эксперимента методом ОТ-ПЦР в реальном времени определяли значение маркеров нейровоспаления: IL-1β, TNF-α, IBA-1. Проведение полимеразной цепной реакции осуществляли по инструкции на аплификаторе CFX96 Real-TimeSystem производства BioRad.

Эксперимент 2. Самцов крыс Wistar (n=40), весом 250-260г. случайным образом разделили на 4 группы по 10 голов в каждой: 1 группа – антибиотик; 2 группа – антибиотик и ЛПС; 3 группа – ЛПС и 4 группа – физиологический раствор. Первым двум группам животных в течение 14 дней интрагастрально вводили коктейль из антибактериальных препаратов (метронидазол 50 мг/кг животного + ампициллин 100 мг/кг животного, предварительно растворённых в питьевой воде). Через 2 недели второй и третьей группам интраперитонеально ввели ЛПС в дозе 1мг/кг, а четвёртой группе ввели 1мл 9% физиологического раствора. Затем на протяжении 4 часов через каждые 30 минут измеряли глубокую температуру тела у второй и четвертой групп крыс с целью выявления воспалительного ответа. Через 2 месяца после декапитации крыс проводили анализ основных провоспалительных цитокинов (IL-1β, TNFα) и Iba-1 методом ОТ-ПЦР в реальном времени в клетках стриатума и гиппокампа.

Результаты и обсуждения: Эксперимент 1. При проведении пилотного эксперимента нами были получены следующие результаты. Однократное интраперитонеальное введение ЛПС приводит к повышению температуры тела в среднем на 2 градуса в экспериментальной группе (рис.1). Максимальный подъем температуры в среднем на 2,4°С был зафиксирован через два часа после начала эксперимента (до 39,8°С). Приведенная динамика температурного показателя свидетельствует о развитии иммунного ответа на введение эндотоксина.

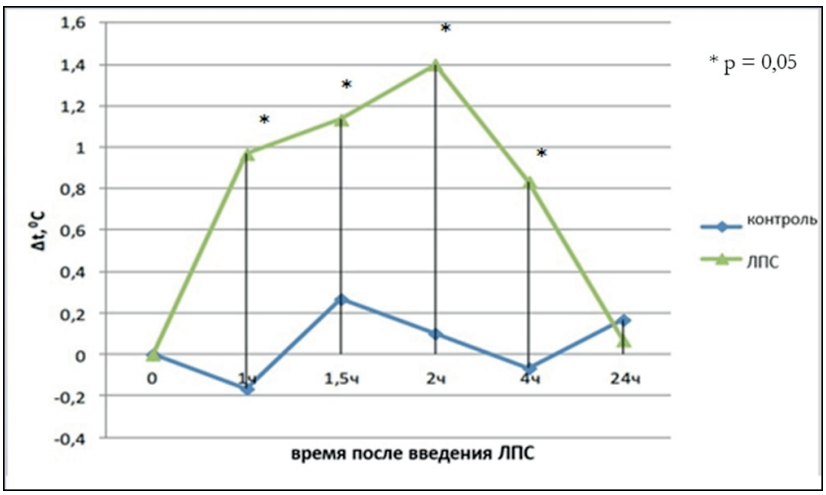


Рисунок 1. Температурная кривая пилотного эксперимента

В клетках стриатума было обнаружено повышение уровня мРНК IL-1β в 2 раза и TNF-α в 4 раза по сравнению с контрольной группой (рис. 2). Полученные данные иллюстрируют, что в стриатуме крыс развиваются признаки нейровоспаления уже на 10-ый день после начала эксперимента. Учитывая, что активация микроглии на данном сроке эксперимента не обнаружено, можно предположить, что увеличение провоспалительных цитокинов в ЦНС объясняется активацией астроглии (не исследовали в этом эксперименте).

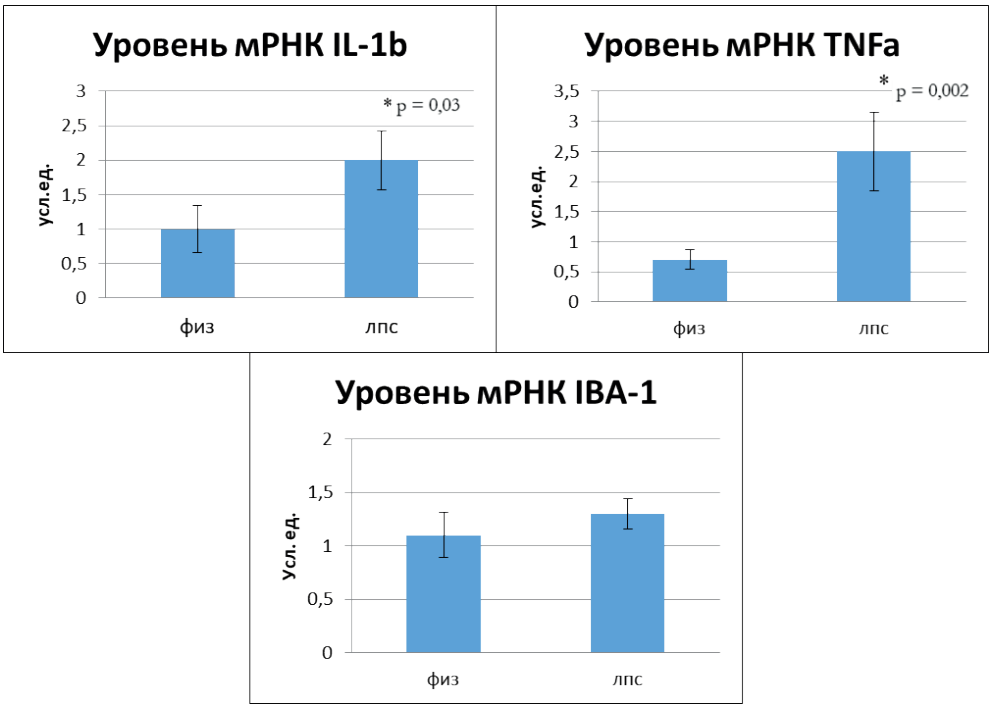


Рисунок 2. Уровень мРНК IL-1b, TNF-α и IBA-1 в стриатуме крыс через 10 дней после введения ЛПС

В клетках гиппокампа повышения уровня исследуемых показателей не было обнаружено (рис. 3). Поскольку гиппокамп является «стресс-реактивной» структурой головного мозга, можно предположить, что изменения показателей нейровоспаления у крыс происходит на более ранних сроках.

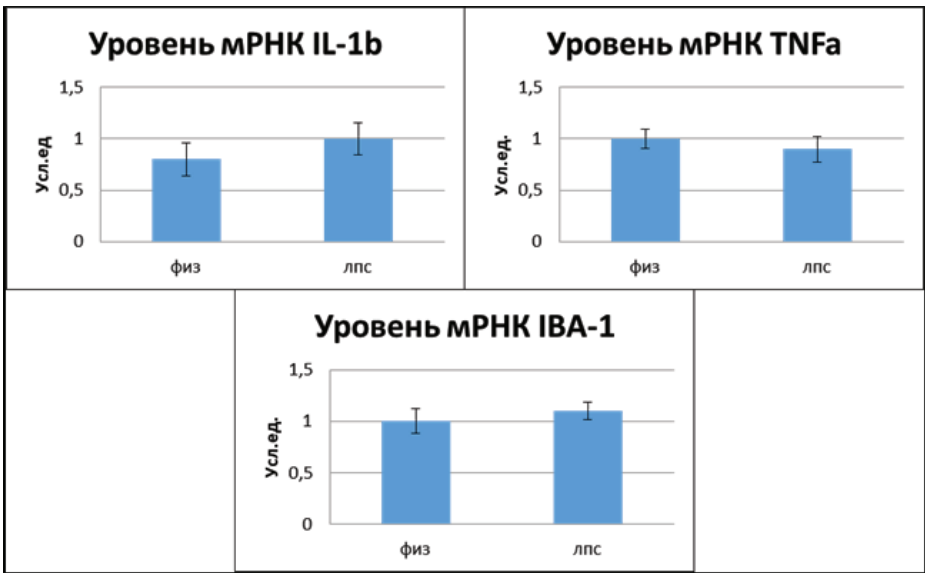


Рисунок 3. Уровень мРНК IL-1b, TNF-α и IBA-1 в гиппокампе крыс через 10 дней после введения ЛПС

Эксперимент 2. При проведении основного эксперимента были получены следующие результаты. Однократное интраперитонеальное введение ЛПС приводит к повышению температуры тела в среднем на 0,3 градуса во 2-ой группе с ведением ЛПС (рис. 4). Максимальный подъем температуры в среднем 0,6°С был зафиксирован через 5 часов после начала эксперимента (до 38,9°С). Приведенная динамика температурного показателя свидетельствует о развитии иммунного ответа на введение эндотоксина. Также мы обнаружили повышение температуры тела животных в экспериментальной группе (ЛПС + антибиотики) в среднем на 0,2 градуса с максимальным значением через 5 часов – 38,5°С. Эти данные показывают, что применение антибиотиков не блокируют ранний системный иммунный ответ на интраперитонеальное введение ЛПС. Однако в 4-ой (физ. р-р) и 1-ой группах (антибиотики) повышения температуры не было обнаружено, что говорит об отсутствии воспалительных процессов у этих животных. На основании полученных результатов можем сделать вывод о том, что применение антибиотиков вне бактериальных заболеваний не приводит к развитию иммунного ответа в организме крыс.

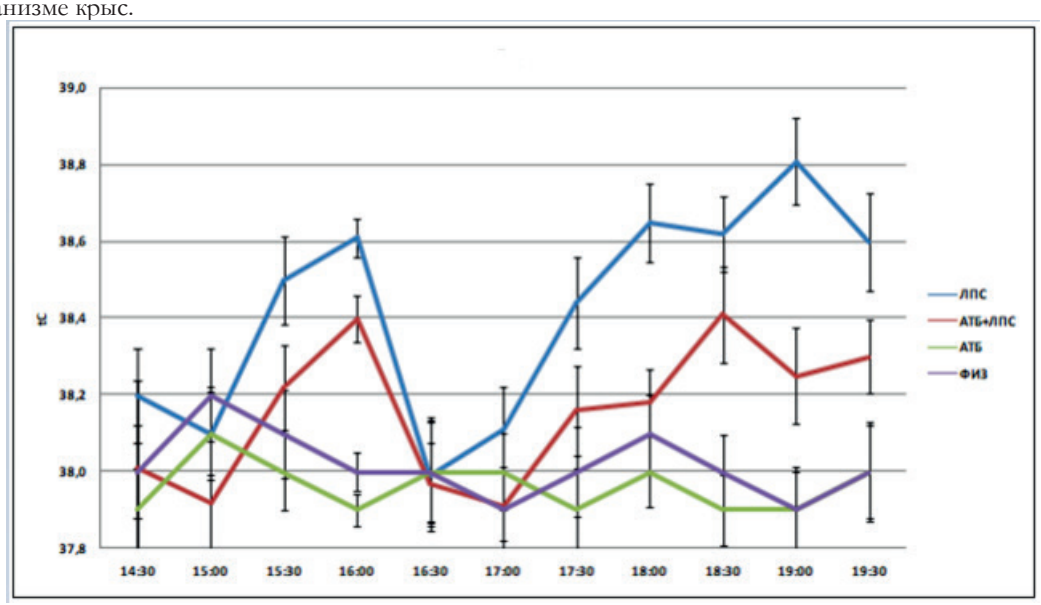


Рисунок 4. Температурная кривая основного эксперимента

В клетках стриатума через 2 месяца после введения ЛПС в 3-ей группе (ЛПС) обнаружено повышение уровней мРНК IL-1β в 1,5 раза, а TNF-α в 0,5 раза по сравнению с 4-ой (физ. р-р) и 1-ой группами (антибиотики). Что соответствует результатам пилотного эксперимента. Так же во 2-ой группе (ЛПС + антибиотики) обнаружено повышение уровней мРНК обоих провоспалительных цитокинов в 1,5 раза по сравнению с 1-ой и 4-ой группами. Достоверных отличий уровней мРНК IBA-1 обнаружено не было. Полученные данные иллюстрируют, что признаки нейровоспаления в стриатуме крыс сохраняются через 2 месяца после начала эксперимента, а активация микроглии либо ещё не началась, либо уже завершилась и в поддержании активного воспалительного процесса играют роль иные структуры головного мозга (астроциты). Сложившаяся картина демонстрирует отсутствие влияния антибиотиков на развитие нейровоспаления в стриатуме крыс при экспериментальной эндотоксинемии.

В клетках гиппокампа мозга крыс после введения ЛПС было обнаружено повышение мРНК IL-1β в 3-ей группе в 0,5 раза по сравнению с 4-ой группой и в 2 раза по сравнению с 1-ой группой (рис.5). Так же мы наблюдали увеличение мРНК IL-1β во 2-ой группе в 1,5 раза по сравнению с 1-ой группой. Повышение уровня мРНК TNF-α был во 2-ой и в 3-ей группах в 2 раза по сравнению с 1-ой группой. При этом мы обнаружили, что через 2 месяца после начала эксперимента в 3-ей группе происходит увеличение уровня мРНК IBA-1 по сравнению с 4-ой группой. Из полученных результатов видно, что уже через 2 месяца введение ЛПС приводит к развитию воспалительной реакции клеток гиппокампа, обусловленной, видимо, активацией микроглии. Тогда как воспалительный процесс, обнаруженный в экспериментальной группе, происходит за счёт иных механизмов.

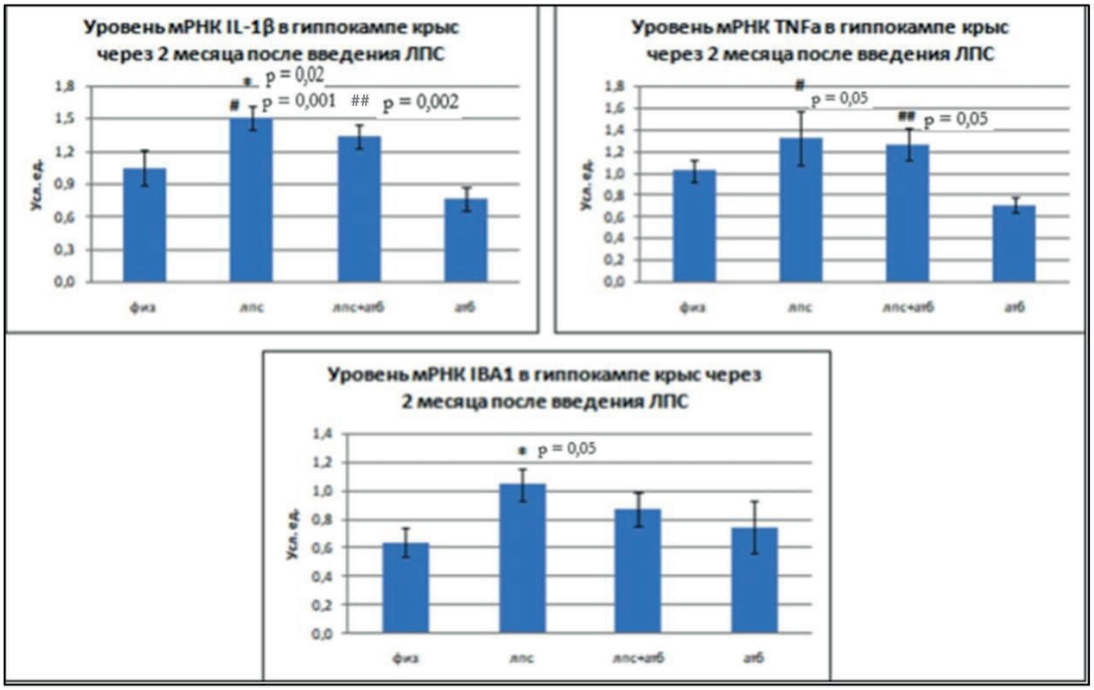


Рисунок 5. Уровень мРНК IL-1b, TNF-α и IBA-1 в гиппокампе крыс через 2 месяца после введения ЛПС

Заключение: В процессе изучения влияния антибактериальных лекарственных препаратов (Ампициллин и Метронидазол) на показатели нейровоспаления (IL-1b, TNF-α, IBA-1) было обнаружено, что применение антибактериальных препаратов при сильном системном иммунном ответе не усугубляет, но и не уменьшает развитие нейровоспаления в головном мозге крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ascherio A., Schwarzschild M.A. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention // Lancet Neurol. 2016. Vol. 15(12). P. 1257–1272. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30230-7

2. Dinan T.G., Cryan J.F. Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing andneurodegeneration // J Physiol. 2017. Vol. 595(2). P. 489–503. https://doi.org/10.1113/JP273106

3. Kalia L.V., Lang A.E. Parkinson's disease // Lancet. 2015. Vol. 386(9996). P. 896–912.

4. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3

5. Wichmann T. Changing views of the pathophysiology of Parkinsonism // MovDisord. 2019. Vol. 34(8). P. 1130–1143. https://doi.org/10.1002/mds.27741

SUMMARY

STUDYING THE EFFECT OF ANTIBACTERIAL DRUGS (AMPICILLIN AND METRONIDAZOL) ON INDICATORS OF NEURO-INFLAMMATORY IN ANIMALS

Kukushkina E.S., specialist 5 year of study
Supervisors: [1]**Arseniyev N.A.**, Ph.D., associate professor, [2]**Maistrenko V.A.**, junior researcher
[1]St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. Prof. Popova, 14, Russian Federation
[2]Institute of Experimental Medicine
197376, St. Petersburg, st. Academician Pavlova, 12, Russian Federation
E-mail: kukushkina.ekaterina@pharminnotech.ru

A study was made of the effect of antibacterial drugs (Ampicillin and Metronidazol) on indicators of neuroinflammation: interleukin-1β (IL-1β), tumor necrosis factor-α (TNF-α) and microglial activation marker (IBA-1) in animals after administration of lipopolysaccharide (LPS). The observed increase in the pro-inflammatory cytokines IL-1β and TNF-α in the experimental

group demonstrates that the administration of a subseptic dose of LPS leads to the development of neuroinflammation in rats, while the use of antibacterial drugs does not affect this process.

Keywords: *neuroinflammation, lipopolysaccharide, pro-inflammatory cytokines, hippocampus, striatum, peripheral inflammation, antibacterial drugs.*

REFERENCES

1. Ascherio A., Schwarzschild M.A. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention // Lancet Neurol. 2016. Vol. 15(12). P. 1257–1272. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30230-7

2. Dinan T.G., Cryan J.F. Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing andneurodegeneration // J Physiol. 2017. Vol. 595(2). P. 489–503. https://doi.org/10.1113/JP273106

3. Kalia L.V., Lang A.E. Parkinson's disease // Lancet. 2015. Vol. 386(9996). P. 896–912.

4. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3

5. Wichmann T. Changing views of the pathophysiology of Parkinsonism // MovDisord. 2019. Vol. 34(8). P. 1130–1143. https://doi.org/10.1002/mds.27741

УДК 616:002.2

ВЛИЯНИЕ ДЕКСАМЕТАЗОНА НА ВЫРАЖЕННОСТЬ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ У КРЫС

Лебедева Е.Я., студ. 5 год обучения

Руководители: [1]**Арсениев Н.А.,** к.б.н., доцент, [2]**Майстренко В.А.,** младший научный сотрудник

[1]Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация

[2]Институт экспериментальной медицины

197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12, Российская Федерация

E-mail: lebedeva.elena@pharminnotech.ru

Проведено исследование влияния дексаметазона на показатели нейровоспаления при экспериментальной эндотоксинемии. Введение липополисахарида (ЛПС) привело к увеличению экспрессии матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) генов интерлейкина -1β (IL-1β), фактора некроза опухоли-α (TNFα), а так же индуцибельной NO-синтазы (iNOS), в стриатуме крыс. Также мы показали, что введение дексаметазона препятствовало развитию нейровоспаления при экспериментальной эндотоксинемии.

Ключевые слова: *нейровоспаление, дексаметазон, провоспалительные цитокины, гиппокамп, стриатум.*

Нейровоспалением называют специфическую реакцию нервной системы, связанную с активацией микроглии: происходит расстройство деятельности митохондрий, нарушения экспрессии генов, клетки начинают активно синтезировать и выделять в окружающее межклеточное пространство провоспалительные вещества: фактор некроза опухоли-α (TNFα), интерлейкины, активные формы кислорода. Это вызывает хемотаксис иммунных клеток и повышение уровня их содержания в мозговом кровотоке[1]. Прогрессирование описанных реакций ведет к дальнейшему ухудшению жизнедеятельности микроглии (изменение мембранного потенциала и поляризация клеток), следовательно, нарушению во взаимодействии между ней и нейронами: ухудшается трофика нейронов, патологически изменяется ионный обмен ткани между ними. Под воздействием различных стимулов (черепно-мозговой травмы, инфекций, токсических веществ) микроглия, физиологическая роль, которой заключается в поддержании гомеостаза центральной нервной системы (ЦНС), может переходить в гиперактивированную форму, что способствует развитию патологических процессов. Нарушения функционирования центральной нервной системы относятся к наиболее тяжелым формам заболеваний в силу неврологических осложнений с длительными последствиями и высокой смертностью [2]. Одним из основных регуляторов ответной реакции организма на возникшее воспаление считают гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, эффекторными молекулами которой являются глюкокортикостероиды (ГКС). Помимо участия в развитии стрессового ответа ГКС являются модуляторами воспаления. Известно, что на периферии ГКС, в частности синтетическое производное дексаметазон, выступает в качестве противовоспалительного агента, оказывающего влияние на основные компоненты воспаления: медиаторы, сосудистые и клеточные компоненты. ГКС уменьшают продукцию простаноидов и лейкотриенов, индуцируя биосинтез липокортина, который ингибирует фосфолипазу А2, а также экспрессию гена циклооксигеназы-2. За счет влияния на продукцию противовоспалительных цитокинов ГКС стабилизируют лизосомальные мембраны, снижают капиллярную проницаемость, что объясняет их выраженный эффект на экссудативную фазу воспаления. Стабилизация лизосомальных мембран приводит к ограничению выхода из них протеолитических ферментов и предупреждает деструктивные процессы в тканях. Тормозится накопление лейкоцитов в зоне воспаления, а также активность макрофагов и фибробластов. Угнетая размножение фибробластов и синтез ими коллагена, ГКС способны подавлять пролиферативную фазу воспаления. Торможение созревания базофилов под действием ГКС приводит к уменьшению синтеза медиаторов немедленных аллергических реакций. Таким образом, ГКС способны подавлять и ранние, и поздние проявления воспаления, а также реакции пролиферации при хроническом воспалении. Однако церебральные эффекты глюкокортикостероидов практически не исследованы.

Цель работы: Изучение влияния дексаметазона на показатели нейровоспаления у крыс при экспериментальной эндотоксинемии.

Задачи:

1. Определить уровни маркеров нейровоспаления в стриатуме и гиппокампе крыс в ответ на введение субсептической дозы ЛПС.

2. Определить изменения показателей нейровоспаления в стриатуме и гиппокампе крыс при введении дексаметазона в модели экспериментальной эндотоксинемии.

Материалы и методы: Для эксперимента брали 40 лабораторных крыс Wistar (Рапполово) весом 250-260 г. Животные содержались в обычных условиях согласно стандартам: по 5-10 особей в клетке. Им был предоставлен свободный доступ к воде и еде. Установлен световой режим: день – с 8 до 20 часов, ночь – с 20 до 8 часов; и температура воздуха 20-22Со. Использовали коммерческий ЛПС, синтезированный компанией SIGMA из E. coli O55:B5, 25 мг лиофилизата. Препарат дексаметазон, раствор для инъекций 4 мг/1 мл. Ампула 1 мл N 25, производитель КРКА. Физиологический раствор – 9% раствор хлорида натрия (NaCl). Методы: Хэндлинг; Интраперитонеальное введение препаратов; Выведение животных из эксперимента, взятие гиппокампа и стриатума; Выделение тотальной мРНК методом фенол-хлороформной экстракции нуклеиновых кислот; Постановка обратной транскрипции (ОТ) с последующей полимеразной цепной реакцией в реальном времени (ПЦР-РВ); Статистическая обработка полученных данных ANOVA, критерий Фишера).

Ход эксперимента. Самцов крыс Wistar рандомно разделили по 10 голов на 4 группы: 1 группа – интраперитонеальное (и/п) введение физ.р-ра; 2 группа – и/п ЛПС, 1 мг/кг животного; 3 группа – и/п дексаметазон 2 мг/кг за час до введения ЛПС, 4 группа – и/п дексаметазон 2 мг/кг. На протяжении первых 4 часов эксперимента каждые 30 минут и по истечении 24 часов измеряли глубокую температуру тела крыс для построения температурной кривой. Через 10 дней после начала эксперимента животных декапитировали и брали стриатум и гиппокамп для выделения мРНК. Выделение тотальной мРНК производили с помощью Тризола. На пробу весом 25-50 мкг добавляли 500 мкл Тризола. Гомогенизировали при комнатной температуре. Центрифугировали на 12 000 оборотов в минуту в течение 10 минут при температуре 4°С. Отбирали водную (верхнюю) фазу, осадок утилизировали. В отобранную надосадочную жидкость добавляли хлороформ (100 мкл), аккуратно перемешивали и центрифугировали 15 минут при тех же условиях. После проведённого центрифугирования отбирали водную фазу. В надосадок добавляли 500 мкл изопропанола, перемешивали, центрифугировали 10 минут при таких же условиях. Осторожно аспирировали жидкую фазу так, чтобы не захватить осадок белого цвета (содержащий нуклеиновые кислоты или РНК). В пробирку с осадком добавляли 500 мкл 75% этанола, так же аккуратно перемешивали и центрифугировали на 7500 оборотов в минуту при температуре 4°С в течение 5 минут. Отбирали жидкую фазу и высушивали пробу с помощью вакуумного насоса. После чего добавляли RNA's Free воду в объёме 20 мкл и прогревали 5 мин в термостате при температуре 55°С. Пробы хранили в холодильнике на -70°С до постановки обратной транскрипции. Так как в процессе выделения количество материала в пробах различается, пробы нормировали по концентрации мРНК. Для этого измеряли концентрацию тотальной РНК на спектрофотометре Thermo Scientific NanoDrop 2000. Постановка ОТ проводилась с помощью кита «Реверта» по следующей инструкции: а) к отобранным 10 мкл пробы добавляли 10 мкл РНК-элюента и 1 мкл Олиго-ДТ, прогревали 5 мин при температуре 70°С в амплификаторе и охлаждали 5 мин при температуре 10°С; б) в это время готовили смесь из расчёта на 1 пробу: 5х ОТ- Буфер (4 мкл), 5х dNTPmix (4 мкл), РНК-элюент (1,5 мкл), Ревертаза (0,5 мкл); в) добавляли в прогретую пробу по 11 мкл смеси и амплифицировали 45 мин при температуре 37°С; г) полученную обратную ДНК (кДНК) замораживали при температуре -70°С.

Для определения уровней экспрессии мРНК генов IL-1β, TNFα, iNOS, IBA-1 проводили ПЦР в режиме реального времени. Проведение полимеразной цепной реакции осуществляли на аплификаторе CFX96 Real-Time System производства BioRad. Для проведения ПЦР использовался коммерческий набор реактивов qPCRmix-23 HSSYBR-5x, содержащий Taq полимеразу, dNTP, буферный раствор и краситель SyberGreen в оптимальных для проведения ПЦР концентрациях. К 3 мкл полученной кДНК добавляли по 23 мкл следующей смеси: qPCRmix-HSSYBR (4 мкл), праймеры (по 25 п/моль в 4-х мкл прямого и обратного), вода RNA'sfree (10 мкл). После чего разделяли на повторности по 10 мкл и загружали в амплификатор. Используемые праймеры: IL-1β(F:TCTTCGAGGCACAAGGCA, R:AGAGGTCCAGGTCCTGGAA); TNFα (F:CCAGGTTCTCTTCAAGGGACAA, R:CTCCTGGTATGAAATGGCAAATC); iNOS (F:CAGAAGCAGAATGTGACCATCAT, R:CGGAGGGACCAGCCAAATC); IBA-1 (F:GAAGCGAATGCTGGAGAAAC, R:CCTCCAATTAGGGCAACTCA).

Результаты и обсуждения. При однократном интраперитонеальном введении ЛПС в дозе 1мг/кг веса животного уже через час после инъекции у животных наблюдалось повышение глубокой температуры тела в среднем на 2 градуса. Приведенная динамика температурного показателя свидетельствует о сильном иммунном ответе. Полученные данные представлены на рисунке 1.

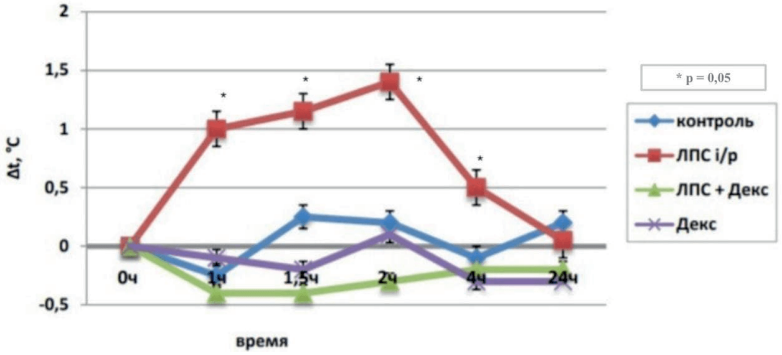


Рисунок 1. Динамика глубокой температуры тела крыс

В клетках стриатума в ответ на введение пресептической дозы ЛПС наблюдалось увеличение уровня мРНК IL-1b в 2 раза в группе с ЛПС по сравнению с контролем и дексаметазоном; а так же увеличение уровня мРНК TNFa в 2 раза по сравнению с контролем и дексаметазоном. При этом в группе Дексаметазон + ЛПС обнаружено повышение уровня мРНК TNFa в 1,5 раза по сравнению с контролем. В отношении изменения уровня мРНК iNOS в группе с введением ЛПС наблюдали рост показателя в 3 раза по сравнению с контролем и в 2 раза по сравнению с дексаметазоном. Достоверных изменений показателя IBA-1 в клетках стриатума выявлено не было (рис. 2). Полученные данные иллюстрируют воспалительный процесс в стриатуме крыс на 10 день эксперимента при введении пресептической дозы ЛПС. При этом, дексаметазон купирует развитие нейровоспаления у крыс. Учитывая, что активация микроглии на данном сроке эксперимента не обнаружена, можно предположить, что увеличение провоспалительных цитокинов в ЦНС объясняется активацией астроглии (маркеры активации астроглии не исследовали в этом эксперименте).

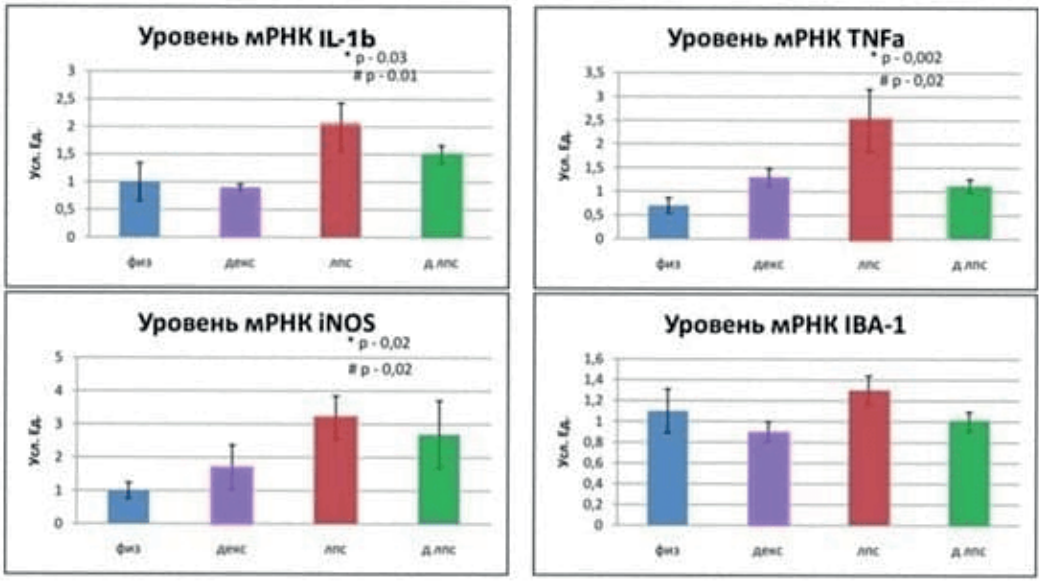


Рисунок 2. Уровень мРНК ,IL-1β, TNFα, iNOS и IBA-1 в стриатуме крыс через 10 дней после введение ЛПС

В клетках гиппокампа через 10 дней после начала эксперимента достоверных изменений не было обнаружено (рис. 3). Поскольку гиппокамп является «стресс-реактивной» структурой головного мозга, можно предположить, что изменения показателей нейровоспаления у крыс происходили на более ранних сроках.

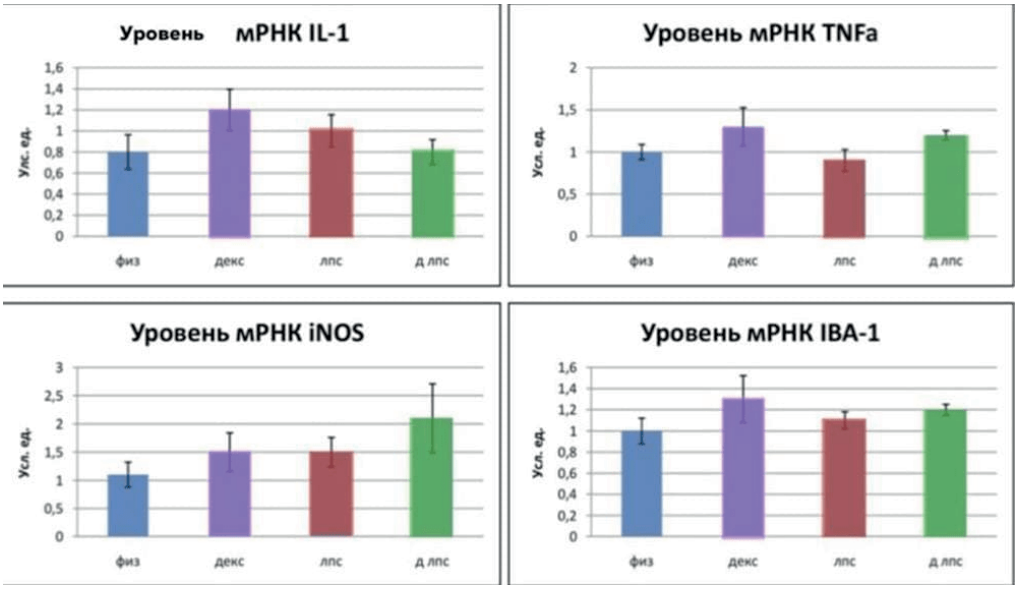


Рисунок 3. Уровень мРНК ,IL-1β, TNFα, iNOS и IBA-1 в гиппокампе крыс через 10 дней после введение ЛПС

Заключение. На основании выявленных показателей нейровоспаления после однократного системного введения дексаметазона при экспериментальной эндотоксинемии можно сделать вывод, что глюкокортикоиды препятствуют развитию воспаления в стриатуме крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Третьякова Л.В., Квичанский А.А. Анализ экспрессии мРНК генов, ассоциированных с нейровоспалением, при локальном введении дексаметазона в гиппокамп крысы // Сборник трудов XXIV научной школы-конференции молодых ученых по физиологии и высшей нервной деятельности и нейрофизиологии. 2020. 48-50 с.

2. Сурин А.М., Бакаева З.В. Исследование совместного действия липополисахарида E.coli и эксайтотоксических доз глутамата на нейроны в культуре // Научные труды V Съезда физиологов СНГ. V Съезда биохимиков России. Конференции ADFLIM. 2016. 2-5 с.

3. Intranasal delivery of dexamethasone efficiently controls LPS-induced murine neuroinflammation / G. Meneses [et al.] // Clin. Exp.Immunol. 2017. Vol. 190 P. 304-314. DOI:10.1111/cei.13018

4. Lana D., Ugolini F., Giovannini, M.G. An Overview on the Differential Interplay Among Neurons-Astrocytes-Microglia in CA1 and CA3 Hippocampus in Hypoxia // Ischemia. Frontiers in cellular neuroscience. 2020. Vol. 14. 585833. doi: 10.3389/fncel.2020.585833

5. Frank M.G., Watkins L.R., Maier S.F. The permissive role of glucocorticoids in neuroinflammatory priming: mechanisms and insights // Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes. 2015. Vol. 22(4). P. 300-305. doi: 10.1097/MED.0000000000000168.

SUMMARY

EFFECT OF DEXAMETHASONE ON THE SEVERITY OF NEUROINFLAMMATION IN RATS

Lebedeva E.Y., student 5 year of study
[1]**Arseniyev N.A.,** Ph.D., associate professor,
[2]**Maistrenko V.A**., junior researcher
[1]Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. Prof. Popova, 14, Russian Federation
[2]Institute of Experimental Medicine
197376, St. Petersburg, st. Academician Pavlova, 12, Russian Federation
E-mail: lebedeva.elena@pharminnotech.ru

A study was made of the effect of dexamethasone on the parameters of neuroinflammation in experimental endotoxemia. The introduction of lipopolysaccharide (LPS) led to an increase in the expression of messenger ribonucleic acid (mRNA) of the interleukin-1β (IL-1β), tumor necrosis factor-α (TNFα), and inducible NO-synthase (iNOS) genes in the rat striatum. We also showed that the administration of dexamethasone prevented the development of neuroinflammation in experimental endotoxemia**.**

Keywords: *neuroinflammation, dexamethasone, pro-inflammatory cytokines, hippocampus, striatum.*

REFERENCES

1. Tretyakova L.V., Kvichansky A.A. Analysis of mRNA expression of genes associated with neuroinflammation after local administration of dexamethasone into the rat hippocampus // Proceedings of the XXIV Scientific School-Conference of Young Scientists on Physiology and Higher Nervous Activity and Neurophysiology. 2020. 48-50 p. (in Russian)

2. Surin A.M., Bakaeva Z.V. Study of the joint action of E.coli lipopolysaccharide and excitotoxic doses of glutamate on neurons in culture // Scientific works of the V Congress of Physiologists of the CIS. V Congress of Biochemists of Russia. ADFLIM Conference. 2016. 2-5 p. (in Russian)

3. Intranasal delivery of dexamethasone efficiently controls LPS-induced murine neuroinflammation / G. Meneses [et al.] // Clin. Exp.Immunol. 2017. Vol. 190 P. 304-314. DOI:10.1111/cei.13018

4. Lana D., Ugolini F., Giovannini, M.G. An Overview on the Differential Interplay Among Neurons-Astrocytes-Microglia in CA1 and CA3 Hippocampus in Hypoxia // Ischemia. Frontiers in cellular neuroscience. 2020. Vol. 14. 585833. doi: 10.3389/fncel.2020.585833

5. Frank M.G., Watkins L.R., Maier S.F. The permissive role of glucocorticoids in neuroinflammatory priming: mechanisms and insights // Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes. 2015. Vol. 22(4). P. 300 - 305. doi: 10.1097/MED.0000000000000168.

УДК 61:615.06

НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ И РОЛЬ ФАРМАКОЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ ИССЛЕДОВАНИЙ В ИХ МОНИТОРИНГЕ

Литвиненко Т.С., заочный аспирант 3 года обучения,
кафедра фармакологии и клинической фармакологии РостГМУ
Руководители: **Сафроненко А.В.**, д.м.н., доцент, заведующий кафедрой фармакологии
и клинической фармакологии РостГМУ (ORCID: 0000-0003-4625-6186, ResearcherID ABB-4215-2021);
Ганцгорн Е.В., к.м.н., доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии РостГМУ,
(ORCID: 0000-0003-0627-8372, ResearcherID ABB-4254-2021)
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России
344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, Российская Федерация
E-mail: gantsgorn@inbox.ru

Данная работа посвящена актуальной проблеме фармакотерапии – нежелательным лекарственным реакциям (НЛР) и методикам их мониторинга. На сегодняшний день в России и за рубежом сложилась сложная ситуация по количеству, характеру и последствиям НЛР, что обусловливает необходимость поиска методологии рационального, персонализированного выбора тактики лечения и информативных методов мониторинга, обеспечивающих максимальную эффективность и безопасность фармакотерапии. В обзоре приведены представления о возможных причинах возникновения НЛР, распространенности в мире. Обозначены основные достоинства и недостатки наиболее эффективных фармакоэпидемиологических методов для мониторинга НЛР.

Ключевые слова: *фармакотерапия, нежелательные лекарственные реакции, безопасность лекарственных средств, фармаконадзо, фармакоэпидемиологические исследования.*

Активное развитие фармакологии в последние десятилетия позволило разработать и внедрить множество новых лекарственных средств (ЛС), с одной стороны, значительно расширивших фармакотерапевтические возможности, но, с другой стороны, и увеличивших риск нанесения вреда пациенту. Сама возможность осложнения лекарственной терапии – от незначительных и временных до необратимых и трагичных – обусловливает актуальность проблемы безопасности ЛС.

Целью представленного обзора стал анализ литературы по проблеме нежелательных лекарственных реакций (НЛР), их распространенности и методологических «инструментах» мониторинга в системе фармаконадзора. Был выполнен детальный анализ и обобщение современных данных, представленных в доступных источниках медицинской литературы в соответствии с заявленной целью исследования. Поиск информации проводился по базам eLIBRARY, Scopus, PubMed, Web of Science с использованием ключевых слов («нежелательные побочные реакции»/«undesirable adverse reactions», «безопасность лекарственных средств»/«drug safety», фармакоэпидемиологические исследования»/«pharmacoepidemiolo gy studies», «фармаконадзор»/«pharmacovigilance».

Проблема, связанная с лекарственной терапией, является одной из центральных с позиций Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). Она осложняется сенсибилизацией населения к различным веществам, нерациональным назначением ЛС, самолечением пациентов, а также применением некачественных лекарственных препаратов. Даже в развитых странах осложнения фармакотерапии развиваются у миллионов людей, а смертность в результате НЛР выходит на 4–5 место после сердечно-сосудистых, онкологических, бронхо-легочных заболеваний и травм [1].

Вопросы, ассоциированные с фармакотерапией, многообразны, а само понятие «осложнения лекарственной терапии» является собирательным. Оно включает в себя: НЛР организма на прием ЛС, осложнения, вызванные ошибками врачей (ятрогения) – неправильно подобранная доза, неправильно выбранная комбинация препаратов и т.д. [2].

ВОЗ определяет НЛР как любой непреднамеренный и вредный для организма человека эффект, возникший при приеме ЛС в обычных дозах с целью профилактики, лечения, диагностики или для изменения физиологических функций. По официальным данным, в мире ежегодно регистрируется до 2 млн. серьезных НЛР, из которых до 100-240 тыс. заканчиваются летальным исходом, а общая распространенность госпитализаций, вызванных осложнениями лекарственной терапии, колеблется от 2,3 до 21,2%, и значительная часть этих осложнений – потенциально предотвратима [3, 4, 5, 6].

На всех этапах обращения ЛС осуществляется непрерывный контроль их безопасности (фармаконадзор), предусматривающий выявление, прогнозирование и управление всеми потенциальными лекарственно-ассоциированными осложнениями фармакотерапии. Мониторинг безопасности ЛС необходим из-за потенциальных нарушений при производстве, хранении, транспортировке, а также неполной эквивалентности дженериков, наличия фальсификатов и других рисков [7, 8]. Кроме этого, существуют и индивидуальные характеристики пациентов (возраст, особенности метаболизма, сопутствующие заболевания, в том числе сердечно-сосудистой системы, печени, мочевыделительной системы, эндокринных желез и др.), которые также оказывают влияние на риск развития НЛР. Часто развитие НЛР связано с проблемой полипрагмазии, при которой риск НЛР вследствие межлекарственного взаимодействия возрастает в несколько раз. Иногда ЛС используются пациентами самостоятельно, поэтому часть НЛР связана с субъективным фактором. Зачастую развитию НЛР способствует недостаточная комплаентность пациентов, когда значимая часть рекомендаций врачей больными не соблюдается. Все эти факторы, в совокупности, обусловливают трудность прогнозирования и выявления НЛР [7].

Важнейшую роль в мониторинге НЛР играют методы фармакоэпидемиологических исследований. Изначально фармакоэпидемиология была сосредоточена на изучении безопасности отдельных ЛС (фармаконадзор), являясь основной наукой по

оценке терапевтического риска и эффективности мер по их минимизации, а также поддержания деятельности по управлению рисками. Однако на сегодняшний день, фармакоэпидемиология также является основной дисциплиной, которая изучает сравнительную эффективность (*comparative eff ectiveness research*) ЛС, используя строгие методы для сравнения результатов двух или нескольких терапевтических альтернатив. Кроме того, фармакоэпидемиологические исследования позволяют определить затраченные финансовые средства на лечение, в том числе расходы, связанные с развитием НЛР, поэтому их результаты можно использовать для дальнейшего анализа в клинико-экономических (фармакоэкономических) исследованиях [9].

В настоящее время существует широкое разнообразие методов, с помощью которых осуществляется мониторинг НЛР [10, 11, 12]:

- постмаркетинговые клинические исследования;
- активный мониторинг стационаров;
- метод спонтанных сообщений;
- когортные исследования;
- рецептурный мониторинг;
- литературный мета-анализ;
- учет медицинских записей о пациенте;
- исследование «случай-контроль»;
- метод «триггеров».

Выбор того или иного метода зависит от региональных особенностей территории (качество окружающей среды, развитость инфраструктуры региона, доступность в приобретении товаров и услуг), на которой осуществляется отслеживание, а также от целей и системности проводимых мероприятий.

Постмаркетинговые (пострегистрационные) клинические исследования

Постмаркетинговые клинические исследования фармакологических свойств лекарственных средств являются важной составляющей системы фармаконадзора, так как истинные эффективность, безопасность и специфические характеристики биотрансформации ЛС проявляются окончательно лишь в условиях его широкого применения. Основными целями таких исследований являются [2]:

1. Подтверждение эффективности препарата у более обширной популяции пациентов, чем позволяет III фаза клинических испытаний (так, в данную группу попадают пациенты различных возрастных подгрупп, с более широким спектром нозологий и разнообразием биохимических подтипов метаболизма).

2. Выявление дополнительных эффектов лекарственного препарата, что послужит основанием для продолжения клинических исследований;

3. Изучение безопасности лекарственного препарата в клинической практике;

4. Оценка прочих параметров лечения: сроки назначаемой терапии, взаимодействие с другими препаратами или продуктами питания, экономические показатели и отдалённые результаты лечения.

Пострегистрационные клинические исследования наиболее благоприятны для изучения безопасности новых ЛС, для которых есть возможность получить более точные данные, чем данные полученные при регистрации спонтанных сообщений. Также к преимуществам постмаркетинговых испытаний можно отнести то, что популяция пациентов ограничивается только противопоказаниями, указанными в инструкции к препарату, также происходит ознакомление широкого круга врачей с препаратами, происходит их продвижение. В конце концов, пострегистрационные клинические исследования играют важную роль в дальнейшем понимании профиля безопасности ЛС [13].

В России существуют ряд трудностей в сборе информации по безопасности в пострегистрационных исследованиях, в частности: отсутствие локальных директив по планированию и проведению таких исследований; низкая заинтересованность и незаинтересованность исследователей в передаче информации по безопасности ЛС; зачастую пациенты консультируются одновременно у нескольких врачей, либо «назначают» себе ЛС самостоятельно [14].

Активный мониторинг стационаров

Данный метод основан на анализе всего спектра информации (анамнез жизни и заболевания, социальные и демографические условия существования) о пациентах одного или нескольких стационаров. При этом мониторирование затрагивает всех пациентов, все назначаемые лекарственные средства и все возможные НЛР. Мониторинг осуществляется в условиях стационара, или при регулярных визитах пациента в лечебное учреждение [11].

К положительным аспектам данного метода можно отнести то, что исследователи в данных условиях работают непосредственно с медицинской документацией и медицинскими работниками, поэтому вероятность того, что информация, полученная об НЛР будет более достоверна, чем, например, при спонтанных сообщениях; данный метод позволяет применять клинические критерии для отбора пациентов, также есть возможность производить учет всех принимаемых ЛС,

Однако, есть и ряд недостатков: дороговизна, трудоемкость, зачастую ограниченные сроки, а также постоянная необходимость выделения нескольких штатных единиц высокопрофессиональных клиницистов, обладающих знаниями в области фармакологической безопасности, так как качественный мониторинг требует глубокого анализа как общего состояния пациентов, так и многочисленных результатов дополнительных методов исследования [10].

Метод спонтанных сообщений

Среди наиболее значимых методов регистрации НЛР – метод спонтанных сообщений – добровольное или установленное уполномоченным федеральным органом исполнительной власти предоставление информации о нежелательной побочной реакции регуляторным органам. С законодательной точки зрения, несообщение или сокрытие сведений о данных по безопасности на лекарственные средства влечет наступление административной и уголовной ответствен-

ности в соответствии с законодательством Российской Федерации. Спонтанное сообщение – это информация, которая направляется медицинским работником, пациентом или потребителем в адрес уполномоченного органа государства-члена, держателя регистрационного удостоверения или другой организации (например, региональный центр, токсикологический центр), описывающая одну или более предполагаемую НЛР [7].

Реализация сбора данных о спонтанных сообщениях осуществляется Росздравнадзором. Так, врачи, выявившие у своих пациентов возможную НЛР или недостаточный терапевтический эффект ЛС, заполняют извещение и в кратчайшие сроки (не позднее 15 календарных дней со дня, когда стала известна соответствующая информация – для рациональной оценки сроков и условий развития НЛР) направляют его уполномоченному по фармаконадзору.

Важным этапом регистрации НЛР является установление причинно-следственной связи между применением ЛС и нежелательным явлением. Реакция считается связанной с лекарственным препаратом, если причинно-следственную связь нельзя исключить.

Степени достоверности причинно-следственной связи Упсальского Центра мониторинга ВОЗ (*WHO-UMC*) [1, 15]:

1. Определенная причинно-следственная связь:

• клиническая и лабораторная картина нежелательной реакции развивается во время приема лекарственного препарата;

• возникновение реакции не объясняется анамнезом жизни, заболевания, коморбидным статусом пациента;

• симптомы НЛР исчезают на фоне отмены лекарственного препарата, а после его повторного назначения наблюдается рецидив реакции;

2. Вероятная причинно-следственная связь:

• клиническая и лабораторная картина нежелательной реакции имеет временную корреляцию с приемом препарата (симптомы возникают в период приема препарата);

• развитие НЛР скорее всего не связано с сопутствующими хроническими заболеваниями, или другими внутренними факторами;

• наблюдается спад реакции после отмены препарата, однако ответная реакция на повторное назначение неизвестна;

Можно выделить следующие достоинства и недостатки метода спонтанных сообщений:

Достоинства: простота реализации метода; спонтанные сообщения позволяют выявить отсроченные и непредвиденные НЛР, определить их механизм и группу риска при сопоставлении с данными о выписке рецептов и продаже лекарственных препаратов, выявить внезапные летальные исходы; этот метод отличается экономической доступностью (в случае ведения компьютерной базы данных), его также можно сочетать с другими методами.

Недостатки: низкая активность врачей и провизоров (нехватка времени, недооценивание значимости проблемы), недостаточное число поступающих сообщений (как следствие – невозможность выявления всего спектра НЛР), затруднение интерпретации данных вследствие малой информативности некоторых регистрируемых сообщений (отсутствие или плохое качество необходимой информации о возможном случае НЛР), нехватка знаний об особенностях лекарственных взаимодействий, трудности в установлении причинно-следственной связи между применением препарата и развитием НЛР, отсутствие возможности определять истинную частоту НЛР, метод также неэффективен в отношении выявления отсроченных реакций [7].

Когортные исследования

Суть метода заключается в выделении группы людей (когорты), которую наблюдают в течение определенного промежутка времени. Часть когорты подвергается действию какого-либо фактора (в данном случае – применение ЛС), а другая – нет. Таким образом, формируются две субкогорты, в которых к концу установленного периода наблюдения определяют частоту изучаемых исходов и проводят их сравнение.

Достоинства когортных исследований: позволяют выявить риск возникновения и частоту НЛР, абсолютный и относительный риск, выявить силу связи между фактором риска и исходом (причинно-следственная связь), выявить непосредственно факторы риска и взаимодействия, возможность регистрировать одновременно большое количество различных НЛР, достаточно высокая доказательная способность и низкая вероятность систематических ошибок при правильном осуществлении методологии.

Недостатки когортных исследований: финансовая затратность, трудоемкость, длительный период наблюдения [10, 14].

Рецептурный мониторинг

В основе данного метода лежит учет лекарственных назначений, который ведется по числу выписанных рецептов на тот или иной препарат. При этом учитываются все клинические явления, возникающие на фоне приема данного ЛС. Данный метод применяется преимущественно в тех случаях, когда исследуется новый препарат, когда регистрируется и в последующем мониторируется каждый пациент, получающий терапию.

В отличие от постмаркетинговых исследований, рецептурный мониторинг имеет значительно более упрощенную систему – нет протокола с критериями «включения/исключения», информированного согласия и др.

Данный метод экономически доступен, имеет систематический, а не спонтанный характер, способствует активному вовлечению в исследовательский процесс врачей, мотивирует их на получение знаний и участие в фармаконадзоре. При этом нельзя не отметить, что в случае рецептурного мониторинга отсутствуют группы сравнения, часто характерно длительное получение первых результатов (до 12 месяцев), ограниченное число наблюдений и слабое выявление редких НЛР (<1%) [11].

Литературный мета-анализ

В основе мета-анализа нежелательных побочных реакций лежит ретроспективное исследование. Суть метода заключается в анализе и объединении результатов двух или более исследований, посвященных определению эффективности ЛС, выявлению НЛР или определению частоты их развития, что дает возможность нарастить статистическую точность и мощность ре-

зультатов, полученных в ходе отдельных анализируемых исследований. Мета-анализ позволяет эффективно работать в условиях избытка информации, может обнаруживать систематические ошибки, определяет причины вариабельности результатов различных исследований, обладает высокой статистической достоверностью. Однако, проведение анализа может значительно усложнять неоднородность различных исследований за счет разного уровня организации и выбранной методологии [2].

Учет медицинских записей о пациенте

Под записями о пациенте понимается данные анамнеза заболевания, дневники курации, показания и назначения всех ЛС, дозировка и длительность фармакотерапии, клинические исходы и т.д. К возможностям этого метода относятся выявление и определение частоты развития НЛР, возникающие через месяцы и годы (отсроченные НЛР) после применения ЛС, регистрация непредвиденных НЛР. В условиях наличия электронной базы данных метод приобретает экономическое преимущество. Однако, качество и достоверность информации, полученной в ходе анализа медицинской документации, не всегда соответствуют стандарту, что может снижать статистическую значимость полученных данных. Также данный метод предполагает длительный мониторинг (на протяжении всей жизни пациента), что в некоторых случаях приводит к значительной продолжительности исследования и, как следствие, отсроченности принятия решений [3].

Исследование «случай-контроль»

Целью данного метода исследования является изучение связей между приемом того или иного лекарственного препарата и интересующей исследователя НЛР. Исследование протекает по ретроспективному сценарию, то есть итоговые субкогорты включают с одной стороны участников исследования, у которых развилась НЛР («случаи»), а с другой – участников без данной реакции («контроли»). В ходе самого же исследования изучается информация о наличии или отсутствии факта применения ЛС («фактор риска») среди «случаев» и «контролей» [15, 16, 17].

Метод «случай-контроль» выявляет редкие, серьезные НЛР, а также НЛР в результате длительного применения лекарственного препарата с длительным латентным периодом. Он не отличается дороговизной, малопродолжителен, а в случае адекватного подбора контрольной группы мало отличается по своей ценности от когортных исследований (которые в свою очередь гораздо более трудоемки и затратны) [15]. К недостаткам можно отнести высокую вероятность систематических ошибок, сложность подбора контрольной группы, возможность изучения только конкретные НЛР и нозологий, ограниченные возможности установления временной последовательности событий, невозможность определения частоты возникновения НЛР.

Метод «триггеров»

Начиная с 2003 г. Институтом совершенствования здравоохранения США разрабатывается метод «глобальной оценки триггеров» (Global Trigger Tool, GTT). Данный метод предполагает ретроспективный анализ случайной выборки историй болезни пациентов, завершивших лечение в стационаре, в ходе которого можно выявить осложнения лечения, НЛР с последующей оценкой характера и тяжести причиненного вреда здоровью пациента. Триггеры – формальные признаки, указывающие на возможное состоявшееся нежелательное событие, например: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) >100 сек. (нарушение свертываемости крови); глюкоза <2,8 ммоль/л (лекарственно-индуцированные гипогликемии) и др.[10]. К достоинствам данного метода можно отнести возможность выявлять фактические ошибки применения ЛС, а также возможность автоматизировать данный процесс. Однако, есть ограничения в виде необходимого высокого уровня электронного документооборота в медицинской организации, который не всегда присутствует, а также используемые триггеры ограничивают типы выявляемых НЛР.

В настоящее время в РФ активность всех субъектов обращения ЛС по выявлению и предоставлению информации о НПР остается на недостаточном уровне. Эффективное функционирование системы фармаконадзора затрудняют, в первую очередь, такие факторы, как: недостаточный уровень информированности медицинских работников по вопросам фармаконадзора, низкое качество заполнения спонтанных сообщений по безопасности ЛС, недооценка роли пациентов в системе мониторинга безопасности ЛС.

Таким образом, актуальными, на наш взгляд, аспектами научно-практического интереса для медицины в целом и фармакологии, в частности, являются поиск и разработка новых подходов к оценке профиля безопасности лекарственных средств, в том числе с использованием возможностей фармакоэпидемиологического анализа.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31. Фармакология

76.31.29 Клиническая фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. http://www.who.int/medicines/areas/rational_use/ru.

2. Глаголев С.В., Горелов К.В., Чижова Д.А. Развитие системы фармаконадзора в Российской Федерации. Вестник Росздравнадзора. 2019. N 2. P. 72–7.

3. О зарегистрированных в постмаркетинговый период нежелательных реакциях лекарственных средств / Е.В. Шубникова [и др.] // Безопасность и риск фармакотерапии. 2019. Т. 7. N 1. С. 15–22. https://doi.org/10.30895/2312-7821-2019-7-1-15-22

4. The incidence, nature and consequences of adverse events in Iranian hospitals / A. Akbari Sari [et al.] // Arch Iran Med. 2015. Vol. 18(12). P. 811–815.

5. Incidence of hospital admissions due to adverse drug reactions in France: the EMIR study / A. Bénard-Laribière [et al.] // Fundam Clin Pharmacol. 2015. Vol. 29(1). P. 106–111. doi: 10.1111/fcp.12088.

6. Prevalence, risk factors and main features of adverse drug reactions leading to hospital admission / C. Pedrós [et al.] // Eur J Clin Pharmacol. 2014. Vol. 70(3). P. 361–367. doi: 10.1007/s00228-013-1630-5.

7. Актуальные вопросы безопасности лекарственных средств, возможности совершенствования системы фармаконадзора / М.В. Журавлева [и др.] // Безопасность и риск фармакотерапии. 2019. Т. 7. N 3. С. 109–119. https://doi.org/10.30895/2312-7821-2019-7-3-109-119.

8. Лекарственно-индуцированные гипогликемии: фокус на препараты, не относящиеся к группе сахароснижающих лекарственных средств / О.Д. Остроумова [и др.] // Consilium Medicum. 2019. Т. 21. N 4. С. 59-65. DOI: 10.26442/20751753.2019.4.190196

9. Современные подходы к сбору и репортированию информации о побочном действии лекарственных средств / К.Э. Затолочина [и др.] // Безопасность и риск фармакотерапии. 2017. Т. 5. N 1.

10. Белоусов Д.Ю., Чеберда А.Е. Фармакоэпидемиологические исследования: методология и регулирование // Качественная клиническая практика. 2017. N 1.

11. Лилеева Е.Г., Мирошников А.Е. Основные методы фармакоэпидемиологического и фармакоэкономического анализа: практическое применение // Актуальные проблемы медицины в России и за рубежом. 2016. С. 235-241.

12. Strom B.L. What is pharmacoepidemiology? // Pharmacoepidemiology. 2019. P. 1-26.

13. Белоусов Д.Ю. Пострегистрационные клинические исследования // Качественная клиническая практика. 2017. N 1. С. 20-23.

14. Актуальные вопросы безопасности лекарственных средств, возможности совершенствования системы фармаконадзора / М.В. Журавлева [и др.] // Безопасность и риск фармакотерапии. 2019. Т. 7. N 3. С. 109–119. https://doi.org/10.30895/2312-7821-2019-7-3-109-119

15. Fall-risk-increasing adverse reactions-is there value in easily accessible drug information? A case-control study / S. Schiek [et al.] // Eur J Clin Pharmacol. 2019. Vol. 75(6). P. 849-857. doi: 10.1007/s00228-019-02628-x.

16. A systematic review of observational studies evaluating costs of adverse drug reactions / F. B. Marques [et al.] // ClinicoEconomics and outcomes research. 2016. Vol. 8. P. 413. doi: 10.2147/CEOR.S115689.

17. The economic burden of preventable adverse drug reactions: a systematic review of observational studies / D. Formica [et al.] // Expert opinion on drug safety. 2018. Vol. 17(7). P. 681-695. doi: 10.1080/14740338.2018.1491547.

SUMMARY

ADVERSE DRUG REACTIONS AND THE ROLE OF PHARMACOEPIDEMIOLOGICAL STUDIES IN THEIR MONITORING

Litvinenko T.S., 3-year postgraduate, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology of Rostov State Medical University

Scientific supervisors: **Safronenko A.V.**, MD, Associate Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Rostov State Medical University (ORCID: 0000-0003-4625-6186, ResearcherID ABB-4215-2021);

Gantsgorn E.V., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Rostov State Medical University (ORCID: 0000-0003-0627-8372, ResearcherID ABB-4254-2021)

Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia

344022, Rostov-on-Don, Nakhichevansky, 29, Russian Federation

E-mail: gantsgorn@inbox.ru

This work is devoted to the actual problem of pharmacotherapy – adverse drug reactions (ADRs) and methods for their monitoring. Today, in Russia and abroad, a difficult situation has developed in terms of the number, nature and consequences of ADRs, which necessitates the search for a methodology for a rational, personalized choice of treatment tactics and informative monitoring methods that ensure maximum efficacy and safety of pharmacotherapy. The review provides ideas about the possible causes of ADR occurrence, prevalence in the world. The main advantages and disadvantages of existing pharmacoepidemiological methods for monitoring ADRs are outlined.

Keywords: *pharmacotherapy, adverse drug reactions, drug safety, pharmacovigilance, pharmacoepidemiological studies.*

REFERENCES

1. http://www.who.int/medicines/areas/rational_use/ru.

2. Glagolev S.V., Gorelov K.V., Chizhova D.A. Razvitie sistemy farmakonadzora v Rossijskoj Federacii. Vestnik Roszdravnadzora. 2019. N 2. P. 72–7. (In Russian).

3. O zaregistrirovannyh v postmarketingovyj period nezhelatel'nyh reakciyah lekarstvennyh sredstv / E.V. SHubnikova [et al.] // Bezopasnost' i risk farmakoterapii. 2019. Vol. 7(1). P. 15–22. (In Russian) https://doi.org/10.30895/2312-7821-2019-7-1-15-2.

4. The incidence, nature and consequences of adverse events in Iranian hospitals / A. Akbari Sari [et al.] // Arch Iran Med. 2015. Vol. 18(12). P. 811–815.

5. Incidence of hospital admissions due to adverse drug reactions in France: the EMIR study / A. Bénard-Laribière [et al.] // Fundam Clin Pharmacol. 2015. Vol. 29(1). P. 106–111. doi: 10.1111/fcp.12088.

6. Prevalence, risk factors and main features of adverse drug reactions leading to hospital admission / C. Pedrós [et al.] // Eur J Clin Pharmacol. 2014. Vol. 70(3). P. 361–367. doi: 10.1007/s00228-013-1630-5.

7. Aktual'nye voprosy bezopasnosti lekarstvennyh sredstv, vozmozhnosti sovershenstvovaniya sistemy farmakonadzora [Topical issues of drug safety, possibilities of improving of pharmacovigilance] / M.V. ZHuravleva [et al.] // Bezopasnost' i risk farmakoterapii [Safety and risk of pharmacotherapy]. 2019. Vol. 7(3). P. 109–119. (In Russian) https://doi.org/10.30895/2312-7821-2019-7-3-109-119.

8. Lekarstvenno-inducirovannye gipoglikemii: fokus na preparaty, ne otnosjashhiesja k gruppe saharosnizhajushhih lekarstvennyh sredstv / O.D. Ostroumova [et al.] // Consilium Medicum. 2019. N 4. (In Russian)

9. Sovremennye podhody k sboru i reportirovaniju informacii o pobochnom dejstvii lekarstvennyh sredstv / K.Je. Zatolochina [et al.] // Bezopasnost' i risk farmakoterapii. 2017. N 1. (In Russian)

10. Belousov D. Ju., Cheberda A. E. Farmakojepidemiologicheskie issledovanija: metodologija i regulirovanie // Kachestvennaja klinicheskaja praktika. 2017. N 1. (In Russian)

11. Lileeva E.G., Miroshnikov A.E. Osnovnye metody farmakojepidemiologicheskogo i farmakojekonomicheskogo analiza: prakticheskoe primenenie // Aktual'nye problemy mediciny v Rossii i za rubezhom. 2016. P. 235-241. (In Russian)

12. Strom B.L. What is pharmacoepidemiology? // Pharmacoepidemiology. 2019. P. 1-26.

13. Belousov D.Ju. Postregistracionnye klinicheskie issledovanija // Kachestvennaja klinicheskaja praktika. 2017. N 1. P. 20-23. (In Russian)

14. Aktual'nye voprosy bezopasnosti lekarstvennyh sredstv, vozmozhnosti sovershenstvovaniya sistemy farmakonadzora / M.V. ZHuravleva [et al.] // Bezopasnost' i risk farmakoterapii. 2019. Vol. 7(3). P. 109–119. (In Russian) https://doi.org/10.30895/2312-7821-2019-7-3-109-119.

15. Fall-risk-increasing adverse reactions-is there value in easily accessible drug information? A case-control study / S. Schiek [et al.] // Eur J Clin Pharmacol. 2019. Vol. 75(6). P. 849-857. doi: 10.1007/s00228-019-02628-x.

16. A systematic review of observational studies evaluating costs of adverse drug reactions / F. B. Marques [et al.] // ClinicoEconomics and outcomes research. 2016. Vol. 8. P. 413. doi: 10.2147/CEOR.S115689.

17. The economic burden of preventable adverse drug reactions: a systematic review of observational studies / D. Formica [et al.] // Expert opinion on drug safety. 2018. Vol. 17(7). P. 6

УДК 61:616-084

ВЛИЯНИЕ *9-ФЕНИЛ-2,3,4,5,6,7,8,9-ОКТАГИДРО-1Н-СЕЛЕНОКСАНТЕНА* НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ ЖИВОТНЫХ В ТЕСТЕ «ТРЕХНАГРУЗОЧНАЯ ПЛАВАТЕЛЬНАЯ ПРОБА»

Матузок Т.М., аспирант 1 года обучения
Научный руководитель: **Буюклинская О.В.**, доктор медицинских наук, доцент (ORCID: 0000-0002-4453-1079)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14А, Российская Федерация
E-mail: matuzok.tatyana@pharminnotech.com

Проведена оценка влияния *9-фенил-2,3,4,5,6,7,8,9-октагидро-1Н-селеноксантена* на процессы восстановления при физических нагрузках в тесте «Трехнагрузочная плавательная проба». Установлено, что 9-фенил-2,3,4,5,6,7,8,9-октагидро-1Н-селеноксантен при однократном внутрижелудочном введении мышам в дозе 1250 мг/кг не оказывал статистически значимого увеличения выносливости животных.

Ключевые слова: *9-фенил-2,3,4,5,6,7,8,9-октагидро-1Н-селеноксантен; трехнагрузочная плавательная проба, физическая работоспособность; восстановительные процессы.*

Применение препаратов, расширяющих функциональные возможности организма неуклонно расширяется. Одним из основных классов фармакологических средств, используемых для этого являются адаптогены. Они используются как в рамках задач валеофармакологии, так и для коррекции неблагоприятных нарушений адаптации после различных повреждений организма. Также средства, повышающих физическую работоспособность и ускоряющие восстановление после физических нагрузок, находят активное применение в спортивной медицине [1,2].

Одной из наиболее хорошо изученных групп препаратов, используемых для повышения физической работоспособности, являются синтетические адаптогены [3,4]. Однако, в связи с тем, что на фармацевтическом рынке практически не осталось реально выпускаемых препаратов этой группы, поиск новых молекул, обладающих актопротекторным действием, представляется актуальным. Одним из перспективных соединений для изучения в качестве адаптогена представляется *9-фенил-2,3,4,5,6,7,8,9-октагидро-1Н-селеноксантен* (селеноксантен), у которого ранее было обнаружено антиоксидантное, дезинтоксикационное, иммуностимулирующее, антиатерогенное, анаболическое, репаративное и радиопротекторное действие [5,6]. Однако, влияние этого фармакологического агента на физическую работоспособность не описано, что стало предметом исследований в настоящей работе.

Целью данного исследования явилась оценка влияния селеноксантена на физическую работоспособность мышей в тесте «Трехнагрузочная плавательная проба» при однократном внутрижелудочном введении.

Исследование было проведено в соответствии с Приказом МЗ РФ №199н от 01.04.16 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» в Центре экспериментальной фармакологии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. Эксперимент выполнен на 40 белых беспородных мышах-самцах массой 18-26 г, полученных из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская обл., РФ) и прошедших карантин в течение 14 дней. Мыши получали корм «Полнорационный комбикорм для лабораторных животных» (ООО «Лабораторкорм», РФ) и воду, соответствующую требованиям ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая». Доступ к корму и воде был обеспечен *ad libitum*. Непосредственно перед началом исследования животные были рандомизированы методом случайных чисел на 4 группы: контрольная группа (группа 1, NaCl 0,9 % – 02 мл, n = 10), исследуемый препарат – селеноксантен (группа 2; 25 % от LD50, что составляло 1250 мг/кг, n = 10), препарат сравнения №1 – этилтиобензимидазола гидрохлорид (ЭТБИХ) (группа 3; 25 мг/кг, n = 10) и препарат сравнения №2 – этилтиобензимидазола фумарат (ЭТБИФ) (Группа 4; 25 мг/кг, n = 10). Выбор препаратов сравнения и их доз был обусловлен ранее опубликованными данными об их актопротекторной активности [7]. Выбор дозы селеноксантена основывался на рекомендациях по первичной оценке фармакологического вещества, повышающего физическую работоспособность и данных о среднесмертельной дозе (LD50) селенокса [8,9]. Все субстанции водили перорально с помощью внутрижелудочного зонда за 45 минут до начала эксперимента.

Селеноксантен синтезирован и предоставлен Научно-исследовательским центром «Парк Активных Молекул», г. Обнинск. Препараты сравнения №1 и №2 были синтезированы на кафедре органической химии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Исследование проводили в плавательной установке – бассейне, с характеристиками: объем – 200 л; высота – 40 см; ширина – 35 см; длина – 80 см. Внутри бассейна встроен контур из оргстекла: высота – 30 см, ширина – 30 см, длина 75 см, разделяющий пространство бассейна на 10 равных ячеек (15х15 см каждая). Температура воды постоянно поддерживалась на термонейтральном уровне в диапазоне 22-27 °С. Бассейн был заполнен на 2/3 десатурированной, предварительного отстоянной водой.

Тест «Трехнагрузочная плавательная проба» проводился в 3 этапа (плавательные пробы) с грузом 10 % относительно массы тела каждого животного; груз крепился в области межреберья мышей с помощью специального механизма. В каждом из этапов животное помещалось в отдельный отсек плавательной установки и одновременно включался секундомер [10]. Критерий окончания – погружение животного на дно бассейна без плавательных движений или неудачной попытки всплыть на поверхность за период более 3 секунд. Животное извлекали из бассейна, обсушивали мягкой тканью и помещали в специальную клетку. Вторую пробу начинали строго спустя 5 минут отдыха животного после проведения первого этапа, а третью – через 45 минут после извлечения мыши из воды по окончании второго этапа.

Для оценки влияния селеноксантена на физическую работоспособность определяли значение индекса пробы (ИП).

ИП рассчитывали по формуле:

$$ИП = \frac{t_3}{t_1},$$

где t_1 – время, затраченное на выполнение нагрузки 1 этапа; t_3 – время, затраченное на выполнение нагрузки 3 этапа.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программного обеспечения Prism 9.3.1 (GraphPad Software, США) методами непараметрического анализа с использованием одностороннего дисперсного анализа. Уровень доверительной вероятности был задан равным 95 %. Числовые данные, приводимые в таблице, представлены в виде средней арифметической (M) ± ошибки среднего арифметического (m).

Проведенными исследованиями было установлено, что селеноксантен повышал выносливость животных при выполнении первой нагрузки по сравнению с показателем в контрольной группе (группа 1) на 52,1 % (таблица 1). Однако, статистической значимости эти изменения не достигли. При этом выносливость животных в первой плавательной пробе при введении селеноксантена была значительно меньше таковой относительно ЭТБИФ – препарата сравнения №1. Селеноксантен увеличивал время плавания животных во второй нагрузочной пробе по сравнению с показателем в контрольной группе в 2,5 раза, при этом физическая работоспособность (восстановление) равнялась показателю ЭТБИФ.

Таблица 1 – Влияние селеноксантена на физическую работоспособность мышей в тесте «Трехнагрузочная плавательная проба» (n = 40)

Группа	t_1, с	t_2, с	t_3, с	ИП, усл. ед
Контрольная группа	186±29	20,6±6	50,2±4	0,27
ЭТБИХ, 25 мг/кг	283±24[1]	52,8±6	160,4±18[1]	0,57
ЭТБИФ, 25 мг/кг	581±80[1,2]	83±25[1]	296±33[1,2]	0,51
Селеноксантен 1250 мг/кг	335±91	55±19	86±22[3]	0,26

Примечание: 1 – значимые различия с показателями контрольной группы (P<0.05); 2 – значимые различия с показателями группы ЭТБИХ (P < 0.05); 3 – значимые различия с показателями группы ЭТБИФ (P < 0.05).

Селеноксантен не влиял на процессы первой фазы восстановления, т.к. ИП в контрольной группе равен 0,27, что не отличалось от показателя в группе животных, получавших селеноксантен; при этом ИП испытуемого соединения был в 2 раза ниже ИП препаратов сравнения.

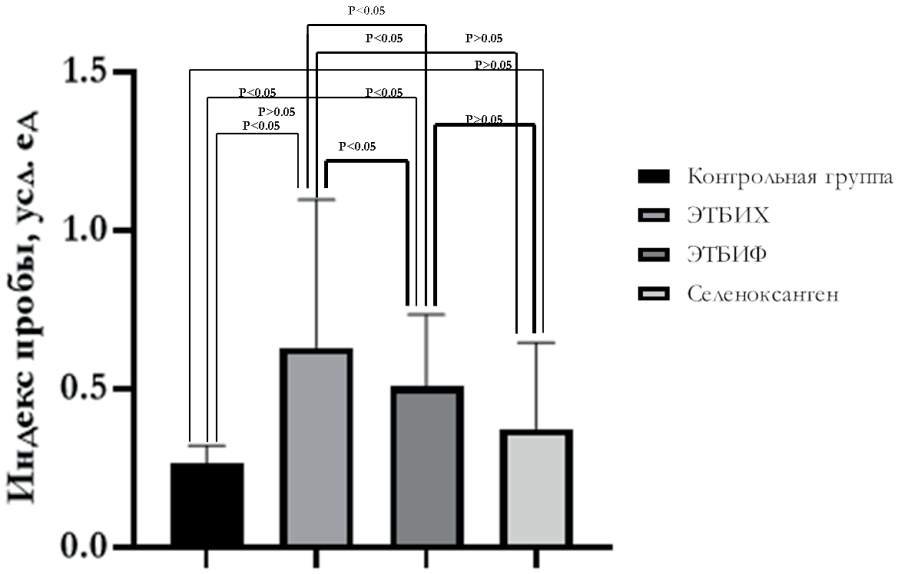


Рисунок. Индекс пробы в различных группах животных

Таким образом, селеноксантен в дозе 1250 мг/кг при однократном внутрижелудочном введении мышам не оказывал статистически значимого влияния на процессы восстановления после выполнения теста «Трехнагрузочная плавательная проба»: индекс пробы не превышал этот показатель в контрольной группе животных и был в 2 раза ниже относительно ИП в группе животных, получавших препараты сравнения. Однако в связи с тем, что селеноксантен оказывал положительное влияние на выносливость мышей после первого этапа теста и снижал истощение физической работоспособности на втором этапе пробы, целесообразным является оценка влияния изучаемого соединения в условиях его курсового применения.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

12.41.45 Связь науки с практикой, внедрение научных достижений
76.35.41 Спортивная медицина и врачебный контроль
76.35.31 Военная медицина и медицинская служба гражданской обороны
76.31.00 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Очерки спортивной фармакологии / Н.Н. Каркищенко [и др.] // Векторы фармакопротекции. СПб.: Айсинг, 2014. Т. 2. 448 с.

2. Оковитый С.В., Шустов Е.Б., Болотова В.Ц. Работоспособность. Утомление. Коррекция. М.: КноРус. 2019, 330 с.

3. Очерки спортивной фармакологии. Т 3. / Н.Н. Каркищенко [и др.] // Векторы фармакорегулирования. СПб: Айсинг, 2014. 356 с.

4. Оковитый С.В. Актопротекторы как синтетические адаптогены нового поколения // Психофармакология и биологическая наркология. 2003. Т. 3. N 1-2. С. 510-516.

5. Влияние синтетического бета-каротина на первичный иммунный ответ мышей линии СВА / О.В. Буюклинская [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 1993. Т. 56. N 1. С. 49-51.

6. Буюклинская О.В., Ходасевич Л.С., Крылов И.А. Превентивное действие каротинсодержащих препаратов на модели острого гастрита // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2001. Т. 64. N 1. С. 53-56.

7. Оковитый С.В., Радько С.В. Влияние различных фармакологических веществ на восстановление физической работоспособности после нагрузок в эксперименте // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018. Т. 81. N 4. С. 28-32. DOI 10.30906/0869-2092-2018-81-4-28-32.

8. Токсические свойства новой фармацевтической субстанции Селенокс® для реализации репродуктивной функции / К.Т. Еримбетов [и др.] // Парк активных молекул. 2021. N 4. С. 13 – 25.

9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / А.Н. Миронов [и др.] М.: Гриф и К, 2012. 944 с.

10. Методические рекомендации по биомедицинскому (доклиническому) изучению лекарственных средств, влияющих на физическую работоспособность / Н.Н. Каркищенко [и др.] М.: ФМБА России. 2017. 134 с.

SUMMARY

INFLUENCE OF 9-PHENYL-2,3,4,5,6,7,8,9-OCTAHYDRO-1H-SELENOXANTHENE ON THE RESTORATION OF THE PHYSICAL PERFORMANCE OF ANIMALS IN THE «THREE LOAD SWIMMING TEST»

Matuzok T.M., 1st year postgraduate student

Academic advises: **Buyuklinskaya O.V.**, Doctor of medical sciences, Associate Professor (ORCID: 0000-0002-4453-1079)

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation

E-mail: matuzok.tatyana@pharminnotech.com

The effect of 9-phenyl-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydro-1H-selenoxanthene on the recovery processes during physical exertion in the «Three-load swimming test» was evaluated. It was found that 9-phenyl-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydro-1H-selenoxanthene, after a single intragastric administration to mice at a dose of 1250 mg/kg, did not have a statistically significant increase in the endurance of animals.

Keywords: *9-phenyl-2,3,4,5,6,7,8,9-octahydro-1H-selenoxanthene; three-load swimming test, physical performance; recovery processes.*

REFERENCES

1. Ocherki sportivnoj farmakologii / N.N. Karkishhenko [et al.] // Vektory farmakoprotekcii. Saint-Petersburg: Ajsing, 2014. Vol. 2. 448 p. (in Russian)
2. Okovityj S.V., Shustov E.B., Bolotova V.C. Rabotosposobnost'. Utomlenie. Korrekcija. Moacow: KnoRus, 2019. 330 p. (in Russian)
3. Ocherki sportivnoj farmakologii. T 3. / N.N. Karkishhenko [et al.] // Vektory farmakoregulirovanija. Saint-Petersburg: Ajsing, 2014. 356 p. (in Russian)
4. Okovityj S.V. Aktoprotektory kak sinteticheskie adaptogeny novogo pokolenija // Psihofarmakologija i biologicheskaja narkologija. 2003. Vol. 3(1-2). P. 510-516. (in Russian)
5. Vlijanie sinteticheskogo beta-karotina na pervichnyj immunnyj otvet myshej linii SVA / O.V. Bujuklinskaja [et al.] // Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 1993. Vol. 56(1). P. 49-51. (in Russian)
6. Bujuklinskaja O.V., Hodasevich L.S., Krylov I.A. Preventivnoe dejstvie karotinsoderzhashhih preparatov na modeli ostrogo gastrita // Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 2001. Vol. 64(1). P. 53-56. (in Russian)
7. Okovityj S.V., Rad'ko S.V. Vlijanie razlichnyh farmakologicheskih veshhestv na vosstanovlenie fizicheskoj rabotosposobnosti posle nagruzok v jeksperimente // Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 2018. Vol. 81(4). P. 28-32. DOI 10.30906/0869-2092-2018-81-4-28-32. (in Russian)
8. Toksicheskie svojstva novoj farmacevticheskoj substancii Celenoks® dlja realizacii reproduktivnoj funkcii / K.T. Erimbetov [et al.] // Park aktivnyh molekul. 2021. N 4. P. 13–25. (in Russian)
9. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskih issledovanij lekarstvennyh sredstv. Chast' pervaja. / A.N. Mironov [et al.] Moscow: Grif i K, 2012. 944 p. (in Russian)
10. Metodicheskie rekomendacii po biomedicinskomu (doklinicheskomu) izucheniju lekarstvennyh sredstv, vlijajushhih na fizicheskuju rabotosposobnost' / N.N. Karkishhenko,[et al.] M.: FMBA Rossii. 2017. 134 p. (in Russian)

УДК 61:615.03

СОВРЕМЕННЫЕ КЛИНИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ ХРОНИЧЕСКОГО ТОНЗИЛЛОФАРИНГИТА

Мелоян Е.К., заочный аспирант 3 года обучения, кафедра фармакологии и клинической фармакологии РостГМУ

Руководители: **Сафроненко А.В.**, д.м.н., доцент, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии РостГМУ (ORCID: 0000-0003-4625-6186, ResearcherID ABB-4215-2021);

Ганцгорн Е.В., к.м.н., доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии РостГМУ, (ORCID: 0000-0003-0627-8372, ResearcherID ABB-4254-2021)

ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России

344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, Российская Федерация

E-mail: gantsgorn@inbox.ru

Представленный обзор посвящен проблеме фармакотерапии хронического тонзиллофарингита. Учитывая существенную роль небных миндалин в иммунологическом статусе организма, при лечении хронических воспалительных заболеваний глотки ведущее место должно принадлежать именно методам консервативной терапии. Приведены современные данные литературы о подходах к ее проведению, а также существующие проблемы и перспективы на пути к ее оптимизации. Перспективным представляется применение йодсодержащих препаратов, обладающих широким

спектром активности, но при это щадящим образом относятся к естественным микробиоценозам глотки и небных миндалин.

Ключевые слова: *хронический тонзиллофарингит, фармакотерапия, микробиоценоз, глотка, небная миндалина, лекарственная резистентность, йод-содержащие средства.*

Хронический тонзиллофарингит (ХТФ) является актуальной проблемой современной медицины. Данная патология имеет сложный и многофакторный механизм развития, распространена повсеместно и чаще затрагивает людей трудоспособного возраста. Ключевым фактором патогенеза ТФ является нарушение естественного микробиоценоза глотки и небных миндалин (НМ) на фоне местного сбоя иммунной защиты, в том числе, и образование биопленок условно-патогенной микрофлорой.

Целью настоящей работы стал анализ литературы по проблеме, ассоциированной с лекарственной терапией ХТФ. Для этого был проведен детальный анализ и обобщение современных данных, представленных в доступных источниках медицинской литературы в соответствии с заявленной целью исследования. Поиск информации проводился по базам eLIBRARY, Scopus, PubMed, Web of Science с использованием соответствующих ключевых слов.

Инфекционно-воспалительные заболевания верхних дыхательных путей (ВДП) прочно занимают одну из лидирующих позиций в общеврачебной практике. При этом, в России в структуре общей заболеваемости и среди болезней ЛОР-органов до 3% и до 15%, соответственно, составляет удельный вес патологии гортани и глотки [1].

В соответствии с МКБ-10 заболевания глотки и гортани являются отдельными нозологическими единицами, однако в медицинской литературе, в том числе, зарубежной, в связи с трудностями в дифференциальной диагностике, фарингит и тонзиллит часто объединяют в одно заболевание – тонзиллофарингит (ТФ) [2].

Согласно The Merck Manual (2020), обращения по поводу различных форм ТФ составляют около 15% от всех посещений врачей первичного звена [3]. В общей структуре заболеваемости в России удельный вес ТФ достигает от 2,8 до 3%, и до 75% пациентов – лица до 30 лет [4].

Воспалительный процесс, локализующийся в слизистой оболочке ротоглотки и НМ, отличается склонностью к хроническому, рецидивирующему течению. Результатом развития воспаления и как иммунологической, так и нервно-рефлекторной дисрегуляции, становится дисбаланс биоценоза ротоглотки с последующим повреждением слизистой оболочки глотки и НМ. ХТФ представляет собой стойкое хроническое воспаление слизистой оболочки глотки, НМ, характеризующееся рецидивирующими обострениями в виде ангин и общей токсико-аллергической реакцией. Ремиссия может продолжаться до 3-6 и более месяцев, после чего вновь наступает обострение [2].

В последнее десятилетие наметилась четко выраженная тенденция к ограничению использования хирургического лечения ХТФ. На сегодняшний день считается, что только пациентам с декомпенсированной формой ХТФ (по классификации И.Б. Солдатова) и токсико-аллергической формой II степени (по классификации Б.С. Преображенского и В.Т. Пальчуна) абсолютно показана тонзиллоэктомия [5].

Тонзиллэктомия часто рассматривается как метод выбора, если тонзиллит, вызванный β-гемолитическим стафилококком группы А (БГСА), рецидивирует повторно (> 6 эпизодов в год,> 4 эпизодов в год в течение 2 лет или> 3 эпизодов в год в течение 3 лет) или если острая инфекция является тяжелой и стойкой, несмотря на прием антибиотиков. Другие критерии тонзиллэктомии включают обструктивное нарушение сна, рецидивирующий перитонзиллярный абсцесс и подозрение на рак. Решения должны приниматься индивидуально, в зависимости от возраста пациента, множества факторов риска и реакции на рецидивы инфекции [6, 4].

Считается что лечение ХТФ, как и хронических фарингитов, должно быть комплексным, включающим симптоматические, патогенетические и антибактериальные лекарственные средства (ЛС), которые могут применяться как системно, так и местно. Следует учитывать, что при лечении хронических воспалительных заболеваний глотки ведущее место должно принадлежать консервативным подходам (при компенсированной форме, токсико-аллергической форме I). Правильно организованное консервативное лечение ТФ в ряде случаев приводит к снижению количества тонзиллоэктомий и способствует сохранению НМ как важного звена в обеспечении местной иммунологической защиты верхних дыхательных путей и всей иммунной системы организма [5].

Симптоматическое лечение

Так как основные жалобы больных касаются неприятных болезненных ощущений и купирования в глотке, симптоматические методы лечения направлены в основном на ликвидацию болезненных ощущений и купирования фарингоскопических изменений. Для симптоматического местного лечения ХТФ используются различные методики: смазывания, полоскания, ингаляции с применением различных ЛС, оказывающих противовоспалительное, противомикробное, антиаллергическое, вяжущее, смягчающее действия. Среди местных симптоматических средств наиболее активно используются отвары и настои трав, как в виде одного компонента, так и виде сборов, флурбипрофен, бензидамин гидрохлорид, щелочные минеральные воды, препараты морской воды [7, 5, 4]. В частности, препараты морской воды обладают осмотическим действием, нарушая функции клеточных мембран патогенных микроорганизмов. Авторы считают, что использование препаратов морской воды позволяет добиться выраженного, стойкого клинического эффекта, подтверждаемого катанамнестически, и рекомендуют эти ЛС для широкого применения в комплексном лечении ХТФ [7].

Физиотерапевтические методы

Для лечения ХТФ все шире используются физические методы, к которым относятся: промывание лакун небных миндалин на аппарате «Тонзиллор», фонофорез ЛС, лазерное и ультрафиолетовое облучение, УВЧ и магнитно-лазерная терапия регионарных шейных лимфоузлов.

В комплексе консервативного лечения всё шире применяется лазерная терапия в разных вариантах, особенно сочетанное использование лазерного излучения в красном и инфракрасном диапазонах с длиной волн 810 и 650 нм [8].

Некоторыми авторами отмечена достаточно высокая эффективность светодиодной фототерапии и фотофореза с использованием низкоинтенсивного гелий-неонового лазера и антиоксиоксиданта – 0,5% дигидрокверцитина. Данное вещество вводилось в полость лакун НМ после предварительной их санации с последующим эндолакунарным воздействием гелий-неонового лазера [9].

Одним из наиболее эффективных и многообещающих направлений в физиотерапевтическом лечении ХТФ является фотодинамическая терапия – сочетание монохроматического низкоинтенсивного красного, инфракрасного когерентного и синего света в допустимом для применения диапазоне и фотосенсибилизатора, обладающего тропностью к цитоплазматической мембране, внутриклеточным структурам и [10]. По данным отечественных и зарубежных источников, фотодинамическая терапия предупреждает септические осложнения, позволяет уменьшить объем антибактериальной терапии, корригирует иммунный статус (влияя на динамику противовоспалительных цитокинов IL-2, IL-4 и IL-10) [11].

Этиотропная и патогенетическая медикаментозная терапия

Среди ЛС для фармакотерапии ХТФ наиболее широко представлена группа местных антисептических средств и антибиотиков. Основной целью консервативного лечения с использованием антисептических ЛС (диоксидина, фурацилина, хлоргексидина, малавита, мирамистина, кармолиса, пиобактериофагов и др.) является тщательное освобождение слизистых оболочек и лакун миндалин от скопления слизи и клеточного детрита. Одним из самых популярных антисептиков, используемых в ЛОР-практике является мирамистин. Данный препарат оказывает бактерицидное действие как на грамположительные, так и на грамотрицательные бактерии, дрожжевые и дрожжеподобные грибы, актиномицеты, вирусы герпеса и иммунодефицита человека, дерматофиты, активирует процессы регенерации, купирует воспаление и не обладает сенсибилизирующими свойствами. Однако его высокие концентрации его (более 0,01%) замедляют регенерацию эпителия, усиливают десквамацию эпителиоцитов и угнетают функции лимфоэпителиальной системы [12].

В терапии ХТФ важное место занимает патогенетический подход с использованием иммуномодулирующих препаратов с антибактериальной, противовирусной и противогрибковой активностью. К данной группе ЛС относятся бактериальные лизаты (бронхомунал, ИРС-19, имудон), а также комбинированные иммунокорректоры, содержащие бактериальные антигены (рибомунил, поликомпонентная вакцина ВП-4) и синтетический препарат ликопид. Стоит отметить, что применение этой категории препаратов у больных ХТФ стимулирует синтез антител класса IgA и неспецифических факторов защиты, способствует увеличению концентрации секреторных иммуноглобулинов [6, 1]. Проведение иммунотерапии при хронических заболеваниях глотки должно быть курсовым (в период обострения), длительное же применение стимуляторов иммунитета приводит к развитию гиперплазии лимфоидной ткани в носоглотке, то есть избыточная стимуляция местного иммунитета не рекомендуется [13].

Имеется опыт местного использования пробиотических препаратов. Р.А. Забировым (2008) подтверждена эффективность внутрилакунарного введения споробактерина у больных ХТФ: выявлено значительное увеличение количества лимфоцитов, плазматических клеток и макрофагов [14].

В последние годы в группу средств патогенетической терапии ТФ вошли антигомотоксические ЛС, к которым относятся траумель, мукозокомпозитум, энзистол, лимфомиозотт и др. Отмечается их заметное положительное воздействие на слизистую оболочку глотки при хроническом воспалении, при этом в иммунологических анализах зафиксировано восстановление показателей системы фагоцитирующих макрофагов и увеличение фагоцитарной активности [5, 13].

Основную роль в лечении обострений ХТФ играет системная антибиотикотерапия, которая считается обязательной при токсико-аллергической форме I степени [9, 15]. Антибактериальное лечение при обострении ХТФ следует назначать исключительно на основании результатов бактериологического исследования, экспресс-тестирования и определения чувствительности возбудителей к антибиотикам.

В настоящее время подтверждение БГСА-этиологии заболевания с помощью бактериологического исследования и/или экспресс-тестирования материала с небных миндалин и задней стенки глотки считаются «золотым стандартом» диагностики ТФ. На данный момент используется диагностическая система «Стрептатест», основанная на иммунохроматографическом выявлении специфического антигена, которая приближена к бактериологическому методу по чувствительности и специфичности в отношении БГСА. Главная задача при проведении стрептатеста – определить наличие Streptococcus pyogenes при клинических симптомах ТФ. В исследованиях, проведенных за рубежом, было показано, что внедрение экспресс-диагностики БГСА позволяет существенно снизить частоту назначения системной антибактериальной терапии от 41% до 57% [16]. В России эта диагностическая система пока используется не во всех клиниках, проведение стрептатеста не входит в национальные российские стандарты диагностики ТФ.

Однако низкая эффективность противомикробной терапии при ХТФ является одной из наиболее значимых научно-клинических задач клинической фармакологии. Так, бактериологически обоснованная терапия тонзиллита, опосредованного БГСА в 20% случаев не обеспечивает полной санации НМ, что приводит к рецидивирующему течению заболевания, а также к возникновению осложнений [17].

Наиболее типичный возбудитель ТФ – S. pyogenes – отличается высокой чувствительностью к пенициллинам и цефалоспоринам, но при этом обладает частичной резистентностью к макролидам (в России составляет 13–17%) и слабо чувствителен к тетрациклинам и сульфаниламидам (резистентность в России превышает 60%) [9]. Широко распространена природная устойчивость S.pyogenes к эритромицину. Таким образом, тетрациклины, сульфаниламиды, котримоксазол не обеспечивают эрадикации БГСА, поэтому их не следует применять для лечения стрептококкового ТФ, вызванного даже чувствительными к ним *in vitro* штаммами.

В последнее время была выявлена новая проблема, возникающая при антибиотикотерапии ТФ: ко–патогены, то есть микроорганизмы, самостоятельно не вызывающие заболевание, но активно вырабатывающие бета–лактамазы, разрушающие незащищенные антибиотики (пенициллин, феноксиметил–пенициллин, амоксициллин, ампициллин и многие цефалоспорины). В связи с этим, для лечения ЛОР-патологий считается целесообразным назначение защищенных бета-лактамов, таких как амоксициллина клавуланат [18].

А.И. Крюков (2013) сообщает, что явление перилакунарного склероза в некоторых случаях препятствует достижению системно введенным антибиотиком мишени-патогена, локализованного интралакунарно. Более того, системная антибиотикотерапия не всегда позволяет добиться очищения лакун НМ от патологического содержимого, что способствует персистенции воспалительного процесса, сенсибилизации и интоксикации организма [17]. Поэтому наиболее оправданным направлением в лечении ТФ является сочетание антибиотиков с местными антисептическими препаратами и физиотерапией.

Препараты йода в лечении ХТФ

В лечении ХТФ широко применяются топические антисептические препараты, среди которых наиболее часто используются препараты йода для сокращения численности условно-патогенной флоры ротоглотки. Во многих работах упоминается, что йод обладает выраженными антимикробными свойствами, повышает секрецию слизи экскреторными клетками слизистой оболочки, обусловливая муколитический эффект, проявляет иммуностимулирующее и протеолитическое действие [19, 20, 1]. Однако назначение препаратов данной группы может быть ограничено вследствие возможного аллергического или раздражающего действия [6].

В настоящее время применение в ЛОР-практике традиционных препаратов, таких как раствор Люголя или спиртовой раствор йода отходит на второй план, так как комплексы йода и его полимерных молекул в качестве действующих веществ лекарственных препаратов, зарекомендовали себя с большей безопасностью и эффективностью. К таким препаратам относятся бетадин [20], йодинол [2], поливидон (повидон)-йод [4, 21, 22].

Наиболее активно в оториноларингологии для местной терапии используется поливидон-йод. Поливидон, как высокомолекулярный носитель йода, значительно снижает его токсичность в отношении собственных клеток организма. Йод, выделившийся из ПВП-комплекса как внеклеточно, так и внутриклеточно, изменяет четвертичную структуру белков (ферментов капсидных оболочек вирусов, репликативной системы бактерий и простейших), что приводит к потере их каталитической активности [4, 22].

Считается, что повидон-йод обладает самым широким спектром антимикробного действия по сравнению с другими распространенными антисептиками, такими как хлоргексидин, октенидин, полигексанид и гексетидин. Стойкость эффекта также была продемонстрирована в исследовании, в котором оценивался 1% ПВП-I в качестве антибактериального средства для предварительной обработки у лиц с различной степенью гигиены полости рта. Было обнаружено, что снижение концентрации микроорганизмов сохраняется по меньшей мере в течение 4 ч. Кроме того, есть некоторые доказательства того, что ПВП-I способен восстанавливать естественную микробную флору после бактериальной инфекци. В отличие от хлоргексидина и мупироцина, в доступных отчетах не наблюдалось связи между ПВП-I и индукцией бактериальной резистентности или перекрестной резистентности к антисептикам и антибиотикам. Также международным сообществом рассматривается возможности применения повидон-йода в качестве топического антисептика для профилактики вирусных заболеваний, например, вызванных SARS-CoV-2 [23].

Относительно недавно были синтезированы и прошли клинические испытания органические соединения, содержащие гипервалентно связанный биологически активный йод [21]. Установлено, что одно из этих веществ – 1,3-диэтилбензомидазолий трийодид обладает широким спектром антибактериальной активности в отношении разных видов стафилококков, кишечной палочки, клостридий, псевдомонад, грибов рода Candida. Выявлено, что по антибактериальной активности данное ЛС подобно антибиотикам и даже способно подавлять рост микобактерии туберкулеза [23].

Диэтилбензомидазолий трийодид обладает регенеративными свойствами, значительно ускоряет процесс заживления ран, ожоговых поверхностей и трофических язв, оказывает антипиртическое, антиоксидантное и противоопухолевое действие [24].

Бактерицидное действие диэтилбензимидазолия трийодида обусловлено его способностью высвобождать активный йод при контакте с белками бактериальной клетки и ферментными белками микроорганизмов, что приводит к образованию йодаминов, денатурирующих белковые молекулы микробов [23]. Противопоказанием к применению средств данной группы является гиперчувствительность к йоду, нарушение функции щитовидной железы, беременность (вследствие транзиторного гипертиреоза), лактация, возраст до 15 лет [21, 25, 23]. Благодаря высокой антибактериальной активности 1,3 – диэтилбензимидазолия трийодида, его низкой токсичности, антиоксидантному и регенеративному потенциалу, перспективное его использование в комплексной терапии ХТФ, как в условиях стационарного, так и амбулаторного лечения.

Таким образом, ХТФ является актуальной проблемой современной медицины в целом и клинической фармакологии, в частности. Ключевым фактором патогенеза ТФ является нарушение естественного микробиоценоза глотки и НМ на фоне местного сбоя иммунной защиты, в том числе, и образование биопленок условно-патогенной микрофлорой.

Широкое распространение ХТФ и высокая медико-социальная значимость осложнений, особенно вызываемых БГСА, определяют необходимость совершенствования методов лечения. При этом, тщательного внимания должны заслуживать не только пациенты в период обострения, но и сопровождение в течение ремиссии. Таким образом, актуальным на сегодняшний день является поиск уже существующих и разработка новых, безопасных и эффективных лекарственных средств, для комплексной терапии ХТФ с целью сокращения продолжительности заболевания, сниже-

ния риска развития осложнений, предотвращения рецидивов, улучшения качества жизни, а также решения проблем, ассоциированных с нерациональной антибактериальной терапией.

Оценивая существенную роль НМ в формировании защиты организма путем иммуннологического ответа, многие авторы доказывают, что при лечении хронических воспалительных заболеваний глотки ведущее место должно принадлежать методам консервативной терапии. Однако, необходимо отметить, что большая часть лечебных подходов не приводит к окончательной элиминации патогенов, а скорее препятствует восстановлению нормального соотношения микроорганизмов слизистой, что создает предпосылки к рецидивирующим заболеваниям верхних дыхательных путей, таких как ХТФ. Перспективным в данном направлении является применение йодсодержащих ЛС, которые обладают широким спектром активности, но при это щадящим образом относятся к естественным микробиоценозам глотки и НМ.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31. Фармакология

76.31.29 Клиническая фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Применение топических антисептических средств при остром тонзиллофарингите: оценка современных тенденций лечения и профилактики осложнений / А.Г. Росаткевич [и др.] // Терапия. 2019. Т. 5. N 6. С. 183-189. DOI 10.18565/therapy.2019.6.183-189.

2. Небные миндалины: физиология и патология / В. Т. Пальчун [и др.] // Вестник оториноларингологии. 2019. Т. 84 N 6. С. 11-16.

3. Manual M. Tonsillopharyngitis // The Merck Manual of Diagnosis and Therapy [Электронный ресурс]. URL: https://www.merckmanuals.com/professional/ear,-nose,-and-throat-disorders/oral-and-pharyngeal-disorders/tonsillopharyngitis. (дата обращения 03.03.2022)

4. Молочек Ю.А. Современные подходы к диагностике и лечению тонзиллофарингитов (обзор международных руководств) // Здоровье ребенка. 2014. N 6 (57). С. 49-56.

5. Каспранская Г.Р., Лопатин А. С. Хронический тонзиллит: разные взгляды на старую проблему // Медицинский совет. 2013. N 5/6. С. 69-71

6. Хронический фарингит: этиология, патогенез, лечение. Новые подходы к оценке этиопатогенеза / А. В. Гострый [и др.] // Архивъ внутренней медицины. 2019. Т. 9 N 1. С. 32-43.

7. Исупова Ш.Ф., Бекназарова Г. М., Мухамедова М. Д. Опыт применения препарата Аква Марис для лечения хронического тонзиллита у детей // Материалы конференции ТГМУ им. Абу али ибн Сино. 2012. С. 33.

8. Eid M.M., Waked I.S., Wahid A.R.A. The beneficial effects of low intensity laser acupuncture therapy in chronic tonsillitis // Indian Journal of Physiotherapy and Occupational Therapy-An International Journal. 2012. Vol. 6(2). P. 54-58.

9. Мальцева Г.С., Гринчук О.Н., Ильинская Е.В. Возможности антибактериальной терапии при хроническом тонзиллите стрептококковой этиологии // Рос. оториноларингология. 2013. N 3(64). С. 185–190.

10. Dai T., Huang Y.Y., Hamblin M.R. Photodynamic therapy for localized infections —s tate of the art // Photodiagnosis and photodynamic therapy. 2009. Vol. 6(3). P. 170-188.

11. Characterization of tonsillar IL10 secreting B cells and their role in the pathophysiology of tonsillar hypertrophy / L. Sarmiento Varon [et al.] // Sci. Rep. 2017. Vol. 7. P. 11077. https://doi.org/10.1038/s41598-017-09689-x

12. Петренко В.М., Дмитриева И.А., Петренко Е.В. Влияние Мирамистина на течение хронического тонзиллита // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2009. N 7. С. 56 – 60.

13. Возможности иммуностимулирующей терапии при респираторных инфекциях верхних дыхательных путей / В. М. Свистушкин [и др.] // Медицинский Совет. 2017. N 8. С. 8 – 12.

14. Забиров Р.А., Султанова Н.В. Результаты использования споробактерина в комплексе консервативной терапии больных хроническим тонзиллитом // Рос. оторинолар. 2008. Т.5. N 36. С. 49-54.

15. Clinical features of peritonsillar abscess in children in a multidisciplinary inpatient department / N. V. Sirenko [et al.] // Russian Otorhinolaryngology. 2019. Vol. 18(5). P. 67–73.

16. Yalim H., Eveillard M., Apaire-Marchais V. Dépistage de l'angine à streptocoque du groupe A à l'officine Marchais // Actualités Pharmaceutiques. 2020. Vol. 59(593). P. 41-44.

17. Консервативная терапия и хирургическое лечение хронического тонзиллита у детей / А. И. Крюков [и др.] // Вестник оториноларингологии. 2013. N 4. С. 15-20.

18. Kuroki H. Comparison of clinical efficacy between 3-day combined clavulanate/amoxicillin preparation treatment and 10-day amoxicillin treatment in children with pharyngolaryngitis or tonsillitis // Journal of Infection and Chemotherapy. 2013. Vol. 19(1). P. 12-19.

19. Абдуллаев О.А., Сергиенко А.В., Ивашев М.Н. Клиническая эффективность йодинола // Международный журнал экспериментального образования. 2015. N 3-1. С. 47-48.

20. Гавриленко Ю.В. Эффективность использования раствора Бетадин при местном лечении хронического тонзиллита у детей // Риноларингология. Результаты достижений. Здоровье Украины. Тематический выпуск. 2014. С.42–43.

21. Блатун Л.А. Стелланин-ПЭГ мазь 3%: сравнительная антимикробная активность в отношении возбудителей хирургической инфекции // Антибиотики и химиотерапия. 2008. Т. 53. С. 11-12.

22. Выбор лечебной тактики у больных хроническим тонзиллитом стрептококковой этиологии и длительным субфебрилитетом / Ю.К. Янов [и др.] // Вестник оториноларингологии. 2019. Т. 84. N 1. С. 64–67.

23. Страдомский Б.В., Солодунов Ю.Ю., Лыкова Е.О. Экспериментальная и клиническая фармакология мазевых форм Стелланина (1,3-диэтилбенз-имидазолия трийодида // Ростовское областное научное общество хирургов. 2009. 70 с.

24. Эффективность применения 3% мази 1,3-диэтилбензимидазолия трийодида при лечении трофических язв венозной этиологии / И. И. Кательницкий [и др.] // Флебология. 2009. Т. 3. N 1. С. 30-35.

25. Рябова М.А., Лаврова О.В., Шумилова Н.А. Лечение заболеваний верхних дыхательных путей у беременных // Практическая медицина. 2018. N 16 (5). С. 81-84.

SUMMARY

MODERN CLINICAL AND PHARMACOLOGICAL APPROACHES TO THE TREATMENT OF CHRONIC TONSILLOPHARINGITIS

Meloyan E.K., 3-year postgraduate, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology of Rostov State Medical University

Scientific supervisors: **Safronenko A.V.**, MD, Associate Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Rostov State Medical University (ORCID: 0000-0003-4625-6186, ResearcherID ABB-4215-2021);

Gantsgorn E.V., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Rostov State Medical University (ORCID: 0000-0003-0627-8372, ResearcherID ABB-4254-2021)

Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia

344022, Rostov-on-Don, Nakhichevansky, 29, Russian Federation

E-mail: gantsgorn@inbox.ru

The presented review is devoted to the problem of pharmacotherapy of chronic tonsillopharyngitis. Given the significant role of the palatine tonsils in the immunological status of the body, in the treatment of chronic inflammatory diseases of the pharynx, the leading place should belong to the methods of conservative therapy. Modern literature data on approaches to its implementation, as well as existing problems and prospects on the way to its optimization are presented. The use of iodine-containing preparations with a wide spectrum of activity seems promising, but at the same time they are gentle on the natural microbiocenoses of the pharynx and palatine tonsils.

Keywords: *chronic tonsillopharyngitis, pharmacotherapy, microbiocenosis, pharynx, palatine tonsil, drug resistance, iodine-containing agents.*

REFERENCES

1. Primenenie topicheskih antisepticheskih sredstv pri ostrom tonzillofaringite: ocenka sovremennyh tendencij lechenija i profilaktiki oslozhnenij / A.G. Rosatkevich [et al.] // Terapija. 2019. Vol. 5(6). P. 183-189. DOI 10.18565/therapy.2019.6.183-189 (in Russian).

2. Nebnye mindaliny: fiziologija i patologija / V.T. Pal'chun [et al.] // Vestnik otorinolaringologii. 2019. Vol. 84(6). P. 11-16 (in Russian).

3. Manual M. Tonsillopharyngitis // The Merck Manual of Diagnosis and Therapy. URL: https://www.merckmanuals.com/professional/ear,-nose,-and-throat-disorders/oral-and-pharyngeal-disorders/tonsillopharyngitis. (Accessed 03.03.2022)

4. Molochek Ju.A. Sovremennye podhody k diagnostike i lecheniju tonzillofaringitov (obzor mezhdunarodnyh rukovodstv) // Zdorov'e rebenka. 2014. N 6(57). P. 49-56 (in Russian).

5. Kaspranskaja G.R., Lopatin A.S. Hronicheskij tonzillit: raznye vzgljady na staruju problemu // Medicinskij sovet. 2013. N 5/6. P. 69-71 (in Russian).

6. Hronicheskij faringit: jetiologija, patogenez, lechenie. Novye podhody k ocenke jetiopatogeneza / A.V. Gostryj [et al.] // Arhiv vnutrennej mediciny. 2019. Vol. 9(1). P. 32-43 (in Russian).

7. Isupova Sh.F., Beknazarova G.M., Muhamedova M.D. Opyt primenenija preparata Akva Maris dlja lechenija hronicheskogo tonzillita u detej // Materialy konferencii TGMU im. Abu ali ibn Sino. 2012 P. 33 (in Russian).

8. Eid M.M., Waked I.S., Wahid A.R.A. The beneficial effects of low intensity laser acupuncture therapy in chronic tonsillitis // Indian Journal of Physiotherapy and Occupational Therapy-An International Journal. 2012. Vol. 6(2). P. 54-58.

9. Mal'ceva G.S., Grinchuk O.N., Il'inskaja E.V. Vozmozhnosti antibakterial'noj terapii pri hronicheskom tonzillite streptokokkovoj jetiologii // Ros. otorinolaringologija. 2013. N 3 (64). P. 185–190 (in Russian).

10. Dai T., Huang Y.Y., Hamblin M.R. Photodynamic therapy for localized infections — state of the art // Photodiagnosis and photodynamic therapy. 2009. Vol. 6(3). P. 170-188.

11. Characterization of tonsillar IL10 secreting B cells and their role in the pathophysiology of tonsillar hypertrophy / L. Sarmiento Varon [et al.] // Sci. Rep. 2017. Vol. 7. P. 11077. https://doi.org/10.1038/s41598-017-09689-x

12. Petrenko V.M., Dmitrieva I.A., Petrenko E.V. Vlijanie Miramistina na techenie hronicheskogo tonzillita // Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij. 2009. N 7. P. 56 – 60 (in Russian).

13. Vozmozhnosti immunostimulirujushhej terapii pri respiratornyh infekcijah verhnih dyhatel'nyh putej / V.M. Svistushkin [et al.] // Medicinskij Sovet. 2017. N 8. P. 8–12 (in Russian).

14. Zabirov R.A., Sultanova N.V. Rezul'taty ispol'zovanija sporobakterina v komplekse konservativnoj terapii bol'nyh hronicheskim tonzillitom // Ros. otorinolar. 2008. Vol.5(36). P. 49-54 (in Russian).

15. Clinical features of peritonsillar abscess in children in a multidisciplinary inpatient department / N. V. Sirenko [et al.] // Russian Otorhinolaryngology. 2019. Vol. 18(5). P. 67–73.

16. Yalim H., Eveillard M., Apaire-Marchais V. Dépistage de l'angine à streptocoque du groupe A à l'officine Marchais // Actualités Pharmaceutiques. 2020. Vol. 59(593). P. 41-44.

17. Konservativnaja terapija i hirurgicheskoe lechenie hronicheskogo tonzillita u detej / A.I. Krjukov [et al.] // Vestnik otorinolaringologii. 2013. N 4. P. 15-20 (in Russian).

18. Kuroki H. Comparison of clinical efficacy between 3-day combined clavulanate/amoxicillin preparation treatment and 10-day amoxicillin treatment in children with pharyngolaryngitis or tonsillitis // Journal of Infection and Chemotherapy. 2013. Vol. 19(1). P. 12-19.

19. Abdullaev O.A., Sergienko A.V., Ivashev M.N. Klinicheskaja jeffektivnost' jodinola // Mezhdunarodnyj zhurnal jeksperimental'nogo obrazovanija. 2015. N 3-1. P. 47-48 (in Russian).

20. Gavrilenko Ju.V., Jeffektivnost' ispol'zovanija rastvora Betadin pri mestnom lechenii hronicheskogo tonzillita u detej // Rinolaringologija. Rezul'taty dostizhenij. Zdorov'e Ukrainy. Tematicheskij vypusk. 2014. P. 42–43. (in Russian).

21. Blatun L.A. Stellanin-PJeG maz' 3%: sravnitel'naja antimikrobnaja aktivnost' v otnoshenii vozbuditelej hirurgicheskoj infekcii // Antibiotiki i himioterapija. 2008. Vol. 53. P. 11-12 (in Russian).

22. Vybor lechebnoj taktiki u bol'nyh hronicheskim tonzillitom streptokokkovoj jetiologii i dlitel'nym subfebrilitetom / Ju.K. Janov [et al.] // Vestnik otorinolaringologii. 2019. Vol. 84(1). P. 64–67 (in Russian).

23. Stradomskij B.V., Solodunov Ju.Ju., Lykova E.O. Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija mazevyh form Stellanina (1,3-dijetilbenz-imidazolija trijodida // Rostovskoe oblastnoe nauchnoe obshhestvo hirurgov. 2009. 70 p. (in Russian).

24. Jeffektivnost' primenenija 3% mazi 1,3-dijetilbenzimidazolija trijodida pri lechenii troficheskih jazv venoznoj jetiologii / I.I. Katel'nickij [et al.] // Flebologija. 2009. Vol. 3(1). P. 30-35 (in Russian).

25. Rjabova M.A., Lavrova O.V., Shumilova N.A. Lechenie zabolevanij verhnih dyhatel'nyh putej u beremennyh // Prakticheskaja medicina. 2018. N 16(5). P. 81-84 (in Russian).

УДК 14.03.06

ОЦЕНКА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИПСИХОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА МОДЕЛИ РАССТРОЙСТВА ШИЗОФРЕНИЧЕСКОГО СПЕКТРА, ВЫЗВАННОГО ЭЛЕКТРОЛИТИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИЕЙ ВЕНТРАЛЬНОГО ГИППОКАМПА У КРЫС

Муха О.Ю.[1], студ. 5 курса (ORCID: 0000-0002-0429-905X),
Придворов Г.В.[1,2], асп. 1 года обучения (ORCID: 0000-0002-8070-693X)
Научный руководитель: **Калитин К.Ю**[1,2]**.**, канд. мед. наук, доцент (ORCID: 0000-0002-0079-853X)
[1]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, площадь Павших Борцов, д. 1, г. Волгоград, 400131, Россия
[2]Государственное бюджетное учреждение «Волгоградский медицинский научный центр», площадь Павших Борцов, д. 1, г. Волгоград, 400131, Россия
E-mail: olay.myha14@gmail.com

Шизофрения и другие сходные с ней психотические расстройства являются социально значимыми заболеваниями с полиэтиологической природой. Метод неонатального поражения вентрального гиппокампа является широко используемой дизонтогенетической моделью, предназначенной для изучения данной патологии. В настоящем исследовании оценены спектральные характеристики электрокортикографического сигнала у животных с электролитической деструкцией вентрального гиппокампа. В ходе исследования было показано, что нарушения биоэлектрической активности мозга предупреждаются хроническим введением соединения РУ-31 во всех диапазонах частот и атипичного нейролептика клозапина в дельта-диапазоне.

Ключевые слова: *шизофрения, антипсихотические препараты, атипичные нейролептики, ЭЭГ, бензимидазол, антагонист 5-HT$_{2A}$ рецепторов.*

Экспериментальные модели, реализуемые на лабораторных животных, являются важным шагом в изучении механизмов, лежащих в основе различных заболеваний человека и в разработке новых методов их лечения. Однако, возможность воспроизведения психических расстройств на экспериментальных животных вплоть до сегодняшнего дня считается спорной. Особый интерес вызывает моделирование шизофрении и расстройств шизофренического спектра. Данная патология имеет полиэтиологчную природу, характеризуется уникальными паттернами поведения в сферах восприятия, мышления и переживания эмоций, и манифестирует, как правило, в юношеском возрасте.

В связи с тем, что шизофрения – это тяжелое психическое заболевание присущее человеку, воспроизведение ее самых ярких симптомов – галлюцинаций, бреда и расстройства мышления – у грызунов или даже у нечеловеческих прима-

тов представляется затруднительным. На данный момент существует ряд моделей для изучения шизофрении, одной из наиболее распространенных является неонатальная деструкция вентрального гиппокампа у крыс на 7 день постнатального развития. Симптомы шизофренического расстройства у животных проявляются, как правило, после полового созревания, что соответствует течению шизофрении у людей [1]. Применение данной модели позволяет вызвать позитивные, негативные и когнитивные поведенческие нарушения. Ранее с ее помощью были изучены эффекты антипсихотических препаратов (как типичных, так и атипичных нейролептиков) [2].

Целью данного исследования было оценить фармакологическую активность 1-(2-диэтиламиноэтил)-2-(4-метоксифенил)-имидазо[1,2-а] бензимидазола – соединения РУ-31 блокатора 5-HT_{2A} рецепторов и атипичного нейролептика клозапина в электрофизиологическом исследовании мозга (ЭЭГ) на модели шизофрении, вызванной электролитическим разрушением вентрального гиппокампа у крыс.

Данное исследование было проведено на белых неинбредных крысах-самцах, выведенных в условиях вивария лаборатории от самок, доставленных из ФГУП Питомник лабораторных животных «Рапполово» РАМН. Животных содержали в стандартных условиях вивария при 12-часовом режиме дня и ночи со свободным доступом к пище и воде (ГОСТ 33215-2014).

На 7 день постнатального развития крыс иммобилизировали путем помещения в лед на 20 минут, после чего фиксировали на платформе стереотаксиса. Скальпелем в ростро-каудальном направлении выполняли срединный разрез кожи головы длинной 0,5 см. Расстройство шизофренического спектра было смоделировано методом электролитической деструкции вентрального гиппокампа [3]. Платино-иридиевый (80% / 20%) электрод диаметром 0,3 мм изолированный по всей длине за исключением дистальной части, погружали в головной мозг крыс по следующим стереотаксическим координатам: переднезадняя (AP) = -3,0 мм; медиолатеральная (ML) = ±3,5 мм и дорсовентральная (DV) = 5,0 мм относительно брегмы. Двустороннее электролитическое поражение было выполнено с использованием источника постоянного (анодного) тока путем пропускания тока 0,5 мА в течение 5 с. Крысы из группы контроля подвергались тем же манипуляциям за исключением электролитической деструкции вентрального гиппокампа.

На 35 день постнатального развития были сформированы четыре экспериментальные группы, всего в эксперименте было задействовано 32 крысы. Первая группа крыс (n=8) – ложнооперированные (Л/О) животные; вторая группа (n=8) – неонатальное повреждение вентрального гиппокампа (НПВГ); третья группа животных (n=8) – НПВГ+ соединение РУ-31 10 мг/кг (ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Россия); четвертая группа (n=8) – НПВГ + клозапин 2 мг/кг (Органика, Россия). Вещества вводили в 11:00 утра внутрибрюшинно в течение 21 дня.

Для исследования биоэлектрической активности головного мозга на 51 день постнатального развития под хлоралгидратным наркозом (400 мг/кг, внутрибрюшинно) проводилась имплантация платино-иридиевых электродов (80% / 20%). Стоматологическим буром в черепе проделывались отверстия (1 мм в диаметре) в соответсвии со стереотаксическими координатами, электроды размещали на твердой мозговой оболочке в области вентрального гиппокампа симметрично с обеих сторон (AP = -7 мм; ML = ±2,0 мм), референс располагали над обонятельной луковицей (AP = 6,6 мм; ML = 2,0 мм). Регистрацию ЭЭГ выполняли через 5 дней, после периода восстановления.

Для регистрации ЭЭГ использовали лабораторный электроэнцефалограф NVX-36 (МКС, Россия), регистрация сигнала проводилась в течение 30 минут. Предварительно регистрировали фоновую ЭЭГ активность. Сигнал отфильтровывали (фильтр низких частот – 0,4 Гц, фильтр высоких частот – 30 Гц) и оцифровывали с частотой дискретизации 500 Гц. Анализ спектральной плотности мощности ЭЭГ выполняли в автономном режиме, для выделения физиологических ритмов применяли быстрое преобразование Фурье: δ (0,4-4 Гц), θ (4,8-8 Гц), α (8-12 Гц) и β (12–30 Гц).

Статистический анализ полученных данных выполняли методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки в программе GraphPad Prism 9.

В результате статистической обработки данных было выявлено статистически значимое повышение мощности в группе с электролитической деструкцией вентрального гиппокампа в α-диапазоне на 103.76% (p=0,003) и β-диапазоне на 104.6% (p=0,002), а также снижение мощности в δ-диапазоне на 37.41% (p=0,0125) в сравнении с группой ложнооперированных животных. Введение исследуемого вещества РУ-31 способствовало повышению показателей в δ-частотном диапазоне (p=0,0035) на 68.9% и снижению в α-диапазоне (p=0,0308) на 38.55% относительно животных с НПВГ. Препарат сравнения клозапин в группе оперированных животных повышал мощность сигнала в диапазонах δ на 62.26% (p=0,0089), θ на 52.79% (p=0,0376), α на 37.78% (p=0,0352) и β на 38.51% (p=0,0249). Результаты электрофизиологического исследования приведены в таблице.

Таблица – Изменения биоэлектрической активности мозга у крыс после разрушения вентрального гиппокампа (Mean±SEM)

Диапазоны частот	Л/О (мкВ²/Гц)	НПВГ (мкВ²/Гц)	НПВГ + РУ-31 (мкВ²/Гц)	НПВГ + клозапин (мкВ²/Гц)
0.4-4.0 Hz (δ)	25.74±1.52	16.11±2.65*	27.21±1.34	26.14±2.38
4.1-8.0 Hz (θ)	11.5±1.3	15.42±2.46	13.34±1.51	23.56±2.49*
8.1-12.0 Hz (α)	9.56±0.94	19.48±1.56*	11.97±2.23	26.84±2.17*
12.1-30.0 (β)	13.91±2.11	28.46±3.15*	19.71±2.26	39.42±2.37*

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с группой ложнооперированных животных (p<0,05).

В ходе спектрального анализа ЭЭГ выявлено, что в результате электролитической деструкции вентрального гиппокампа снижалась мощность сигнала в дельта-диапазоне, а также выявляется подъем мощности в альфа- и бета-диапазонах, аналогичные результаты были получены нами ранее при аспирационном разрушении вентрального гиппокампа. В предшествующих работах было установлено, что изменения электрокортикографического сигнала имеют большую вариативность, а в некоторых представлены противоречивые результаты, что может быть связано с расхождениями в дизайне исследований и внутривидовыми различиями лабораторных животных.

В исследованиях, посвященных изучению действия атипичных нейролептиков на биоэлектрическую активность мозга показано, что они повышают мощность сигнала в диапазоне альфа- и бета-частот, при этом для клозапина также характерно усиление тета-активности [4]. В результате действия селективных антагонистов 5-HT_{2A} рецепторов наблюдалось повышение мощности низких частот в диапазоне 1-7 Гц [5]. Данный эффект связывают со стимуляцией серотонином спонтанных возбуждающих постсинаптических потенциалов в пирамидных клетках V слоя префронтальной коры.

Таким образом, данная модель имеет ограниченные возможности для изучения механизмов нарушения биоэлектрической активности мозга при расстройствах шизофренического спектра. Однако она представляет большой интерес для оценки действия антипсихотических веществ.

Экспериментальная дизонтогенетическая модель шизофрении, основанная на разрушении вентрального гиппокампа, позволяет оценить антипсихотическое действие веществ по изменениям биоэлектрической активности головного мозга, в частности клозапин и соединение РУ-31 вызывали характерные сдвиги спектрального состава ЭЭГ сигналов. Данная модель перспективна для более глубокого изучения патофизиологических механизмов данных заболеваний, а также в поиске новых более эффективных антипсихотических средств.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.00 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Brady A.M. The neonatal ventral hippocampal lesion (NVHL) rodent model of schizophrenia // Current protocols in neuroscience. 2016. Vol. 77(1). P. 9.55.1-9.55.17. http://dx.doi.org/10.1002/cpns.15

2. Role of prefrontal cortical 5-HT2A receptors and serotonin transporter in the behavioral deficits in post-pubertal rats following neonatal lesion of the ventral hippocampus / Mitazaki S. [et al.] // Behavioural Brain Research. 2020. Vol. 377. P. 112226. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112226

3. Role of the dorsal hippocampus in object memory load / Sannino S. [et al.] // Learning & Memory. 2012. Vol. 19(5). P. 211-218. http://dx.doi.org/10.1101/lm.025213.111

4. Яковлев О.А., Вахвияйнен М.С., Юдин М.А. Фармако-ЭЭГ как способ определения пороговой дозы нейротропных веществ // Биомедицина. 2020. Т. 16. N 3. С. 39-42. https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-3-39-42

5. Atypical, but Not Typical, Antipsychotic Drugs Reduce Hypersynchronized Prefrontal-Hippocampal Circuits during Psychosis-Like States in Mice: Contribution of 5-HT2A and 5-HT1A Receptors / Delgado-Sallent C. [et al.] // Cerebral Cortex. 2021. https://doi.org/10.1093/cercor/bhab427

SUMMARY

EVALUATION OF THE BIOELECTRIC ACTIVITY OF THE BRAIN AND EVALUATION OF THE PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF ANTIPSYCHOTIC SUBSTANCES IN THE SCHIZOPHRENIA SPECTRUM DISORDER MODEL THROUGH ELECTROLYTIC LESION OF THE VENTRAL HIPPOCAMPUS IN RATS

Mukha O.Y., 5th year graduate student (ORCID: 0000-0002-0429-905X),
Pridvorov G.V., 1st year postgraduate student (ORCID: 0000-0002-8070-693X)
Academic advice: **Kalitin K.Y.**, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof. (ORCID: 0000-0002-0079-853X)
Volgograd State Medical University, 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd,
400131, Russian Federation
Volgograd Medical Research Center, 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russian Federation
E-mail: olay.myha14@gmail.com

Schizophrenia and other psychotic disorders are socially significant diseases which are characterised by polyetiological nature. Neonatal ventral hippocampus lesion model has been widely used as a neurodevelopmental model designed to study schizophrenia and psychotic disorders. In the present study we evaluated the spectral characteristics of the electrocorticographic signal in animals with electrolytic lesions of the ventral hippocampus. It was shown that changes of the brain bioelectrical activity in all frequency bands are prevented by chronic administration of the compound RU-31. The atypical antipsychotic clozapine caused an increase in the delta power band.

Keywords: *schizophrenia, antipsychotic drugs, atypical neuroleptics, EEG, benzimidazole, 5-HT_{2A} receptor antagonist.*

REFERENCES

1. Brady A.M. The neonatal ventral hippocampal lesion (NVHL) rodent model of schizophrenia // Current protocols in neuroscience. 2016. Vol. 77(1). P. 9.55.1-9.55.17. http://dx.doi.org/10.1002/cpns.15

2. Role of prefrontal cortical 5-HT2A receptors and serotonin transporter in the behavioral deficits in post-pubertal rats following neonatal lesion of the ventral hippocampus / Mitazaki S. [et al.] // Behavioural Brain Research. 2020. Vol. 377. P. 112226. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112226

3. Role of the dorsal hippocampus in object memory load / Sannino S. [et al.] // Learning & Memory. 2012. Vol. 19(5). P. 211-218. http://dx.doi.org/10.1101/lm.025213.111

4. Yakovlev O.A., Vakhviyaynen M.S., Yudin M.A. Pharmaco-EEG as a Method for Determining the Threshold Dose of Neurotropic Substances // Journal Biomed. 2020. Vol. 16(3). P. 39-42 (in Russian). https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-3-39-42

5. Atypical, but Not Typical, Antipsychotic Drugs Reduce Hypersynchronized Prefrontal-Hippocampal Circuits during Psychosis-Like States in Mice: Contribution of 5-HT2A and 5-HT1A Receptors / Delgado-Sallent C. [et al.] // Cerebral Cortex. 2021. https://doi.org/10.1093/cercor/bhab427

УДК 57.084.1

ИНЪЕКЦИИ РИФАМПИЦИНА И ГИНЗЕНОЗИДОВ СНИЖАЮТ ПОВЫШЕННУЮ АКТИВНОСТЬ СИГНАЛИНГА HMGB1-TLR7-MYD88 В ГИППОКАМПЕ МОЗГА ДЛИТЕЛЬНО АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС

Никитина Д.Е.[1], студ. 4 курса, **Косарева А.М.**[1], студ. 4 курса,
Искалиева А.Р.[1], студ. 4 курса, **Ереско С.О.**[2,3], аспирант, м.н.с.
Научный руководитель: **Айрапетов М.И.**[1,4], доцент, с.н.с., к.м.н.
[1]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет
194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2, Российская Федерация,
[2]Санкт-Петербургский государственный университет
199034, Санкт-Петербург, университетская наб., д. 7-9, Российская Федерация
[3]Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14, Российская Федерация
[4]Институт экспериментальной медицины
197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12, Российская Федерация
E-mail: nikitinadaria19@mail.ru

В мозге крыс исследовали влияние длительной алкоголизации (2 мес) на содержание мРНК гена *Hmgb1*, а также генов белков, ответственных за реализацию сигнальный каскадов реакций, инициируемых белком Hmgb1. Было обнаружено повышение активности системы Hmgb1-TLR7-Myd88 в гиппокампе мозга алкоголизированных крыс, однако этот эффект был скорректирован с помощью инъекций рифампицина (100 мг/кг) и гинзенозидов (50 мг/кг).

Ключевые слова: *мозг, Hmgb1, алкоголизация, нейровоспаление, гинзенозиды, рифампицин.*

Белок Hmgb1 (он же амфотерин), располагаясь внутри или вне клетки, выполняет различные функции. Рецепторами к Hmgb1 являются RAGE, TLR2, TLR4, TLR5, также белок способен повышать активность TLR7 и TLR3 посредством образования комплексов с молекулами микроРНК, что приводит к активации внутриклеточных сигнальный путей реакций по Myd88-зависимому пути. Сообщается, что уровень Hmgb1 может быть индикатором различных расстройств ЦНС. Есть сведенья, что в условиях длительной алкоголизации повышает содержание белка Hmgb1 в структурах головного мозга, однако природа его происхождения и уровень экспрессии гена *Hmgb1* среди структур головного мозга, ответственных за эмоциогенный и когнитивный контроль, не изучался, что и послужило целью этой работы. Кроме того, в задачи исследования входило произвести коррекцию путей сигнализации, реализуемой белком Hmgb1 с помощью соединений, обладающих таким потенциальным механизмом действия.

Цель: выявить влияние длительной алкоголизации на содержание мРНК гена *Hmgb1* и компонентов сигнальных каскадов реакций белка Hmgb1, а также произвести коррекцию этих механизмов.

Материалы и методы. Работа выполнена на крысах-самцах линии Вистар (n=24, в группе по 8 крыс). Моделирование алкоголизации осуществлялось посредством инъекций 20%-го р-ра этанола на протяжении 2 мес. Далее выполнялись внутрибрюшинные инъекции гинзенозидов (50 мг/кг) и рифампицина (100 мг/кг) в течение 7 дней, группа контроля получала инъекции физ. р-ра. По окончании опыта были взяты образцы головного мозга для последующего анализа экспрессии целевых генов. Суммарная РНК была выделена с помощью Extract RNA (Евроген, РФ). ОТ выполнена набором «MMLV RT kit» (Евроген, РФ). Реал-тайм ПЦР проводили в 10 мкл смеси, содержащей SYBR Green MIX (Евроген, Россия), праймеры (BioBeagle, РФ). Данные были посчитаны методом $2\Delta\Delta C_T$ и статистически обработаны. В качестве статистического критерия достоверности использовали t-критерий Стьюдента.

Результаты. Было обнаружено повышение уровня мРНК Hmgb1 в 2,68 раз ($p<0.005$) в гиппокампе мозга алкоголизированных крыс. Выполненные инъекции гинзенозидов привели к снижению повышенного уровня мРНК Hmgb1 ($p<0.05$) до уровня контроля, инъекции рифампицина также понизили уровень мРНК Hmgb1 ($p<0.05$) практически до значений уровня контроля. В стриатуме и прилежащем ядре головного мозга статистически достоверных изменений в уровнях мРНК не выявлено. Гиппокамп является одной из ключевых структурах головного мозга, дисфункции в котором наблюдаются при длительном и остром употреблении этанола, а также и при других формах воздействия психоактивных веществ и иных психоневрологических расстройствах. Результаты нашего исследования показали повышение мРНК генов Toll-подобных рецепторов (TLR), к которым белок Hmgb1 является эндогенным лигандом или же образует комплексы с молекулами микро-РНК, лигандами TLR3 и TLR7, облегчая их взаимодействие с TLR. Уровень мРНК TLR3 повысился в 1,64 раза ($p<0.05$), мРНК TLR4 в 11,47 раз ($p<0.005$), TLR7 в 3,18 раза ($p<0.05$). Содержание мРНК адаптерного белка Myd88, инициирующего внутриклеточные сигнальные каскады реакций от TLR, также было повышено в 7,5 раз ($p<0.005$). Проанализировав полученные данные можем предполагать повышение активности сигналинга Hmgb1-TLR(3,4,7)-Myd88 в гиппокампе мозга крыс. Инъекции как рифампицина, так и гинзенозидов понизили содержание мРНК TLR7 до уровня контрольных значений.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о способности гинзенозидов (50мг/кг) и рифампицина (100 мг/кг) снижать повышенную активность сигналинга Hmgb1-TLR7-Myd88 в гиппокампе мозга крыс. Понимание реализации механизмов действия и его роли Hmgb1 в головном мозге может послужить для применения белка или его компонентов сигнальных каскадов реакций в качестве мишени при коррекции расстройств головного мозга, связанных с длительным воздействием этанола.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.00 Фармакология
76.03.53 Патологическая физиология
76.03.31 Медицинская биохимия

ЛИТЕРАТУРА:

1. Употребление алкоголя приводит к активации нейроиммунной системы посредством белка HMGB1 / М.И. Айрапетов [и др.] // Наркология. 2019. N 5. С. 96-102.

2. Уровень экспрессии Toll-подобных рецепторов изменяется в эмоциогенных структурах мозга крыс в условиях длительной алкоголизации и при отмене этанола / М.И. Айрапетов [и др.] // Медицинская иммунология. 2020. Т. 22. Вып. 1. С. 77-86.

3. Экспрессия гена HMGB1 изменяется в стриатуме и амигдале мозга крыс при длительной алкоголизации и отмене этанола / М.И. Айрапетов [и др.] // Биомедицинская химия. 2021 Т. 67. Вып. 1. С. 95-99.

SUMMARY

RIFAMPICIN AND GINSENOSIDES INJECTIONS DECREASE INCREASED ACTIVITY OF HMGB1-TLR7-MYD88 SIGNALING IN THE BRAIN HIPPOCAMPUS OF LONG-TERM ALCOHOLIZED RATS

Nikitina D.E.[1], 4th year student, **Kosareva A.M.**[1], 4th year student,
Iskalieva A.R.[1], 4th year student, **Eresko S.O.**[2,3] , junior researcher
Supervisor: **Airapetov M.I.**[1,4], associate professor, PhD
[1]St. Petersburg State Pediatric Medical University
194100, St. Petersburg, st. Lithuanian, 2, Russian Federation,
[2]Saint Petersburg State University
199034, Saint Petersburg, Universitetskaya emb., 7-9, Russian Federation
[3]Saint Petersburg Chemical Pharmaceutical University
197022, St. Petersburg, st. prof. Popova, 1,
[4]Russian Federation 4Institute of Experimental Medicine
197376, St. Petersburg, st. Academician Pavlova, 12, Russian Federation
E-mail: nikitinadaria19@mail.ru

In the brain of rats, we studied the effect of prolonged alcoholization (2 months) on the content of mRNA of the Hmgb1 gene, as well as the genes for proteins responsible for the signaling cascades of reactions initiated by the Hmgb1 protein. An increase in the activity of the Hmgb1-TLR7-Myd88 system was found in the hippocampus of the brain of alcoholized rats, but this effect was corrected by injections of rifampicin (100 mg/kg) and ginsenosides (50 mg/kg).

Keywords: *HMGB1, brain damage, neuroinflammation, alcohol exposure, ginsenosides, rifampicin.*

REFERENCES

1. Alcohol consumption leads to the activation of the neuroimmune system through the HMGB1 protein / M.I. Airapetov [et al.] // Narcology. 2019. N 5. P. 96-102. (in Russian)

2. The level of expression of Toll-like receptors is manifested in the emotional structures of the brain of rats under conditions of prolonged alcoholization and with the abolition of ethanol / M.I. Airapetov [et al.] // Medical Immunology. 2020 Vol. 22(1). P. 77-86. (in Russian)

3. HMGB1 gene expression changes in the striatum and amygdala of the rat brain during prolonged alcoholization and ethanol withdrawal / M.I. Airapetov [et al.] // Biomedical Chemistry. 2021. Vol. 67(1). P. 95-99. (in Russian)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ОПОЛАСКИВАТЕЛЕЙ ДЛЯ ПОЛОСТИ РТА ПО ОТНОШЕНИЮ К ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ

Пиньковская Д.Ю., 3 курс, стоматологический факультет,
Василевич М.С., 3 курс стоматологический факультет, **Кравченко Р.В.**, аспирант 2-го года обучения
Научный руководитель: **Ржеусский С.Э**., канд. фарм. наук, доцент
Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет
210009, г. Витебск, пр-т Фрунзе, д. 27, Республика Беларусь
E-mail: pinkovskaya.d@mail.ru

В данной работе была изучена антимикробная активность ополаскивателей для полости рта. Методом двукратных разведений исследованы минимальные подавляющие концентрации данных ополаскивателей. Также изучена антимикробная их активность на ряд микроорганизмов. Установлено, что ополаскиватели с содержанием 2-бромо-2-нитропропан-1,3-диола, фтора обладают хорошим антимикробным действием по отношению к грамположительным микроорганизмам.

Ключевые слова: *ополаскиватели полости рта, микрофлора полости рта, заболевания пародонта, антимикробная активность.*

Различные заболевания пародонта являются на данный момент одной из главной по распространенности проблем в современной стоматологии. Большую часть микрофлоры полости рта составляют грамположительные микроорганизмы.

Постоянный и регулярный уход за полостью рта необходим для удаления зубного налета и, в свою очередь, профилактики воспалительных заболеваний пародонта.

Вместе с механическим удалением зубных отложений, применяются и различные растворы для полоскания.

В наше время на рынке представлено большое количество представителей ополаскивателей полости рта различных стран производителей и ценовых категорий, в результате чего необходимо более детально разобраться в вопросах эффективности и свойств ополаскивателей для нахождения наиболее подходящих вариантов по соотношению цена/качество [1,2].

Цель исследования. Оценка эффективности применения ополаскивателей полости рта, сравнение антибактериальных свойств различных ополаскивателей.

Материалы и методы. Для исследования использовались ополаскиватели для полости рта марок:

1. «Biomed» ООО «Органик Фармасьютикалз»
2. «Listerine» ООО «Сетес Косметикс»
3. «Dent White» «Фреш Минт Технолоджи»
4. «Invent» ООО «Парфюм Трейд»
5. «Colgate» «Colgate-Palmoliv Manufacturing»
6. «Splat» ООО «Органик Фармасьютикалз»
7. «R.O.C.S.» ООО «ЕВРОКОСМЕД – Ступино»
8. «Oral-B» «Procter & Ganble Manufacturing GmbH»
9. «32 жемчужины» СОАО «Парфюмерно-косметическая фабрика “Модум-наша косметика”»
10. «Listerine naturals» ООО «Сетес Косметикс»
11. «Glister» «Amway»

Микробный ряд: Streptococcus mutans, Enterococcus, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis.

Определение минимальной подавляющей концентрации ополаскивателей проводили методом двукратных разведений [3] в жидких среде Мюллер–Хинтон в П-образных культуральных планшетах с крышкой на 96 лунок. В одном планшете изучалась МПК исследуемых веществ по отношению к одному микроорганизму. Для этого во все лунки вносили 100 мкл питательной среды, затем в первую лунку каждого ряда внесли по 100 мкл исследуемого вещества. Последовательно переносили 100мкл содержимого первой лунки во вторую, из второй в третью и так до восьмой, из восьмой лунки сливали 100 мкл. Затем в каждую лунку вносили 100 мкл взвеси суточной бульонной культуры исследуемого микроорганизма с величиной посевной дозы 10^9 КОЕ/мл. Планшеты инкубировали при температуре 37 С° на протяжении 18–24 часов. Учет результатов проводили визуально по наличию или отсутствию роста микроорганизмов в среде (наличие мути), содержащей различные концентрации исследуемых веществ. МПК исследуемого вещества по отношению к исследуемому штамму определяли, как концентрацию вещества в последней ячейке, в которой наблюдалась задержка роста.

Были проанализированы цены на ополаскиватели в сетях розничной торговли и рассчитали стоимость 100 мл раствора по формуле (1).

$$\text{Стоимость}_{100\text{мл}} = \frac{\text{Стоимость упаковки}}{\text{Объём упаковки}} * 100 \quad (1)$$

Результаты исследования.

В результате изучения рынка и дальнейшей статистической обработки были рассчитаны цены на 100 мл продукта, представленные в таблице 1

Таблица 1 – Стоимость продукции за 100 миллилитров

Торговое название	Стоимость (BYR) за 100 мл	Стоимость упаковки (BYR)	Объём упаковки (мл)
Glister	0.33	26,42	Концентрат 50, разбавляемый до 8000
R.O.C.S.	3.75	14,99	400
Colgate	1.96	9,79	500
Listerine	1.84	9,19	500
Listerine naturals	1.84	9,19	500
Biomed	1.47	7,37	500
Splat	2.18	5,99	275
32 жемчужины	1.66	5,80	350
Oral-B	2.28	5,69	250
Dent White	0.67	3,99	600
Invent	0.52	2,59	500

Определено 3 категории по цене: 1-дешевые, 2-средние, 3-дорогие. К первой группе отнесли «Glister», «Dent White», «Invent». Во вторую группу вошли «Colgate», «32 жемчужины», «Biomed», «Listerine naturals», «Listerine». В третью «Oral-B», «R.O.C.S.», «Splat». Далее изучили антимикробную активность ополаскивателей для полости рта методом двукратных разведений. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты антимикробной активности ополаскивателей, представлены в виде степени разведения

	Str.	Ent.	St. a.	B. s.
Listerine naturals	1/16	1/8	-	-
Listerine	1/8	1/8	-	1/4
Dent White	1/128	1/64	1/32	1/128
Biomed	1/32	1/8	1/4	-
Invent	1/64	1/16	1/16	1/32
Colgate	1/512	1/512	1/512	1/128
R.O.C.S.	1/8	1/8	1/8	-
32 жемчужины	1/16	1/16	1/8	1/16
Oral-B	1/256	1/256	1/512	1/64
Splat	1/4	1/4	-	1/4
Glister	1/128	1/256	1/16	1/64

Из данных таблицы 2 следует, что наибольшей активностью по отношению к Streptococcus mutans, обладает ополаскиватель торговой марки «Colgate», ему немного уступают «Oral-B», «Dent White», «Glister».

По отношению к Enterococcus наибольшая антимикробная активность у «Colgate», «Oral-B», «Glister».

Высокой антимикробной активностью против Staphylococcus aureus обладают «Colgate» и «Oral-B».

«Colgate» и «Dent White» лучше подавили рост Bacillus subtilis.

Исходя из этого можно сказать, что дешёвые ополаскиватели обладают неплохой антимикробной активностью и в некоторых моментах проявили себя даже лучше, чем представители 3 группы и некоторые представители 2 группы. Лучшим по антимикробной активности и соотношению цена/качество оказался ополаскиватель торговой марки «Colgate».

Так же установили, что некоторые ополаскиватели в своём составе содержат 2-бромо-2-нитропропан-1,3-диол, который обладает хорошей противомикробной активностью. Это именно тот компонент, за счёт которого, бюджетные ополаскиватели имеют хорошее соотношение цены/качества.

Выводы

В результате исследования было определено, что наибольшей антимикробной активностью по отношению ко всем представителям обладают ополаскиватели торговой марки «Colgate», «Oral-B», «Glister». По соотношению цена/качество лучшие из представленных ополаскивателейявляются: «Biomed», Invent», «Glister», имеющие высокую антимикробную активность при низкой стоимости 100 мл продукта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адасенко А.А. Стоматологический статус у пациентов с заболеваниями слизистой оболочки полости рта // Актуальные проблемы современной медицины 2010: Материалы 64-й Международной научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной 65-летию Победы в Великой Отечественной войне. Минск: БГМУ, 2010. С. 432–433.

2. Грудянов А.И. Профилактика воспалительных заболеваний пародонта М.: МИА, 2007. 80 с

3. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: учеб. пособие / под ред. А. С. Лабинской [и др.] М.: Медицина, 2004. 576 с.

SUMMARY

DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF MOUTHWASHES IN RELATION TO GRAM-POSITIVE MICROORGANISMS

Pinkovskaya D.Y., 3rd year, Faculty of Dentistry,
Vasilevich M.S., 3rd year dental faculty, **Kravchenko R.V**., PhD student of the 2nd year of study
Scientific supervisor: **Rzheussky S.E**., Candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor
Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University
27 Frunze Ave., Vitebsk, 210009, Republic of Belarus
E-mail: pinkovskaya.d@mail.ru

In this work, the antimicrobial activity of mouthwashes was studied. The method of double dilutions investigated the minimum overwhelming concentration of these rinses. Their antimicrobial activity on a number of microorganisms has also been studied. It has been established that rinses containing 2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol, fluorine have a good antimicrobial effect against gram-positive microorganisms.

Keywords: *mouthwashers, oral microflora, periodontal diseases, antimicrobial activity.*

REFERENCES

1. Adasenko A.A. Dental status in patients with diseases of the oral mucosa // Actual problems of modern medicine 2010: Proceedings of the 64th International scientific conference of students and young scientists dedicated to the 65th anniversary of the Victory in the Great Patriotic War. Minsk: BSMU. 2010. 432–433 p. (in Russian)

2. Grudyanov A.I. Prevention of inflammatory periodontal diseases. Moscow: MIA. 2007. 80 p. (in Russian)

3. General and sanitary microbiology with the technique of microbiological research : studies. manual / Ed. A. S. Labinskaya [et al.] Moscow: Medicine. 2004. 576 p. (in Russian)

УДК 616.36-003.826+616.36-002.2+616.89-008.46,+616-092.9

ВЛИЯНИЕ ОРНИТИНА АСПАРТАТА И ЭМПАГЛИФЛОЗИНА НА ПРОЯВЛЕНИЯ КОГНИТИВНО-МНЕСТИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ НЕАЛКОГОЛЬНОМ СТЕАТОГЕПАТИТЕ

Приходько В.А., аспирант 3 года обучения (ORCID: 0000-0002-4690-1811; ResearcherID: ABI-3545-2020)
Руководители: **Оковитый С.В.**, д-р мед. наук, проф., заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии (ORCID: 0000-0003-4294-5531; ResearcherID: Q-5122-2018); **Сысоев Ю.И.**, канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии (ORCID: 0000-0003-4199-5318)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 4, Российская Федерация
E-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

В настоящей работе изучена динамика когнитивно-поведенческих и мнестических функций у мышей линии C57BL/6 в условиях прогрессирующей неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и проведена оценка влияния двух препаратов с гепатопротективными свойствами – L-орнитина L-аспартата и эмпаглифлозина – на выраженность выявленных нарушений. Установлено, что НАЖБП сопровождается повышением уровня тревожности и ослаблением кратковременной пространственной и распознающей памяти на начальных этапах с последующей компенсацией нарушений в результате развития адаптационных реакций. Показано, что исследуемые препараты не оказывают анксиолитического

эффекта в условиях использованной модели, но обладают собственной психотропной активностью, вероятно, обусловленной наличием дополнительных центральных механизмов действия.

Ключевые слова: *когнитивный дефицит, мнестический дефицит, тревожность, неалкогольная жировая болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит, орнитина аспартат, эмпаглифлозин, гепатопротекторы.*

По современным оценкам, неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) обнаруживается приблизительно у четверти мирового населения, что делает ее основной причиной хронической патологии печени. Ожидается, что НАЖБП и, в частности, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) станут наиболее частыми причинами развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, а также потребности в трансплантации печени в ближайшем будущем [1]. Помимо метаболических расстройств, все большее внимание специалистов привлекают ассоциированные с НАЖБП психоневрологические нарушения, в число которых входят тревожные и депрессивные расстройства, эмоциональная лабильность, изменения личности, ослабление памяти и внимания. Некоторые исследователи полагают, что те или иные когнитивно-мнестические нарушения осложняют течение НАЖБП практически у всех больных, из которых половина испытывают их в легкой форме, а другая половина – в среднетяжелой или тяжелой [2].

К лекарственным средствам, применение которых может быть показано у больных НАЖБП, относятся гепатопротекторы, гипогликемизирующие и гиполипидемические средства [3]. В настоящее время большинство фармакологических исследований направлено на оценку способности этих средств восстанавливать биохимические функции и гистологическую структуру печени, в то время как их эффективность в отношении психоневрологических осложнений НАЖБП остается весьма мало изученной. В связи с вышесказанным, целью настоящей работы стала оценка влияния двух средств с гепатопротекторными свойствами – L-орнитина L-аспартата и эмпаглифлозина – на проявления когнитивно-мнестического дефицита у животных с экспериментальным НАСГ.

Исследование проводили в соответствии с Базельской декларацией (2011 г.), приказом Минздрава РФ № 199н от 01.04.16 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» после одобрения биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ. Эксперименты были выполнены на 100 мышах-самцах линии C57Bl/6 массой 15-20 г, полученных из ФГУП «ПЛЖ «Рапполово»» (Ленинградская область, РФ) одной партией и прошедших карантин в течение 14 дней. Мыши получали корм «Полнорационный комбикорм для лабораторных животных» (ООО «Лабораторкорм», РФ) и воду, соответствующую требованиям ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая». Доступ к корму и воде был обеспечен *ad libitum*. Непосредственно перед началом исследования животные были рандомизированы методом случайных чисел на 4 группы: 1) интактная (Интакт, n = 10); 2) контрольная (Контроль, n = 30); 3) группа, получавшая терапию L-орнитина L-аспартатом (LOLA (Гепа-Мерц®, Merz Pharma GmbH & Co. KgaA, Германия), 1.5 мг/кг/д, n = 30); и 4) группа, получавшая терапию эмпаглифлозином (ЭМПА (Джардинс®, Boehringer Ingelheim International GmbH, Германия), 10 мг/кг/д, n = 30).

Для воспроизведения картины НАСГ использовали сочетание высококалорийной, высокожировой («западной») диеты и внутрибрюшинного введения раствора тетрахлорметана (в миндальном масле) в дозе 0.32 мг/кг 1 р/нед. Мыши групп LOLA, ЭМПА и контрольной группы получали рацион, содержавший 36.65% стандартного корма, 21.1% топленого говяжьего жира, 41% D-фруктозы и 1.25% холестерина, а также раствор D-фруктозы (42 г/л) для питья [4]. Интактные мыши получали стандартный корм и питьевую воду без добавок. LOLA и ЭМПА вводились 1 р/д внутрижелудочно с использованием зонда в виде свежеприготовленных водных растворов. Контрольным животным вводили эквиобъемные количества 0.9% NaCl п/о; интактным животным – эквиобъемные количества 0.9% NaCl п/о и миндального масла в/б. Моделирование НАСГ и введение препаратов осуществляли в течение 3-месячного периода с гистологическим контролем по завершении эксперимента.

Для оценки когнитивно-мнестических функций животных последовательно тестировали в установках «Открытое поле» (ОП), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Черно-белая камера» (ЧБК), «Спонтанное чередование в Т-лабиринте» (ТЛ-СЧ) и «Распознавание нового объекта» (РНО) согласно общепринятым методикам с использованием системы видеорегистрации VideoMot2 3.0.1 (TSE Systems GmbH, Германия). Тестирование проводили по истечении 1, 2 и 3 мес моделирования НАСГ.

В тесте ОП оценивали пройденную дистанцию (см), среднюю скорость передвижения (см/с), время, проводимое мышью в неподвижном состоянии (с), время, проводимое в центре поля (с), число замираний, посещений сегментов поля, грумингов, стоек и заглядываний в отверстия-«норки». В тесте ПКЛ оценивали время, проводимое животным в центре, в открытых (ОР) и закрытых рукавах (ЗР) лабиринта (с), число заходов в ОР и ЗР, число грумингов, стоек, свисаний с ОР и выглядываний из ЗР. В тесте ЧБК оценивали время, проводимое мышью в белой камере (БК) (с), пройденную в БК дистанцию (см), среднюю скорость (см/с), время в неподвижном состоянии (% от общего времени в БК), число переходов между камерами, латентность и длительность первого посещения черной камеры (ЧК) (с), частоту замираний, грумингов и стоек в БК ($с^{-1}$), а также число выглядываний из ЧК. В тесте ТЛ-СЧ измеряли частоту чередования рукавов лабиринта. В тесте РНО оценивали долю времени, затрачиваемого мышью на изучение нового объекта (%), и вычисляли индекс дискриминации по формуле: $I_d = (t_1 - t_2)/(t_1 + t_2)$, где t_1 – время изучения нового объекта, t_2 – время изучения старого объекта.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программного обеспечения Prism 9.0.0 (GraphPad Software, США). Значения, полученные в тестах ОП, ЧБК и ПКЛ, нормализовали относительно средних арифметических контрольной группы и выражали в процентах. Нормальность распределения количественных признаков проверяли с помощью W-критерия Шапиро-Уилка. При нормальном распределении количественных признаков значимость различий оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с *post hoc* тестом по Даннетту, при ненормальном распределении – с помощью непараметрического критерия Краскела-Уоллиса с *post hoc* тестом по Данну. Попарные сравнения проводили относительно значений контрольной группы; порог статистической значимости

устанавливали на уровне $p < 0.05$. Числовые данные на графиках представлены в виде средних арифметических; планки погрешностей и области заливки отражают стандартные ошибки средних.

По истечении 1 мес моделирования НАСГ у контрольных животных наблюдалось значительное увеличение числа заглядываний в «норки» в тесте ОП ($p < 0.01$) и числа стоек в тесте ПКЛ ($p < 0.01$). Через 2 мес от начала эксперимента обнаруживалось увеличение частоты грумингов ($p < 0.05$) в тесте ПКЛ, а также значительное снижение времени изучения НО и индекса дискриминации объектов в РНО ($p < 0.05$ в обоих случаях). По окончании периода моделирования НАСГ единственными изменениями были уменьшение пройденной дистанции в тесте ЧБК ($p < 0.05$) и частоты спонтанного чередования рукавов в ТЛ-СЧ ($p < 0.01$).

Через 1 мес после начала эксперимента в группах LOLA и ЭМПА отмечалось уменьшение времени, проводимого в центре ОП ($p < 0.01$ для обеих групп); в группе LOLA – также увеличение числа заходов в ЗР ПКЛ ($p < 0.01$) и средней скорости движения в ЧБК ($p < 0.05$), в группе ЭМПА – снижение частоты замираний и стоек ($p < 0.01$ в обоих случаях) и увеличение частоты грумингов в тесте ОП ($p < 0.05$).

Через 2 мес у мышей, получавших LOLA, наблюдалось выраженное увеличение пройденной дистанции ($p < 0.05$), средней скорости ($p < 0.05$), числа посещений ($p < 0.05$), стоек ($p < 0.01$) и заглядываний ($p < 0.05$), уменьшение времени, проводимого без движения, в ОП ($p < 0.05$), а также нормализация значений времени изучения НО и индекса дискриминации относительно здоровых особей в тесте РНО ($p < 0.05$). В группе ЭМПА было зафиксировано увеличение частоты стоек в ОП и средней скорости движения в ЧБК ($p < 0.05$ в обоих случаях).

По окончании периода моделирования патологии печени в группе LOLA в тесте ОП было выявлено уменьшение пройденной дистанции ($p < 0.01$), числа замираний ($p < 0.01$), посещений ($p < 0.05$) и стоек ($p < 0.05$), увеличение времени, проводимого в неподвижности ($p < 0.01$). В тесте ПКЛ у животных данной группы наблюдалось сокращение числа заходов в ОР ($p < 0.05$) и времени, проводимого в них ($p < 0.01$); в тесте ЧБК – уменьшение времени нахождения в БК ($p < 0.05$) и пройденной дистанции ($p < 0.01$). Мыши, получавшие терапию ЭМПА, реже замирали ($p < 0.01$), но проводили больше времени без движения ($p < 0.05$) в ОП и в ЗР ПКЛ ($p < 0.01$), в то время как частота посещений ОР у них была значительно ($p < 0.01$) снижена по сравнению с контрольными животными. Ни один из препаратов не оказывал достоверного влияния на частоту чередования в тесте ТЛ-СЧ на протяжении всего эксперимента (рис. 1-5).

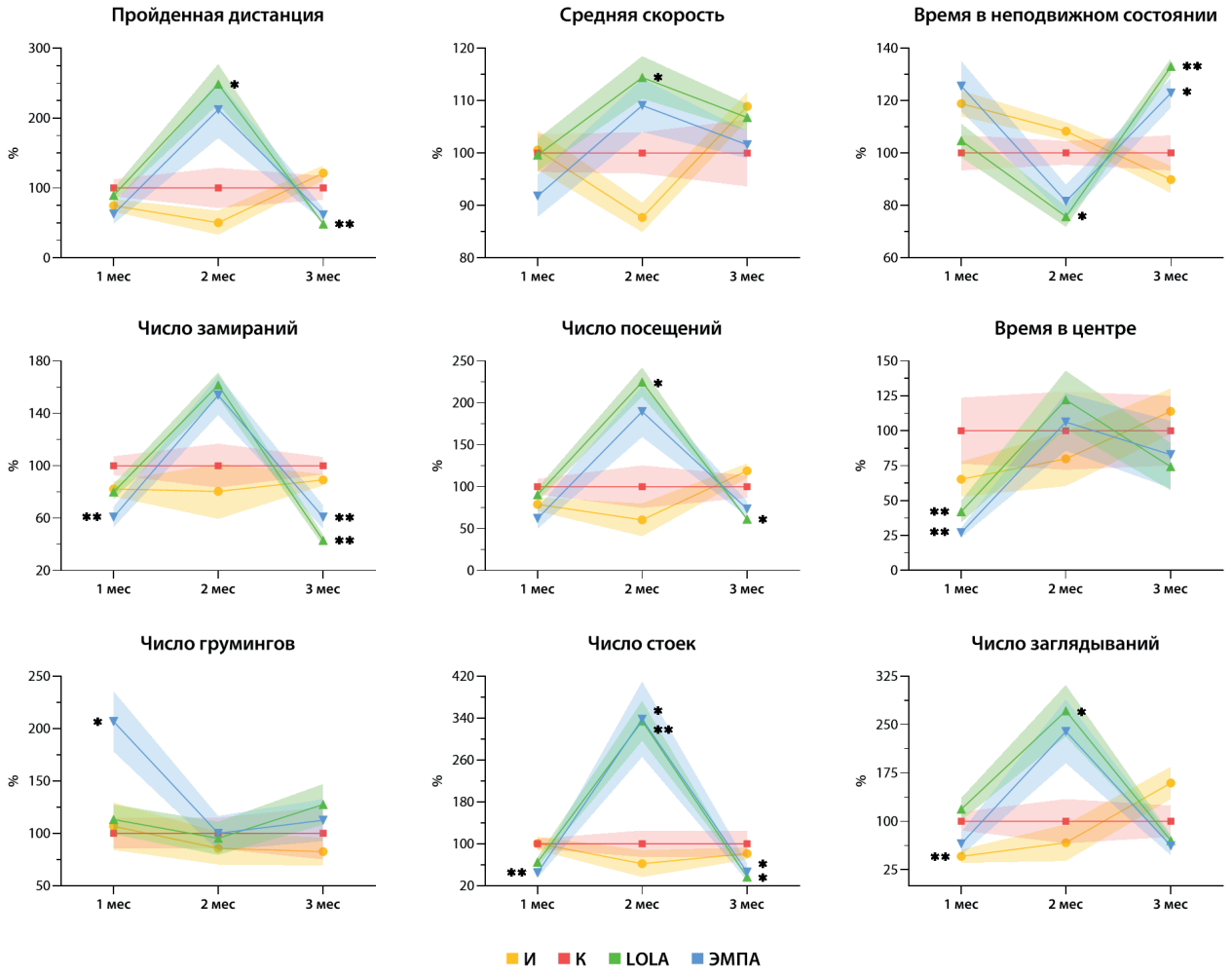


Рисунок 1. Результаты оценки общей двигательной и исследовательской активности животных в тесте «Открытое поле». И – Интакт, К – Контроль, LOLA – L-орнитина L-аспартат, ЭМПА – эмпаглифлозин; * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$

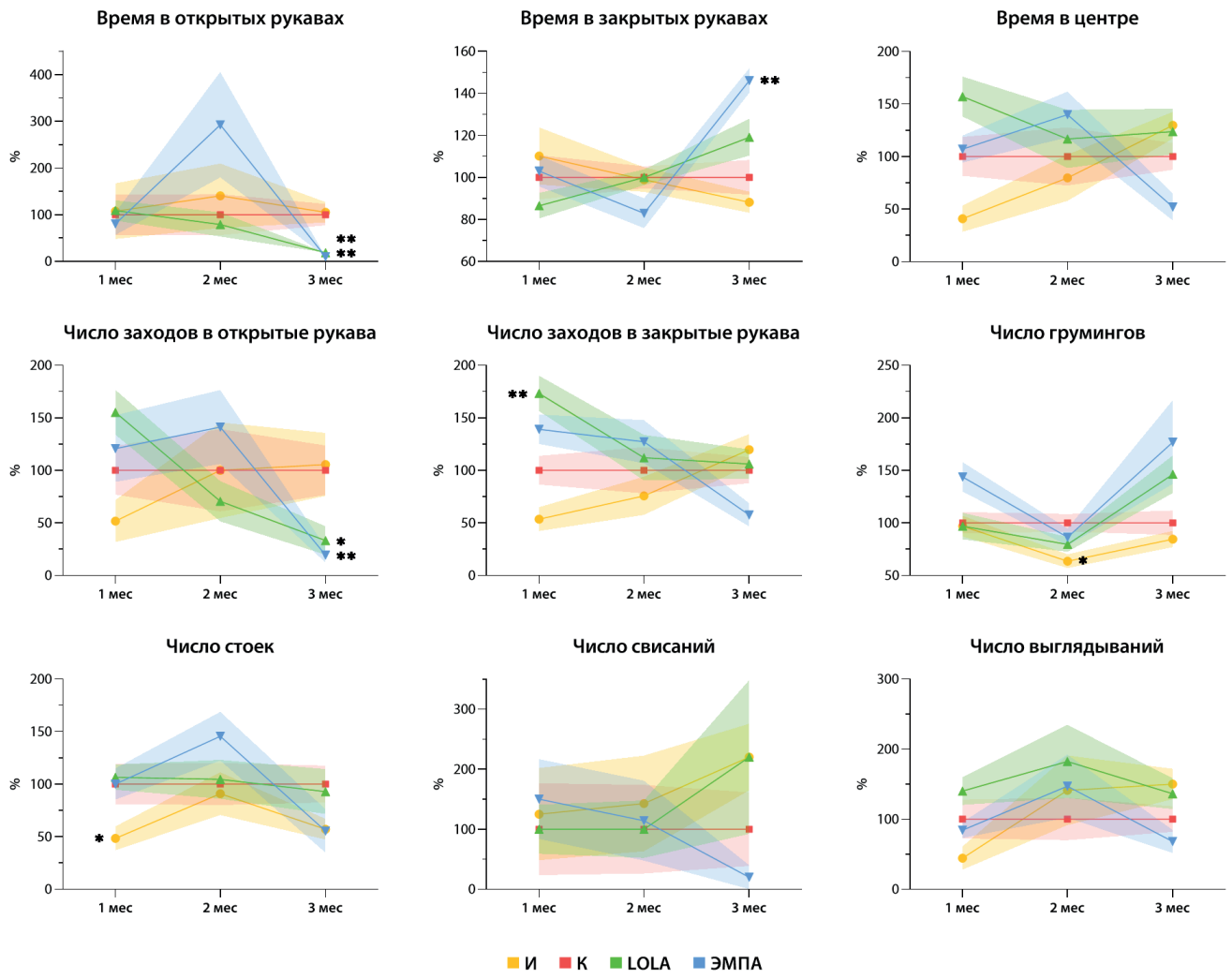


Рисунок 2. Результаты оценки исследовательской активности и тревожности животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». И – Интакт, К – Контроль, LOLA – L-орнитина L-аспартат, ЭМПА – эмпаглифлозин; * – p < 0.05, ** – p < 0.01

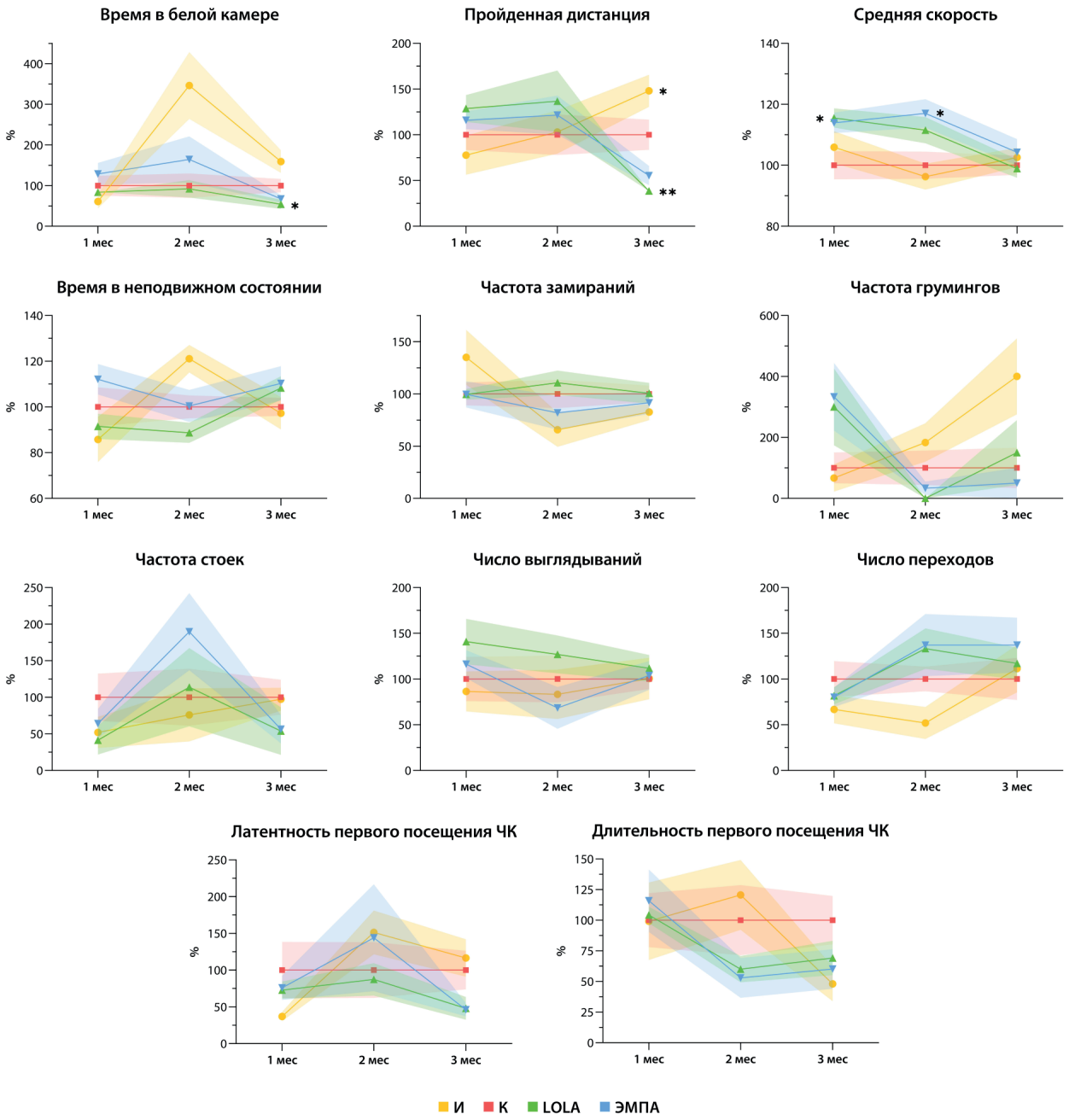


Рисунок 3. Результаты оценки общей двигательной и исследовательской активности и тревожности животных в тесте «Черно-белая камера». И – Интакт, К – Контроль, LOLA – L-орнитина L-аспартат, ЭМПА – эмпаглифлозин, ЧК – черная камера; * – p < 0.05, ** – p < 0.01

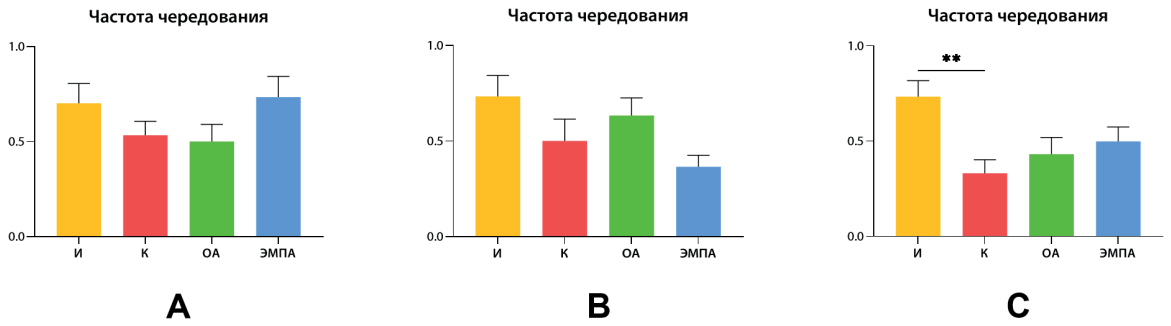


Рисунок 4. Результаты оценки исследовательской активности и краткосрочной пространственной памяти животных в тесте «Спонтанное чередование в Т-лабиринте» через 1 (A), 2 (B) и 3 (C) месяца от начала эксперимента. И – Интакт, К – Контроль, LOLA – L-орнитина L-аспартат, ЭМПА – эмпаглифлозин; ** – p < 0.01

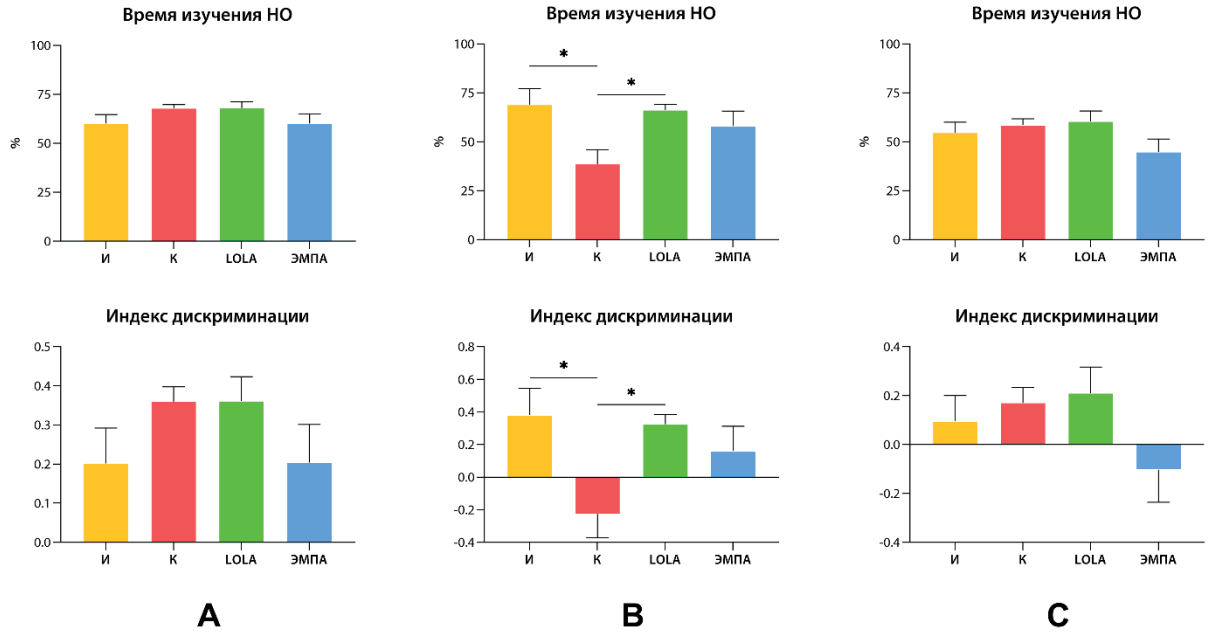


Рисунок 5. Результаты оценки краткосрочной распознающей памяти животных в тесте «Распознавание нового объекта» через 1 (A), 2 (B) и 3 (C) месяца от начала эксперимента. НО – новый объект, И – Интакт, К – Контроль, LOLA – L-орнитина L-аспартат, ЭМПА – эмпаглифлозин; * – p < 0.05

Вышеописанные наблюдения позволяют предположить развитие когнитивно-поведенческой и мнестической дисфункции у животных на фоне экспериментальной НАЖБП. Изменения, выявленные в первые 2 мес эксперимента, могут быть интерпретированы как повышение уровня тревожности и ослабление краткосрочной пространственной и распознающей памяти. При этом перечисленные нарушения носили нелинейный характер и имели тенденцию к полной или частичной компенсации по окончании периода исследования, что, вероятно, может быть объяснено адаптацией обменных процессов к внешнему воздействию.

В экспериментальных группах, получавших лечение препаратами, отмечался широкий спектр изменений поведенческих характеристик животных, что свидетельствует о наличии у данных препаратов существенной нейро- и/или психотропной активности. В настоящем исследовании ни LOLA, ни ЭМПА не оказывали анксиолитического эффекта, показанного ранее в условиях более мягкой модели НАЖБП [5]. Применение LOLA способствовало сохранению распознающей памяти у животных по данным теста РНО в одной из контрольных точек, в то время как ЭМПА не оказывал существенного влияния на выраженность мнестического дефицита. Отсутствие прямой корреляции выраженности эффектов с прогрессией и тяжестью заболевания, по-видимому, указывает на наличие дополнительных неметаболических механизмов центрального действия исследуемых соединений [6].

Полученные результаты свидетельствуют о развитии на фоне экспериментальной НАЖБП когнитивно-поведенческой и мнестической дисфункции, проявляющейся повышением уровня тревожности и ухудшением краткосрочной пространственной и распознающей памяти. LOLA и ЭМПА не обладают анксиолитическим действием в условиях использованной модели, однако применение LOLA может способствовать сохранению краткосрочной распознающей памяти на промежуточных стадиях заболевания.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения №075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.29.34 Гастроэнтерология и гепатология
76.31.00 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Younossi Z.M. Non-alcoholic fatty liver disease - A global public health perspective // Journal of Hepatology 2019. Vol. 70(3). P. 531−544. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.033.

2. Newton J.L. Systemic symptoms in non-alcoholic fatty liver disease // Digestive Diseases. Karger Publishers. 2010. Vol. 28(1). P.214−219. https://dx.doi.org/10.1159/000282089

3. Prikhodko V.A., Bezborodkina N.N., Okovityi S.V. Pharmacotherapy for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Emerging Targets and Drug Candidates // Biomedicines 2022. Vol. 10(2). https://dx.doi.org/274. 10.3390/biomedicines10020274

4. A simple diet- and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver cancer / T. Tsuchida [et al.] // Journal of Hepatology. 2018. Vol. 69(2). P. 385−395. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.011.

5. Effects of empagliflozin and l-ornithine l-aspartate on behavior, cognitive functions, and physical performance in mice with experimentally induced steatohepatitis / V.A. Prikhodko [et al.] // Bulletin of RSMU 2020. N 3. P.53−62. https://dx.doi.org/10.24075/brsmu.2020.034

6. Perspective of SGLT2 Inhibition in Treatment of Conditions Connected to Neuronal Loss: Focus on Alzheimer's Disease and Ischemia-Related Brain Injury / M. Wiciński [et al.] // Pharmaceuticals (Basel) 2020. Vol. 13(11). P. 379. doi: 10.3390/ph13110379.

SUMMARY

EFFECTS OF ORNITHINE ASPARTATE AND EMPAGLIFLOZIN ON SYMPTOMS OF COGNITIVE AND MEMORY DYSFUNCTION IN EXPERIMENTAL NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS

Prikhodko V.A., 3rd year postgraduate student (ORCID: 0000-0002-4690-1811; ResearcherID: ABI-3545-2020)
Academic advisors: **Okovityi S.V.**, Doctor of Medical Sciences, Professor, head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology (ORCID: 0000-0003-4294-5531; ResearcherID: Q-5122-2018);
Sysoev Yu.I., Candidate of Biological Sciences, associate professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology (ORCID: 0000-0003-4199-5318)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

This paper discusses the dynamics of cognitive, behavioural, and memory functions in C57BL/6 mice with progressive non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the effects thereon of two drugs with hepatoprotective properties, L-ornithine L-aspartate and empagliflozin. NAFLD was confirmed to be associated with increased anxiety and a decline in spatial and recognition memory at initial stages, with a subsequent attenuation of the symptoms most likely due to metabolic adaptation. The two drugs were found to have no anxiolytic effect in the model used in this study, but exhibited distinct psychotropic activity that could be linked to additional central mechanisms of action.

Keywords: *cognitive deficit, memory deficit, anxiety, non-alcoholic liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, ornithine aspartate, empagliflozin, hepatoprotectors.*

REFERENCES

1. Younossi Z.M. Non-alcoholic fatty liver disease - A global public health perspective // Journal of Hepatology 2019. Vol. 70(3). P. 531−544. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.033.

2. Newton J.L. Systemic symptoms in non-alcoholic fatty liver disease // Digestive Diseases. Karger Publishers. 2010. Vol. 28(1). P.214−219. https://dx.doi.org/10.1159/000282089

3. Prikhodko V.A., Bezborodkina N.N., Okovityi S.V. Pharmacotherapy for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Emerging Targets and Drug Candidates // Biomedicines 2022. Vol. 10(2). https://dx.doi.org/274. 10.3390/biomedicines10020274

4. A simple diet- and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver cancer / T. Tsuchida [et al.] // Journal of Hepatology. 2018. Vol. 69(2). P. 385−395. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.011.

5. Effects of empagliflozin and l-ornithine l-aspartate on behavior, cognitive functions, and physical performance in mice with experimentally induced steatohepatitis / V.A. Prikhodko [et al.] // Bulletin of RSMU 2020. N 3. P.53−62. https://dx.doi.org/10.24075/brsmu.2020.034

6. Perspective of SGLT2 Inhibition in Treatment of Conditions Connected to Neuronal Loss: Focus on Alzheimer's Disease and Ischemia-Related Brain Injury / M. Wiciński [et al.] // Pharmaceuticals (Basel) 2020. Vol. 13(11). P. 379. doi: 10.3390/ph13110379.

БАДЫ В ПРОФИЛАКТИКЕ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ У СПОРТСМЕНОВ СЛОЖНОКООРДИНАЦИОННЫХ ВИДОВ СПОРТА

Прокопьев И.П., студ 4 курса
Руководитель: **Гришин В.В.**, канд. мед. наук, доцент
Национальный государственный Университет физической культуры спорта и здоровья имени П.Ф. Лесгафта
190121, Санкт-Петербург. ул. Декабристов, д. 35.
Email: hhhooo988@gmail.com

Нами были изучены проблемы использования биологически активных добавок, призванных для профилактики аллергических поражений у спортсменов сложнокоординационных видов спорта, их эффективности и наличия в них допинговых веществ. БАДы могут не только дать те вещества, которых не хватает организму в среднестатистическом

рационе питания, но и повредить карьере спортсмена, принимающего эти добавки. Именно поэтому и встает вопрос о применении биологически-активных добавок спортсменами разных видов спорта.

Ключевые слова: *Биологически-активные добавки, восстановление питания, спортивное питание, аллергические поражения.*

Тема БАДов исследуется лишь с 90-ых годов XX века, однако уже неплохо изучена[1]. Множество научных трудов можно найти и на тему использования биологически активных добавок спортсменами, их пользы для организма и опасности в антидопинговой сфере. Существует множество статей в таких журналах как «наука и медицина в спорте» (Journal of science and medicine in sport), и во многих других. В этих статьях[3][4] можно найти множество исследований по влиянию БАДов на профилактику аллергических поражений, в частности и для спортсменов, их допинговом эффекте, и других подводных камней.

Опасность БАДов заключается в том, что большой процент продаваемых в мире добавок – являются поддельными[2], состав в которых может отличаться от указанного на упаковке, а некоторое спортивное питание (например Plant-Fusion Complete Protein) и в официальных партиях содержит хигенамин и аримистан, находящийся в запрещенном списке WADA.

Задачи исследования:

1. Определить рациональность использования биологически активных добавок в питании спортсменов сложнокоординационных видов спорта, их эффективность в профилактике аллергических поражений, и наличие в них допинговых веществ.

2. Определить перспективы использования биологически активных добавок в спортивном питании спортсменов сложнокоординационных видов спорта.

Материалы и методы

Для исследования биологически активных добавок используемых для профилактики аллергических поражений мы взяли довольно популярные биологически активные добавки, а именно «Бета глюкан» от Эвалар. После проверки данного препарата на сайте РУСАДА, мы убедились, что он не содержат никаких запрещенных в спорте веществ.

После этого мы отнесли «Бета глюкан» в лабораторию, в которой для нас провели исследование данного препарата, в ходе которого, состав, написанный на упаковке полностью подтвердился (а именно: бета глюканы-1,3, микрокристаллическая целлюлоза (носитель), стеариновая кислота (носитель), растительная целлюлоза [гидроксипропилметилцеллюлоза (носитель), кроскарамеллоза (носитель)], диоксид кремния(антислеживающий агент), магниевая соль стеариновой кислоты (антислеживающий агент), глицерин (носитель))

Результаты и обсуждение

Это означает, что перед нами нефальсифицированная биологически активная добавка, действительно сделанная на официальном заводе Эвалар в Бийске. Таким образом, мы понимаем, что в данном случае нам повезло, однако в нашем случае, у нас было мало шансов нарваться на подделку, из-за того, что мы покупали препарат в официальном магазине Эвалар.

Возможно свести к нулю попадание под антидопинговые правила, при выборе бада, ибо вероятность покупки поддельного препарата, если тщательно выбирать место приобретения – крайне мала, однако, риск, все равно существует, и лучше, все равно искать альтернативу. Такую альтернативу мы отыскали в изменении рациона питания спортсменов, и получении всех важных микроэлементов и минералов из пищи, без использования дополнительных средств, в виде биологически активных добавок.

После анализа статистических данных двух групп спортсменов высокой квалификации[5], представители одной из которых употребляли бады, а представители второй – нет, мы разработали для каждого представителя второй группы правильный рацион питания, не включающий в себя биологически активные добавки, и проверили их спортивные результаты, сравнив их с показателями первой группы, мы получили результаты, различия в которых были не существенны.

Заключение

Использование биологически-активных добавок спортсменами в профилактике аллергических поражений имеет право на существование, однако спортсменам важно крайне тщательно проверять не только состав добавки перед употреблением, но и место, где он ее приобрел. Изучив данную тему, мы пришли к выводу, что спортсменам для профилактики аллергических поражений лучше менять рацион, нежели прибегать к использованию БАДов.

Использование БАДов, в перспективе может позволить спортсменам не испытывать трудностей с аллергическими поражениями, однако, сначала должен быть установлен жесткий контроль со стороны государства на рынке биологически-активных добавок.

ЛИТЕРАТУРА

1. Актуальные вопросы противодействия допингу в спорте в практике врача. Комментарии к запрещенному списку-2019: руководство для врачей по спортивной медицине / Ю.В. Мирошникова [и др.]. М., 2018.

2. Дегтярева Е.А. Принципы использования биологически активных добавок Neways в спорте высших достижений и в массовом спорте. М.: Полигон, 2006. 164 с.

3. Are nutritional supplements a gateway to doping in competitive team sports? The roles of achievement goals and motivational regulations / G.S. Waddington [et al.] // Journal of science and medicine in sport. 2020. Vol. 23(6). P. 625-632. doi: 10.1016/j.jsams.2019.12.021.

4. Intended or Unintended Doping? A Review of the Presence of Doping Substances in Dietary Supplements Used in Sports / J.M. Martínez-Sanz [et al.] // Nutrients. 2017. Vol. 9(10). P. 1093. doi: 10.3390/nu9101093.

5. Nutritional supplements: Sports doping in the adolescent / D.E. Greydanus [et al.] // International journal on disability and human development. 2009.

SUMMARY

BADS IN THE PREVENTION OF ALLERGIC LESIONS IN ATHLETES OF COMPLEX COORDINATION SPORTS

Prokopyev I.P., 4th year student
The Lesgaft National State University of Physical Education, Sport and Health
35 Dekabristov St., St. Petersburg, 190121, Russian Federation

We decided to start investigating the use of supplements designed to prevent allergic lesions in acrobatic athletes, their effectiveness and the presence of doping substances in them. Not only can supplements provide substances that the average diet lacks, but they can also be detrimental to the career of the athlete taking these supplements. This is why the use of nutritional supplements by athletes in different sports is an issue.

Keywords: *Dietary supplements, nutritional recovery, sports nutrition, allergic reactions.*

REFERENCES

1. Topical issues of combating doping in sport in the practice of a physician. Comments on the banned list-2019: a guide for doctors in sports medicine / Y.V. Miroshnikova [et al.] Moscow, 2018. (in Russian)

2. Degtyareva E.A. Principles of using Neways biologically active supplements in high performance sports and mass sports. Moscow: Polygon, 2006. 164 p. (in Russian)

3. Are nutritional supplements a gateway to doping in competitive team sports? The roles of achievement goals and motivational regulations / G.S. Waddington [et al.] // Journal of science and medicine in sport. 2020. Vol. 23(6). P. 625-632. doi: 10.1016/j.jsams.2019.12.021.

4. Intended or Unintended Doping? A Review of the Presence of Doping Substances in Dietary Supplements Used in Sports / J.M. Martínez-Sanz [et al.] // Nutrients. 2017. Vol. 9(10). P. 1093. doi: 10.3390/nu9101093.

5. Nutritional supplements: Sports doping in the adolescent / D.E. Greydanus [et al.] // International journal on disability and human development. 2009.

УДК 61:615.273.53

ВЛИЯНИЕ 3'''-О-АЦЕТИЛЭМБИНИНА НА АКТИВАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ, ИНДУЦИРОВАННУЮ ТРОМБИНОМ

Пронин Н.А.,[1] студ. 3 курса
Руководители: **Гончаров М.Ю.[1],** докт. биол. наук, доц.
Гамбарян С.П.[2], докт. биол. наук, профессор (ORCID: 0000-0002-1470-0791; ResearcherID: I-3940-2016)
Рукояткина Н.И.[2] , канд. биол. наук (ORCID: 0000-0002-3920-206X; ResearcherID: AAN-2227-2020)
[1] Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
[2] Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН
194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44, Российская Федерация
E-mail: nikita.pronin@spcpu.ru

В исследовании in vitro было изучено влияние С-гликозилированного флавона 3'''-О-ацетилэмбинина на индуцированную тромбином активацию тромбоцитов с использованием метода проточной цитометрии. Установлено, что исследуемое вещество оказывает ингибирующее действие. Также проведено определение характера действия вещества на продукцию активных форм кислорода, принимающих участие в активации тромбоцитов.

Ключевые слова: *тромбоциты, активация тромбоцитов, флавоноиды, С-гликозиды флавонов, эмбинин, проточная цитометрия, активные формы кислорода.*

Тромбоциты – это небольшие плоские безъядерные бесцветные форменные элементы крови, основной функцией которых является участие в процессе гемостаза. В состоянии покоя их активация ингибируется за счёт выделения интактным эндотелием сосудов оксида азота (NO) и простациклина (простагландина I_2, PGI_2). При повреждении сосуда тромбоциты взаимодействуют с белками субэндотелиального матрикса, что приводит к их адгезии к стенке сосуда и активации. При активации тромбоцитов происходит секреция вторичных медиаторов (аденозиндифосфата – АДФ и тромбоксана А2 – ТхА2), что усиливает активацию и образование тромбоцитарных агрегатов [1].

Вышеописанные механизмы приводят к запуску каскада коагуляционного гемостаза и образованию тромбина, который через рецепторы PAR1 и PAR4 (Protease-activated receptors, PARs) стимулирует и усиливает активацию тромбоцитов. Тромбин, вместе с ADP и TxA_2, способствует изменению формы клеток на шаровидную с многочисленными выростами за счёт реорганизации цитоскелета [2].

Большое значение в активации тромбоцитов играет продукция активных форм кислорода (reactive oxygen species, ROS), осуществляемая ферментными комплексами – НАДФН-оксидазами. Показано, что генерируемые ими ROS участвуют в активации αIIbβ3-рецепторов, способствуя агрегации клеток [3].

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, сердечно-сосудистые заболевания являются причиной смерти около 17 миллионов человек ежегодно, что составляет почти треть от всех случаев смерти в мире. Тромбоз, возникающий при нарушении нормальных механизмов активации тромбоцитов, представляет особую опасность для пациентов с ишемической болезнью сердца и другими сердечно-сосудистыми патологиями. Для терапии тромбозов используются антиагрегантные средства с различными механизмами действия: ингибиторы циклооксигеназы (кислота ацетилсалициловая), блокаторы пуриновых рецепторов (клопидогрел, тикагрелор), блокаторы αIIbβ3-интегриновых рецепторов (абциксимаб, тирофибан). Однако побочные эффекты ограничивают применение этих средств при патологических состояниях, повышающих риск развития кровотечений (травмы, хронические воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта и т.д.). Другой особенностью является развивающаяся у части пациентов резистентность к данным препаратам (Аспирин, Клопидогрел и др.) препятствует достижению фармакологического эффекта [4]. В связи с этим становится актуальным вопрос поиска новых антиагрегантных средств, в том числе растительного происхождения.

На кафедре фармакогнозии Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета (СПХФУ) из надземной части представителя семейства Ирисовых (Iridaceae) касатика молочно-белого (Iris lactea Pall.) был выделен ряд флавоноидов, в том числе 3'''-О-ацетилэмбинин (Рис. 1). Он является производным эмбинина – вещества класса флавонов – имеющего в шестом положении С-гликозидную связь с углеводным остатком, состоящим из β-D-глюкозы и α-L-рамнозы. Третья гидроксильная группа остатка рамнозы в исследуемом веществе ацетилирована.

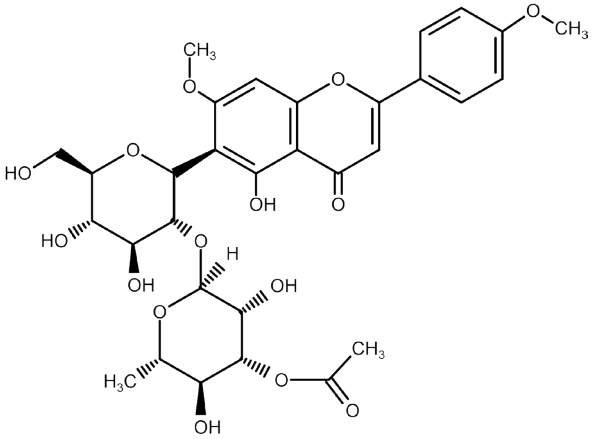


Рисунок 1. Структурная формула 3'''-О-ацетилэмбинина

Имеются данные о том, что С-гликозиды флавонов – производные апигенина, диосметина – обладают слабой антиагрегантной активностью [5]. Что касается эмбинина, то показано, что он может проявлять кардиопротекторное действие [6]. Однако влияние его ацетилированных производных, в том числе 3'''-О-ацетилэмбинина, на активацию тромбоцитов подробно не изучено.

Целью этого исследования является изучение способности 3'''-О-ацетилэмбинина ингибировать активацию тромбоцитов in vitro.

Задачами являются определение эффекта различных доз 3'''-О-ацетилэмбинина на индуцированную тромбином активацию тромбоцитов и установление влияния данного вещества на продукцию активных форм кислорода – на процесс, играющий значительную роль при активации тромбоцитов.

Материалы и методы. Образец 3'''-О-ацетилэмбинина для исследования был выделен на кафедре фармакогнозии СПХФУ из надземной части касатика молочно-белого (Iris lactea Pall.). Для исследования использовался его раствор в диметилсульфоксиде (ДМСО). Подлинность вещества подтверждена методами ЯМР спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

В качестве биоматериала для изучения фармакологического эффекта вещества использовались человеческие тромбоциты. Забор крови из вены производился у здоровых добровольцев в пробирки с цитратным буфером (12 mM лимонной кислоты, 15 mM цитрата натрия, 25 mM D-глюкозы) и предварительно добавленным EGTA (2 mM). Отобранная кровь помещалась в центрифугу CM-6M (ELMI, Латвия) на 7 минут при скорости 1400 rpm для получения обогащённой тромбоцитами плазмы (platelet-rich plasma, PRP). Для исключения присутствия в пробе лейкоцитов PRP разбавлялась CGS-буфером (состав: натрия хлорида 120 mM, натрия цитрата 12,9 mM, D-глюкозы 10 mM, pH=6,5). Затем дважды, с ресуспендированием в CGS-буфере, проводилось повторное центрифугирование (центрифуга Centrifuge 5415 D, Ep-

pendorf AG, Германия) в течение 4,5 минут при 2400 rpm. Далее надосадочная жидкость сливалась, а тромбоциты ресуспендировались в HEPES-буфере (натрия хлорида 150 mM, калия хлорида 5 mM, магния хлорида 1 mM, D-глюкозы 5 mM, HEPES 10 mM, pH=7,4). Полученные отмытые тромбоциты (washed platelets, WP) использовались для опытов.

Концентрацию тромбоцитов измеряли на анализаторе крови Medonic M20 (Boule Diagnostics, Швеция) и в соответствии с полученным результатом доводили её HEPES-буфером до $0,5*10^8$ клеток/ml. Далее к клеткам добавляли 0,1 M раствор $CaCl_2$ (из расчёта 1 µl раствора на 100 µl клеток, рабочая концентрация $CaCl_2$ в пробах должна составлять 1 mM) и фибриноген, меченый Alexa-647 (из расчёта 0,7 µl фибриногена на 100 µl клеток).

Затем WP разливали по 100 µl согласно количеству проб: две контрольные пробы, две пробы положительного контроля, по две пробы с исследуемым веществом в различных концентрациях. Все они помещались в термостат при температуре 37,0 ^{0}C. Через 15 минут во все пробы, кроме контрольных, в концентрациях 3 µl, 10 µl, 30 µl, 90 µl вводился 3'''-O-ацетилэмбинин, далее они инкубировались в течение 30 минут. По прошествии этого времени в пробы положительного контроля и пробы с веществом вводился активатор – тромбин (0,025 U/ml). Через 3 минуты реакция замедлялась путём добавления к каждой пробе 400 µl фосфатного буфера PBS.

Анализ полученных проб производился методом проточной цитофлуориметрии на приборе CytoFLEX (Beckman-Coulter, США). Производилось детектирование сигнала предварительно добавленного меченого флуоресцентным красителем Alexa-647 фибриногена, связывающегося с αIIbβ3-интегриновыми рецепторами тромбоцитов, для чего использовался канал FL6. Каждая проба оценивалась по 15 тысяч событий.

Для определения влияния 3'''-O-ацетилэмбинина на уровень ROS в тромбоцитах к WP предварительно добавлялся краситель H_2DCF-DA (2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетат, 0,5 µl на 500 µl WP). В пробы вводилось исследуемое вещество в концентрациях 10 µM, 30 µM, 90 µM. После 20 минут инкубации во все пробы, кроме контрольной, вводился тромбин (0,8 U/ml). Реакция замедлялась путём добавления к пробам 200 µl фосфатного буфера PBS.

H_2DCF-DA проникает в тромбоциты, где его сложноэфирные связи подвергаются расщеплению внутриклеточными эстеразами: образуется H_2DCF. Это вещество окисляется активными формами кислорода с высвобождением флуоресцирующих продуктов реакции (DCF). Их флуоресценция регистрировалась на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman-Coulter, США) с использованием канала FL1.

Результаты и обсуждение. При использовании методики активации тромбоцитов при помощи тромбина были получены результаты, представленные на рисунке 2.

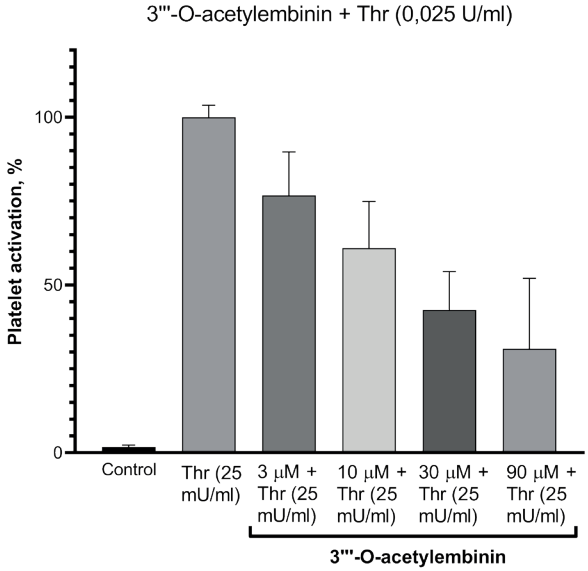


Рисунок 2. Влияние 3'''-O-ацетилэмбинина на индуцированную тромбином агрегацию тромбоцитов

Уровень индуцированной тромбином (Thr) активации тромбоцитов в пробе положительного контроля был принят за 100%. В контрольной пробе без добавления тромбина доля активированных тромбоцитов составляет всего 1,74%. В пробах с 3'''-O-ацетилэмбинином, введённым в дозах 3 µM, 10 µM, 30 µM, 90 µM, наблюдается снижение доли активированных тромбоцитов: 76,7%, 61,1%, 42,6%, 31% соответственно. Таким образом, можно сделать вывод о том, что ингибирующий эффект 3'''-O-ацетилэмбинина является дозозависимым. Экспериментальные данные являются статистически значимыми ($p \leq 0,05$).

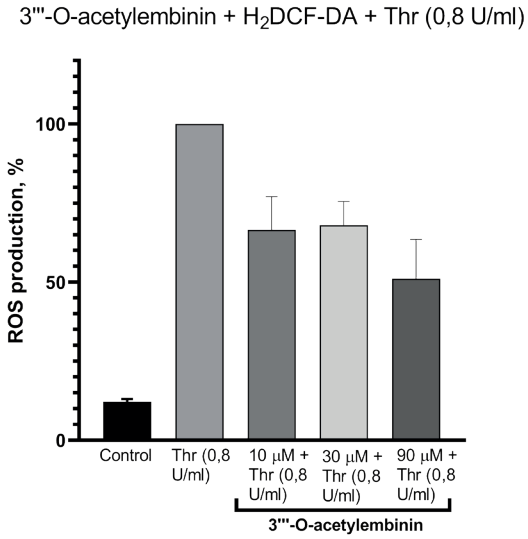


Рисунок 3. Влияние 3'''-О-ацетилэмбинина на образование активных форм кислорода в активированных тромбином тромбоцитах

На рисунке 3 отражены результаты измерения продукции активных форм кислорода согласно использованной методике. Индуцированная тромбином продукция ROS в пробе положительного контроля была принята за 100%. Уровень ROS в контрольной пробе составляет 12,2%. В пробах, содержащих 10 и 30 μM 3'''-О-ацетилэмбинина, наблюдается практически одинаковое снижение образования активных форм кислорода до 67,5-68,5 %. При увеличении дозы вещества до 90 μM происходит понижение продукции ROS до 51%. Можно сделать вывод о том, что значительный эффект ингибирования продукции активных форм кислорода проявляется лишь при достаточно больших дозах 3'''-О-ацетилэмбинина (90 μM и выше). Данные являются статистически значимыми ($p \leq 0,05$).

Исходя из проведенных исследований, можно сделать заключение о том, что 3'''-О-ацетилэмбинин, введённый в дозах 3 μM, 10 μM, 30 μM, 90 μM, способен дозозависимо ингибировать индуцированную тромбином агрегацию тромбоцитов. При этом в более низких дозах вещества (10 μM, 30 μM) наблюдается практически одинаковое снижение продукции ROS (до 67,5-68,5%), при дозе 90 μM эффект более выражен, но не превышает 50%. Все данные являются статистически значимыми ($p \leq 0,05$).

Полученные данные позволяют судить о том, что ингибирование 3'''-О-ацетилэмбинином продукции ROS приводит к снижению активации тромбоцитов, но данный механизм не является основным. Для установления других механизмов действия необходимо изучить влияние вещества на ингибирующие сигнальные пути тромбоцитов в присутствии других факторов их активации, используя методы проточной цитометрии и Western-Blot анализа. На основании этих данных будет возможно предположить фармакологический эффект, возможные механизмы действия и других ацетилированных производных эмбинина, полученных из надземной части Iris lactea Pall.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.03.00 Медико-биологические дисциплины

ЛИТЕРАТУРА

1. Bye A.P., Unsworth A.J., Gibbins J.M. Platelet signaling: a complex interplay between inhibitory and activatory networks // Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2016. Vol. 14(5). P. 918–30. doi: 10.1111/jth.13302.

2. Offermanns S. Activation of Platelet Function Through G Protein–Coupled Receptors // Circulation Research. 2006. Vol. 99(12). P. 1293–304. doi: 10.1161/01.RES.0000251742.71301.16.

3. Platelet NAD(P)H-oxidase–generated ROS production regulates αIIbβ3-integrin activation independent of the NO/cGMP pathway / A.J. Begonja // Blood. 2005. Vol. 106(8). P. 2757–60. doi: 10.1182/blood-2005-03-1047.

4. Floyd C.N., Ferro A. Antiplatelet drug resistance: Molecular insights and clinical implications // Prostaglandins & Other Lipid Mediators. 2015. Vol. 120. P. 21–7. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2015.03.011

5. Advance on the Flavonoid C-glycosides and Health Benefits / J. Xiao [et al.] // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2015. Vol. 56(sup1). P. S29–S45. doi: 10.1080/10408398.2015.1067595.

6. Эмбинин – перспективное кардиотоническое средство природного происхождения / Д.Ю. Ивкин [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018. Т. 3 N 24. С. 166-170.

SUMMARY

INFLUENCE OF 3'''-O-ACETYLEMBININ ON THE THROMBINE-INDUCED PLATELET ACTIVATION

Pronin N.A.[1], 3rd year student
Academic advise: **Goncharov M.Yu.**[1], Doctor of Biological Sciences, Accociate Professor
Gambaryan S.P.[2], Doctor of Biological Sciences, Professor
(ORCID: 0000-0002-1470-0791; ResearcherID: I-3940-2016)
Rukoyatkina N.I.[2], Candidate of Biological Sciences
(ORCID: 0000-0002-3920-206X; ResearcherID: AAN-2227-2020)
[1] Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov st., Saint Petersburg, 197376, Russian Federation
[2] Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences
44, Thoreza pr., Saint Petersburg, 194223, Russian Federation
E-mail: nikita.pronin@spcpu.ru

Influence of C-glycosylated flavone 3'''-O-acetylembinin on thrombin-induced platelet activation in vitro was studied using flow cytometry method. It has been established that the substance under study has an inhibitory effect. The nature of this substance impact on reactive oxygen species production involved in platelet activation was also determined.

Keywords: *platelets, platelet activation, flavonoids, flavone C-glycosides, embinin, flow cytometry, reactive oxygen species.*

REFERENCES

1. Bye A.P., Unsworth A.J., Gibbins J.M. Platelet signaling: a complex interplay between inhibitory and activatory networks // Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2016. Vol. 14(5). P. 918–30. doi: 10.1111/jth.13302.

2 Offermanns S. Activation of Platelet Function Through G Protein–Coupled Receptors // Circulation Research. 2006 Vol. 99(12). P. 1293–304. doi: 10.1161/01.RES.0000251742.71301.16.

3. Platelet NAD(P)H-oxidase–generated ROS production regulates αIIbβ3-integrin activation independent of the NO/cGMP pathway / A.J. Begonja // Blood. 2005. Vol. 106(8). P. 2757–60. doi: 10.1182/blood-2005-03-1047.

4. Floyd C.N., Ferro A. Antiplatelet drug resistance: Molecular insights and clinical implications // Prostaglandins & Other Lipid Mediators. 2015. Vol. 120. P. 21–7. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2015.03.011

5. Advance on the Flavonoid C-glycosides and Health Benefits / J. Xiao [et al.] // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2015. Vol. 56(sup1). P. S29–S45. doi: 10.1080/10408398.2015.1067595.

6. Embinin - perspektivnoe kardiotonicheskoe sredstvo prirodnogo proiskhozhdeniya / D.Yu. Ivkin [et al.] // Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv. 2018. Vol. 3(24). P. 166-170. (in Russian)

УДК 615.214.2:547.466.3:616

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИДЕПРЕССАНТНЫХ СВОЙСТВ НОВОГО АДАМАНТАНОВОГО ПРОИЗВОДНОГО НА МОДЕЛИ СОЦИАЛЬНОГО СТРЕССА

Пустынников В.Э., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ,
Фомичев Е.А., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ,
Андриашвили Т.М., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ,
Соколова А.А., студ. 4 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ
Научный руководитель: **Бакулин Д.А.,** канд. мед. наук,
старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС
Волгоградский государственный медицинский университет
400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1, Российская Федерация
E-mail: pustynnikov200122@gmail.com

В данной работе было проведено экспериментальное изучение антидепрессантной активности нового адамантанового производного линейной ГАМК на модели социального стресса у мышей. Оценено их поведение на фоне развившегося депрессивного состояния в тестах «Принудительное плавание по Porsolt» и «Подвешивание мышей за хвост», уровень тревоги в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» и уровень социализации тесте Социальное взаимодействие. Было выявлено, что адамантановое производное ГАМК имеет выраженную противотревожную и антидепрессантную активность, сопоставимую с активностью препарата сравнения имипрамина и превышает его по положительному влиянию на социальное взаимодействие.

Ключевые слова: *депрессия, стресс, ГАМК, адамантан.*

Социальный стресс – это комплекс физиологических и эмоциональных реакций, которые возникают в результате чрезмерного влияния на организм различных стресс факторов. На данный момент в мире социальные стресс-факторы играют важную роль в психопатологии человека. Конкуренция в профессиональной, социальной и других сферах человеческой жизни неуклонно растет. Из-за растущего уровня социального неравенства и низкой социальной поддержки растет и восприимчивость общества к депрессии и депрессивным состояниям, нередко сочетающимся с социальной изоляцией. Доказано, что социальный стресс может вызвать психонейроэндокринные эффекты, которые могут приводить к депрессивным состояниям, подкрепляющим формирование патологических зависимостей, сердечно сосудистых заболеваний и осложнениям других патологий. Производные ГАМК представляют интерес в качестве противотревожных препаратов со значительной терапевтической широтой. Повышение липофильности – это новый подход в повышении активности для разрабатываемых препаратов, при этом некоторые липофильные структуры, например, адамантан, обладают собственными свойствами (антидепрессантная и ноотропная активность) [1,2,3].

Цель. Изучение антидепрессантных свойств нового адамантанового производного линейной ГАМК на модели социального стресса.

Задачи.

1. Оценить выраженность антидепрессантного действия адамантанового производного ГАМК в тестах принудительное плаванье по Porsolt и подвешивание мышей за хвост на фоне развившегося депрессивноподобного состояния;

2. Оценить влияние адамантанового производного линейной ГАМК на уровень тревоги в тесте приподнятый крестообразный лабиринт на фоне развившегося депрессивноподобного состояния

3. Оценить влияние исследуемого соединения на уровень социализации животных в тесте социального взаимодействия на фоне развившегося депрессивноподобного состояния

Материалы и методы. Исследование проведено на мышах-самцах линии CBA/Lac (6-7 мес, 25-30 г.), «Питомник лабораторных животных «Рапполово», д. Рапполово, Всеволожский р-н, Ленинградская обл., Россия. Для формирования депрессивноподобного состояния использовалась модель социального стресса. Исследуемые соединения вводились перорально за 60 минут до проведения поведенческих тестов на протяжении 10 дней. Для определения, активирующего или угнетающего, а также анксиолитического и антифобического действия оценивали поведение в тестах Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ). Влияние соединений на антидепрессантное действие оценивали в тесте «Принудительного плаванья по Porsolt» и тесте «Подвешивания мышей за хвост» по продолжительности времени иммобилизации. Уровень социализации животных на фоне депрессивного расстройства оценивали в тесте Социального взаимодействия. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Prism 6 и критериев Шапиро-Уилка, Краскела-Уоллиса и Дана [1,4,5].

Результаты и обсуждение. На фоне моделирования социального стресса у животных формировалось выраженное депрессивное состояние, которое проявлялось во всех выбранных тестах: в тестах Принудительное плавание по Porsolt и Подвешивание мышей за хвост в контрольной группе без лечения наблюдалось значительное повышение времени иммобилизации, что указывает на выраженное поведенческое отчаяние на фоне моделирования социального поражения. Кроме этого, в тесте Приподнятый крестообразный лабиринт у животных без лечения отмечалось повышение тревоги: мыши предпочитали оставаться в закрытых рукавах установки и избегали выхода в открытые, потенциально-опасные рукава. В тесте Социального взаимодействия, после моделирования депрессивного состояния животные контрольной группы избегали сородичей, предпочитая оставаться в одиночестве.

В тесте принудительного плавание по Porsolt и тесте подвешивания мышей за хвост исследуемое соединение проявило выраженную антидепрессантную активность, что выражалось в значительном снижении продолжительности иммобилизации по сравнению с контрольной группой: животные непрерывно пытались выбраться из безвыходной ситуации.

В тесте ПКЛ исследуемое соединение проявляло анксиолитическую активность: животные чаще посещали и дольше пребывали в открытых рукавах установки.

В тесте социального взаимодействия животные, получавшие исследуемое соединение, значительно чаще подходили и дольше пребывали вблизи нового партнера, относительно группы контроль+депрессия и контроль+имипрамин.

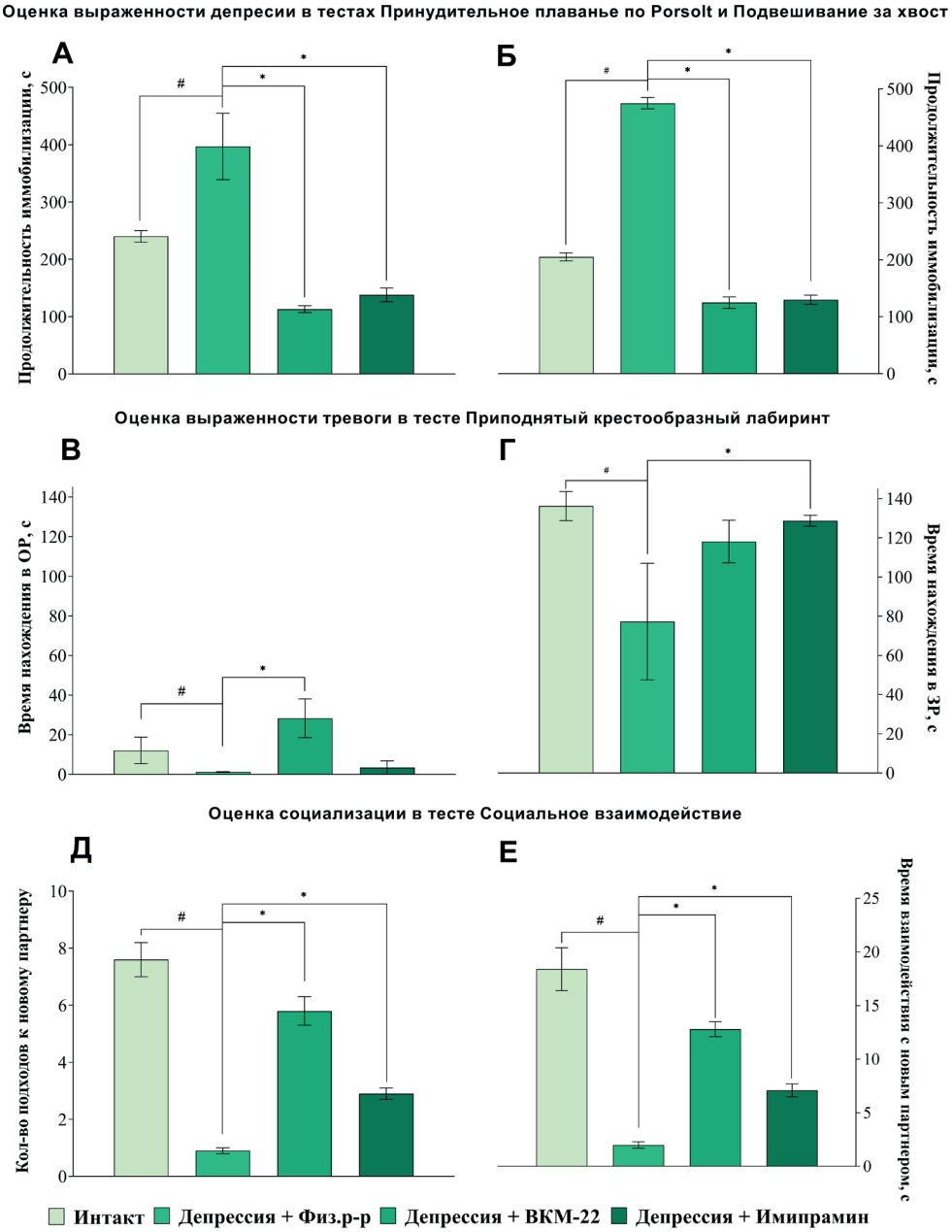


Рисунок 1. Показатели поведения животных в тесте (А) Принудительное плаванье по Porsolt, (Б) Подвешивание за хвост, (В, Г) Приподнятый крестообразный лабиринт и (Д, Е) Социальное взаимодействие

Примечание: ОР – открытый рукав установки; ЗР – закрытый рукав установки; # – различия достоверны относительно группы «Интакт» при $p < 0,05$; * – различия достоверны относительно группы «Депрессия+физ.р-р» при $p < 0,05$

Заключение. Адамантановые производные ГАМК обладают выраженной антидепрессантной и противотревожной активностью, сопоставимой с таковой у препарата сравнения имипрамина.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.00 Фармакология
35.45.15 Общая фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние иммунизации на адаптационные механизмы при хроническом стрессировании животных / И.Н. Тюренков [и др.] // Фундаментальные исследования. 2014. N 7-2. С. 368-371.

2. Neuroprotective action of cortexin, cerebrolysin and actovegin in acute or chronic brain ischemia in rats / D.V. Kurkin [et al.] // PLoS ONE. 2021. Vol. 16(7) P. e0254493. doi: 10.1371/journal.pone.0254493

3. Психоневрологические нарушения у животных с ишемией головного мозга на фоне сахарного диабета и их коррекция новым агонистом GPR119 и его комбинациями с метформином и цитиколином / Д.А. Бакулин [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2019. Т. 63. N 3. С. 96-104. doi: 10.25557/0031-2991.2019.03.96-104

4. Изучение анксиолитической активности в ряду новых производных диазепинобензимидазола на установке «Приподнятый крестообразный лабиринт» / А.С. Таран [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. 2017. N 1. С. 24-26.

5. P.4.C.002 anxiolytic action of a new 5-HT2A antagonist RU-476 / D.V. Maltsev [et al.] // European Neuropsychopharmacology. 2013. Vol. 23(S2). P. S519-S520.

6. Синтез и оценка психотропной активности каркасных производных альфа-пирролидона / Ю.Н. Климочкин [и др.] // Биоорганическая химия. 2021. Т. 47. N 6. С. 823-836. doi: 10.31857/S0132342321060105

SUMMARY

INVESTIGATION OF ANTIDEPRESSANT PROPERTIES OF A NEW ADAMANTANE DERIVATIVE ON A MODEL OF SOCIAL STRESS

Pustynnikov V.E., 3rd year student of the Pharmaceutical Faculty of VolgSMU
Fomichev E.A., 3rd year student of the Pharmaceutical Faculty of VolgSMU
Andriashvili T.M., 3rd year student of the Pharmaceutical Faculty of VolgSMU
Sokolova A.A., 4th year student of the Pharmaceutical Faculty of VolgSMU
Supervisor: **Bakulin D.A.**, Candidate of Medical Sciences,
Senior researcher at the Laboratory of Pharmacology of Cardiovascular Drugs NCILS
Volgograd State Medical University
400131, Volgograd, Fallen Fighters Square, 1, Russian Federation
E-mail: pustynnikov200122@gmail.com

In this paper, an experimental study of the antidepressant activity of a new adamantane derivative of linear GABA was carried out on a model of social stress in mice. Their behavior against the background of a developed depressive state was assessed in the tests «Forced swimming along the Porsolt» and «Hanging mice by the tail», the level of anxiety in the «Elevated plus maze» test and the level of socialization in the Social interaction test. It was found that the adamantane derivative of GABA has a pronounced anti-anxiety and antidepressant activity, comparable to the activity of the reference drug imipramine and exceeds it in terms of a positive effect on social interaction.

Keywords: *depression, stress, GABA, adamantine.*

REFERENCES

1. The effect of immunization on adaptive mechanisms in chronic stress of animals / I.N. Tyurenkov [et al.] // Fundamental research. 2014. N 7-2. P. 368-371. (in Russian)

2. Neuroprotective action of cortexin, cerebrolysin and actovegin in acute or chronic brain ischemia in rats / D.V. Kurkin [et al.] // PLoS ONE. 2021. Vol. 16(7). P. e0254493. doi: 10.1371/journal.pone.0254493

3. Psychoneurological disorders in animals with cerebral ischemia on the background of diabetes mellitus and their correction with a new agonist GPR119 and its combinations with metformin and citicoline / D.A. Bakulin [et al.] // Pathological physiology and experimental therapy. 2019. Vol. 63(3). P. 96-104. doi: 10.25557/0031-2991.2019.03.96-104 (in Russian)

4. The study of anxiolytic activity in a number of new derivatives of diazepinobenzimidazole on the installation «Raised cruciform labyrinth» / A.S. Taran [et al.] // Volgograd Scientific Medical Journal. 2017. N 1. P. 24-26. (in Russian)

5. P.4.C.002 anxiolytic action of a new 5-HT2A antagonist RU-476 / D.V. Maltsev [et al.] // European Neuropsychopharmacology. 2013. Vol. 23(S2). P. S519-S520.

6. Synthesis and evaluation of the psychotropic activity of framework derivatives of alpha-pyrrolidone / Y.N. Klimochkin [et al.] // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2021. Vol. 47(6). P. 1276-1287. doi: 10.31857/S0132342321060105

УДК 615.214.2

ПРИМЕНЕНИЕ НАИВНОГО БАЙЕСОВСКОГО КЛАССИФИКАТОРА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЭФФЕКТОВ РАЗЛИЧНЫХ НЕЙРОТРОПНЫХ СРЕДСТВ ПО ПАРАМЕТРАМ ЭЛЕКТРОКОРТИКОГРАММ У КРЫС

Пучик М.М., студ. 3 года обучения, **Шиц Д.Д.**, студ. 3 года обучения,
Идиятуллин Р.Д., студ. 4 года обучения, **Котельникова А.А.**, студ. 4 года обучения
Руководитель: **Сысоев Ю.И.**, канд. биол. наук, доц. кафедры ФиКФ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: darya.shic@spcpu.ru

В настоящем исследовании нами предложено использование Наивного байесовского классификатора для прогнозирования фармакологической активности лекарственных средств на основании их влияния на параметры электрокорти-

кографической активности у крыс. Показано, что изменения параметров электрокортикографического сигнала у крыс, возникающие в ответ на введение дроперидола схожи с изменениями, вызываемыми галоперидолом, но отличаются от таковых для феназепама. Точность прогноза составила 83,3%, что позволяет рассматривать предложенный нами подход как эффективный для первичного фармакологического скрининга.

Ключевые слова: *электроэнцефалография, электрокортикография, наивный байесовский классификатор, машинное обучение, антипсихотические средства, бензодиазепины.*

Разработка оптимальных критериев классификации для эффектов психотропных лекарственных средств на моделях in vivo является важной задачей биомедицины, так как при наиболее часто используемых методах, например, поведенческих тестах, разные группы препаратов могут оказывать схожий физиологический эффект (седация животных, вялость, сон).

Фармакоэлектроэнцефалография (фармако-ЭЭГ) является одним из наиболее эффективных и наглядных методов скрининга психотропных веществ. Идея фармако-ЭЭГ состоит в том, что определенные группы лекарственных веществ, оказывающие влияние на центральную нервную систему (ЦНС), вызывают специфические изменения электрофизиологической активности головного мозга. Однако, требуется использование эффективных подходов для обработки и интерпретации большого массива данных, полученных этим методом.

Наивный байесовский классификатор – это простой вероятностный классификатор, в котором каждый параметр классифицируемых данных рассматривается независимо от других характеристик. Он находит широкое применение в медицинской практике, например, для предсказания резистентности пациентов с онкологическими заболеваниями к фармакотерапии [1], диагностики сахарного диабета [2] или оценки риска лекарственного поражения печени [3], и с каждым годом данный алгоритм все чаще используется в целях классификации и прогнозирования и в других сферах биомедицины.

Таким образом, перспективным направлением использования алгоритмов машинного обучения может являться определение фармакологических свойств психотропных лекарственных средств на основании их влияния на биоэлектрическую активность головного мозга. Целью данного исследования являлась оценка возможности использования наивного байесовского классификатора для различия параметров электрокортикограмм у крыс при использовании антипсихотических препаратов и транквилизаторов.

Исследование проводили в соответствии с принципами Базельской декларации, Приказом Минздрава РФ от 01.04.16 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и рекомендациями биоэтической комиссии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. Крыс содержали в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе, со свободным доступом к воде. Все опытные и контрольные животные были взяты из одной партии прошли карантин в течение 14 суток.

Для проведения хирургических манипуляций животных предварительно наркотизировали хлоралгидратом (MilliporeSigma, США; 400 мг/кг, внутрибрюшинно), и по достижении стадии глубокого наркоза у крыс обривали и обрабатывали раствором йода поверхность головы, подготавливали поверхность черепа (удаление мышечно-фасциального слоя, надкостницы, коагуляция кровоточащих участков). Далее фиксировали голову крысы в стереотаксическом аппарате и осуществляли имплантацию фиксирующих винтов и кортикографических электродов. Полученную конструкцию закрепляли с помощью раствора стоматологической пластмассы Villacryl S (Zhermack SpA, Италия). После затвердевания первого слоя пластмассы заземляющий электрод имплантировали под кожу в области шеи [4].

После оперативного вмешательства крыс содержали в индивидуальных клетках со свободным доступом к воде и корму в течение всего периода исследования. Состояние животных отслеживали сразу после выхода из наркоза и далее ежедневно утром и вечером, по необходимости обрабатывали швы раствором йода. Для профилактики возникновения инфекции сразу после операции животным вводили Бициллин-3 (500 ЕД/100 г, внутримышечно). Также во избежание обезвоживания крысам вводили подкожно физиологический раствор в течение первых 3-х дней после операции.

Запись спонтанной биоэлектрической активности коры головного мозга у животных осуществляли с помощью 8-канального энцефалографа Нейрон-Спектр-1 (ООО «Нейрософт», Россия) с полосой пропускания 0.5–35 Гц и частотой квантования 500 Гц. Регистрацию сигнала проводили одновременно с видеорегистрацией поведения в условиях домашней клетки при искусственном освещении.

Длительность записи составляла 2 часа и включала в себя 30 минут фоновой активности (до введения препарата или физиологического раствора) и 1,5 часа после инъекции. Для дальнейшего анализа отбирали два 60-секундных участка записи: непосредственно перед введением и спустя 20 минут после. Во время выбранных фрагментов электрокортикограмм животные находились в спокойном бодрствующем состоянии, при отсутствии локомоторной или исследовательской активности, а также груминга или скрэтчинга [5].

Испытуемые препараты вводили внутрибрюшинно, при необходимости предварительно растворив в физиологическом растворе до нужной концентрации. Доза галоперидола («Гедеон Рихтер», Венгрия) и дроперидола («Московский эндокринный завод», Россия) была 0,3 мг/кг, феназепама (ОАО «Новосибхимфарм», Россия) – 1 мг/кг. В качестве контроля вводили физиологический раствор в объеме 0,5 мл. Для каждого препарата было сделано 6 записей у разных животных (таблица 1). Введение нового препарата производили не ранее чем через 3 дня после предыдущей записи для исключения взаимодействия и остаточных эффектов.

Таблица 1 – Номера животных, которым вводили препараты

Препарат/номер животного	01	02	03	04	05	06	07	08	09
Натрия хлорид	+	+	+				+	+	+
Галоперидол	+	+	+		+	+	+		
Феназепам	+	+	+		+		+	+	
Дроперидол	+	+	+		+		+	+	

Анализ полученных записей осуществляли с помощью программы «Нейрон-Спектр.NET» («Нейрософт», Россия). Проводили амплитудный, спектральный, корреляционный и когерентный анализы с расчетом, в общей сложности, 478 параметров. Данные выражали как соотношения значения параметров до введения препарата к значениям соответствующих параметров после введения.

Обработку и последующий анализ полученных данных осуществляли с помощью надстройки для MS Excel XLSTAT 2016.02.28451. Уменьшение размерности данных проводили с помощью Метода Главных Компонент (МГК).

При проведении первичного анализа МГК было установлено, что первые 3 главные компоненты PC1, PC2 и PC3 описывают лишь 41,58% всей дисперсии данных. Для каждого из анализируемых параметров были получены соответствующие факторные нагрузки, позволяющие оценить роль этих параметров в формирование той или иной главной компоненты. Мы последовательно исключали из дальнейшего анализа те параметры, которые имели наименьшие факторные нагрузки и повторно проводили МГК. После нескольких преобразований осталось 116 показателей (Таблица 3), преобразование которых позволило получить 3 главные компоненты PC1, PC2 и PC3, описывающих 84,48% все дисперсии данных (рис. 1).

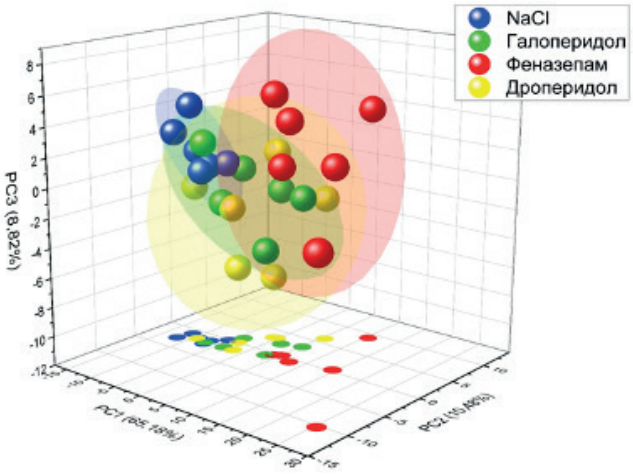


Рисунок 1. Графическое представление результатов анализа электрокортикографических данных МГК

При сравнении средних значений исследуемых групп для 3-х главных компонент было получено, что значения ГК PC1 у группы животных, которым вводили феназепам, было выше ($p<0,01$), чем у крыс групп NaCl, галоперидола и дроперидола. Значения ГК PC2 статистически значимо не отличались между группами, а PC3 у группы дроперидола были выше, чем у групп феназепама и NaCl ($p<0,01$ и $p<0,05$, соответсвенно) (рис. 2).

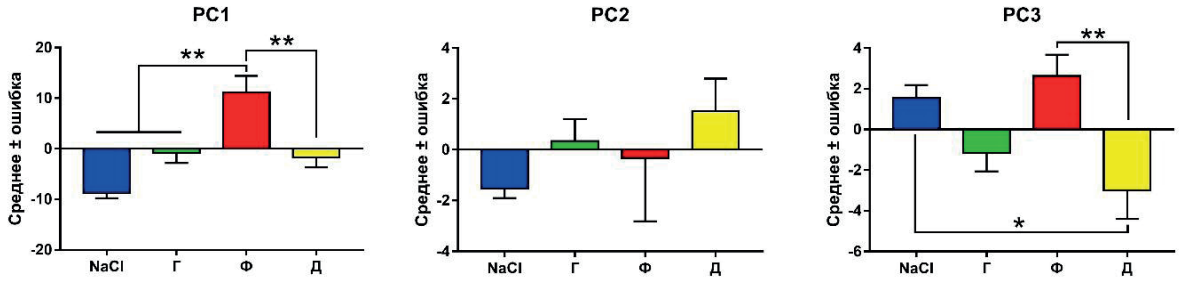


Рисунок 2. Средние значения исследуемых групп для 3-х главных компонент PC1, PC2 и PC3, рассчитанных на основании значений параметров электрокортикограмм. Г – галоперидол, Ф – феназепам, Д – дроперидол. *p<0,05, **p<0,01

При применении Наивного Байесовского классификатора было спрогнозировано, что у 5 из 6 тестируемых крыс, которым вводили дроперидол, характер изменений электрокортикограмм был схож с таковым при введении галоперидола. У одного из испытуемых животных было спрогнозировано сходство с контрольной группой, которой вводили NaCl, однако, с долей вероятности 0,262, было также совпадение с группой галоперидола (табл. 2).

Таблица 2 – Вероятность сходства эффектов дроперидола с эффектами NaCl, галоперидола и феназепама на показатели электрокортикографической активности, спрогнозированная с помощью Наивного Байесовского классификатора

Номер животного	NaCl	Галоперидол	Феназепам
01	0,733	0,262	0,004
02	0,03	0,981	0,016
03	0,08	0,777	0,215
05	0,000	0,999	0,001
07	0,000	0,999	0,001
08	0,000	0,852	0,148

В настоящем исследовании было показано, что Наивный Байесовский классификатор может быть использован для различия эффектов антипсихотических и седативных средств на параметры электрокортикограмм у крыс. При использовании малых групп по 6 животных точность прогноза составила 83,3%.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.00. Фармакология

83.77.23. Системы обработки статистической информации

ЛИТЕРАТУРА

1. Guo B., Zheng Q. Using Naïve Bayes Algorithm to Estimate the Response to Drug in Lung Cancer Patients // Comb Chem High Throughput Screen. 2018. Vol. 21(10). P. 734-748.

2. A Review of Methodological Approaches for Developing Diagnostic Algorithms for Diabetes Screening / J.M. Muchira [et al.] // J Nurs Meas. 2019. Vol. 27(3). P. 433-457.

3. Predicting drug-induced liver injury in human with Naïve Bayes classifier approach / H. Zhang [et al.] // J Comput Aided Mol Des. 2016. Vol. 30(10). P. 889-898.

4. Методы регистрации биоэлектрической активности коры головного мозга у крыс в условиях хронического эксперимента / Ю.И. Сысоев [и др.] // Рос физиол журн им ИМ Сеченова. 2022. Т. 108. N 2. С. 279–290. https://doi.org/10.31857/S0869813922020091

5. Pharmaco-electroencephalographic responses in the rat differ between active and inactive locomotor states / I.H. Hansen [et al.] // Eur J Neurosci. 2019. Vol. 50(2). P. 1948-1971.

SUMMARY

APPLICATION OF A NAIVE BAYESIAN CLASSIFIER TO REVEAL THE EFFECTS OF VARIOUS NEUROTROPIC DRUGS ON ELECTROCORTICOGRAM PARAMETERS IN RATS

Puchik M.M., U.G. 3rd year student; **Shic D.D.**, U.G. 3rd year student;
Idiyatullin R.D., U.G. 4th year student; **Kotelnikova A.A.**, U.G. 4th year student
St.Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology
Academic adviser: **Sysoev.Yu.I.**, Candidate of biological science
Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St.Petersburg, Professor Popov st.4, Russian Federation
E-mail: darya.shic@spcpu.ru

In the present study, we proposed the use of a Naive Bayesian classifier to predict the pharmacological activity of drugs based on their effect on the parameters of electrocorticographic activity in rats. It was shown that changes in the parameters of the electrocorticographic signal in rats that occur in response to the administration of droperidol are similar to changes caused by haloperidol, but differ from those for phenazepam. The prediction accuracy was 83.3%, which allows us to consider the proposed approach as effective for primary pharmacological screening.

Keywords: *electroencephalography, electrocorticography, naive Bayes classifier, machine learning, antipsychotics, benzodiazepines.*

REFERENCES

1. Guo B., Zheng Q. Using Naïve Bayes Algorithm to Estimate the Response to Drug in Lung Cancer Patients // Comb Chem High Throughput Screen. 2018. Vol. 21(10). P. 734-748.

2. A Review of Methodological Approaches for Developing Diagnostic Algorithms for Diabetes Screening / J.M. Muchira [et al.] // J Nurs Meas. 2019. Vol. 27(3). P. 433-457.

3. Predicting drug-induced liver injury in human with Naïve Bayes classifier approach / H. Zhang [et al.] // J Comput Aided Mol Des. 2016. Vol. 30(10). P. 889-898.

4. Methods for recording the bioelectrical activity of the cerebral cortex in rats under chronic experimental conditions / Yu.I. Sysoev [et al.] // Russ J Physiol Vol. 108(2). P. 279–290. (in Russian) https://doi.org/10.31857/S0869813922020091.

5. Pharmaco-electroencephalographic responses in the rat differ between active and inactive locomotor states / I.H. Hansen [et al.] // Eur J Neurosci. 2019. Vol. 50(2). P. 1948-1971.

УДК 615.099-056.2

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА (AgNPs) НА ПОКАЗАТЕЛИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Самусева П.Д.[1], студ. 4 курса, **Орлов Ю.А.**[2], канд. биол. наук, научный сотр., **Мехова А.А.**[3], маг. 2 года обучения
Руководители: **Пучкова Л.В.**[3], док. биол. наук, проф., **Арсениев Н.А.**[1], канд. биол. наук, доцент
[1]Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
[2]Российский государтсвенный педагогический университет им. А.И. Герцена
191186, Санкт-Петербург, Набережная реки мойки, д. 48, Российская Федерация
[3]Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого
195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29, Российская Федерация
E-mail: Polina.Samuseva@spcpu.ru

Наночастицы серебра широко используются во многих отраслях промышленности, но до сих пор не существует единого мнения об их токсических свойствах для эукариотических организмов. В данной работе рассматривалось влияние наночастиц серебра на показатели жизнеспособности нематоды Caenorhabditis elegans дикого штамма N2 и мутантного штамма H828Q.

Ключевые слова: *наночастицы серебра, метаболизм меди, транспортная система меди, ATP7B, Caenorhabditis elegans, CUA-1, токсикология, нанотоксикология.*

В современном мире использование наноматериалов выходит на новый уровень, занимая значимые позиции во многих видах промышленности, в том числе в медицине и фармацевтике. Благодаря своим уникальным свойствам широкое применение получили наночастицы (NP) – объекты диаметром не более 100 нм хотя бы в одном измерении, обладающие особыми свойствами из-за своих размеров, формы, покрытия и типа, например, существуют твердые NP, наночастицы на полимерной основе, на основе липидов или углерода. Наиболее широко применение нашли наночастицы серебра (AgNPs) [1].

AgNPs активно используют в медицинских и фармацевтических целях, в пищевой и текстильной промышленности, при изготовлении имплантатов и протезов, в дезинфицирующих средствах, а также в средствах личной гигиены и косметики. Кроме того, некоторые современные исследования предлагают использование наночастиц серебра как альтернативу лекарственным средствам на фоне растущей резистентности бактерий к антибиотикам. Столь широкое применение AgNPs в различных сферах промышленности обусловлено их бактерицидными и противовирусными свойствами. Недавние исследования показали, что AgNPs с малым диаметром (менее 50 нм) обладают более выраженным цитотоксическим эффектом, по сравнению с AgNPs большего размера. Принято считать, что при уменьшении размера NP отношение площади их поверхности к объему увеличивается, что приводит к повышению биологической активности NP, так как именно поверхностный слой частиц играет ключевую роль во взаимодействии с окружающей средой. В водных растворах с поверхности AgNPs высвобождаются ионы Ag(I), которые, проникая в клетку, нарушают правильную работу путей передачи сигналов в клетке, а также могут приводить к образованию активных форм кислорода и свободных радикалов, вызывающих окислительный стресс клетки и ее последующую гибель. Кроме того, адгезия AgNPs к клеточной стенке или мембране и проникновение внутрь клетки нарушают целостность наружной мембраны, внутриклеточных структур (митохондрии, вакуоли, рибосомы) и биомолекул (белки, ДНК), что также может приводить к гибели клетки. [2]

Тем не менее, считается, что AgNPs безопасны для высших эукариот. Однако, одним из возможных негативных последствий для организма эукариот, связанных с применением AgNPs, может быть нарушение гомеостаза меди в результате ее замещения ионами Ag(I) в метаболических путях меди. Известно, что ионы Ag(I) и Cu(I) изоэлектронны, так как их внешние электронные слои имеют одинаковую конфигурацию ([Kr]4d10 и [Ar]3d10 соответственно) и одинаковые ионные радиусы. Это означает, что ионы Ag(I) могут встраиваться в транспортную систему меди. Медь – эссенциальный микроэлемент практически для всех живых организмов, выступающий в роли каталитического кофактора многих жизненно важных ферментов (SOD1, COX, лизилоксидаза и др.). Ионы Cu(I) принимают участие в регуляции активности генов и передаче сигналов в клетке, поэтому нарушение гомеостаза меди в организме может приводить к развитию нейродегенеративных и онкологических заболеваний. [3]

У человека медь поступает в организм с пищей и при помощи транспортного белка CTR1 поглощается энтероцитами из просвета тонкого кишечника. За выход меди из энетроцитов в системный кровоток отвечает белок-транспортер ATP7A, далее медь в комплексе с альбумином и транскуприном транспортируется в печень – основной орган поддержания гомеостаза меди в организме. В гепатоциты ионы Cu (I) поступают при помощи белков-переносчиков CTR1/2.

В клетке медь транслоцируется на шаперон-антиоксидантный белок 1 (ATOX1), медный шаперон (CCS) и шаперон цитохром-с-оксидазы (COX17), которые переносят Cu(I) в ядро и места формирования купроэнзимов: в аппарат Гольджи для встраивания в церулоплазмин, в митохондрии к Cu,Zn-супероксиддисмутазе (SOD1) и цитохром-с-оксидазе (COX). В печени АТФаза ATP7B, локализованная на мембране аппарата Гольджи, переносит Cu(I) на апоцерулоплазмин, который затем экспортируется из печени для дальнейшего распределения меди по организму. Ионы Ag(I) могут использовать те же маршруты, замещая медь в ее метаболических путях. Так как ионы Ag(I) не способны менять степень окисления в ходе окислительно-восстановительных реакций, как ионы Cu(I)-(II), замещение Cu(I) ионами Ag(I) приводит блокировки путей транспортной системы меди и нарушению ее гомеостаза в организме, что, в свою очередь, может привести к развитию нейродегенеративных и онкологических заболеваний [4].

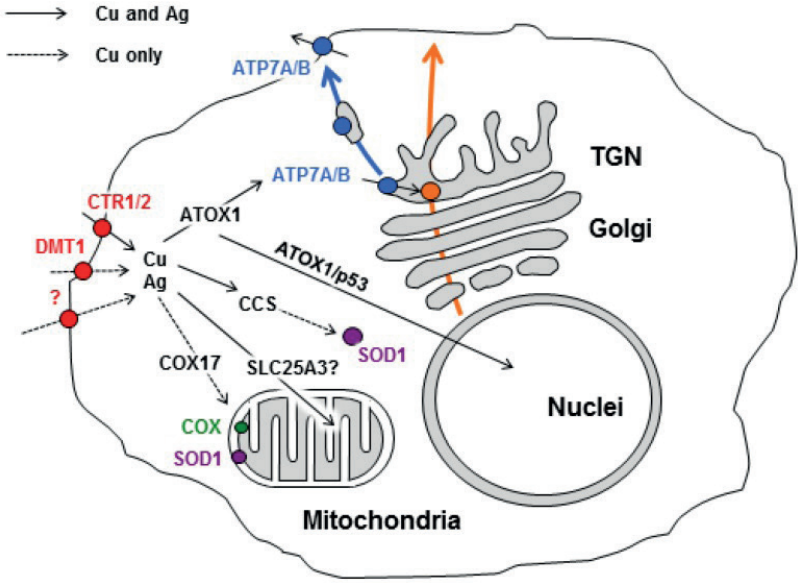


Рисунок 1. Схема распределения меди и серебра в гепатоцитах [4]

Подобно большинству химических веществ токсический эффект AgNPs зависит от пути их поступления в организм, например, при проглатывании, инъекциях, вдыхании и контакте с кожей. Известно, что AgNPs после внутривенных инъекций накапливаются в основном в печени, легких и селезенке [1]. Несмотря на то, что AgNPs принято считать безопасными для высших эукариот, экспериментальных данных об их воздействии на свободноживущие организмы пока недостаточно. В связи с этим требуются дополнительные исследования возможного токсического эффекта AgNPs на эукариотические организмы, например, такие, как свободноживущая почвенная нематода *C. elegans*.

C. elegans таксономически относится к типу круглые черви, отряду рабдитиды, семейства рабтидидовые. Это круглый червь длиной около 1 мм, питающийся в основном бактериями и живущий в почве, преимущественно в местах перегнивающих растений, фруктов, останков других живых организмов и т.д. *C. elegans* является ценной моделью для исследований в области генетики, биологии развития, нейрофизиологии, а также токсикологии благодаря своим характеристикам, которые включают в себя:

1. Короткий жизненный цикл, который позволяет эффективно оценивать возрастные эффекты, а также позволяет проводить сложные и трудоемкие эксперименты в сравнительно короткие сроки;
2. Хорошо изученный геном, в котором 60-80% генов имеют человеческие гомологи. *C. elegans* является первым многоклеточным животным геном которого был секвенирован;
3. Прозрачное тело и инвариантный соматический образец развития и анатомии, что упрощает анализ изменения развития;
4. Служит прогностическим инструментом для сокращения использования позвоночных в исследованиях молекулярной токсичности, что является важным этическом аспектом.

Жизненный цикл нематод включает 4 личиночные стадии (L1-L4), и стадию зрелой особи; иногда также выделяют стадию молодой зрелой особи. При изменении температурного режима можно контролировать скорость развития животных. *C. elegans* является самооплодотворяющимся гермафродитом, откладывание яиц возможно только у взрослых особей, период яйцекладки составляет примерно 5-6 дней. После этого периода нематода перестает размножаться и погибает спустя примерно 21 день с момента вылупления. Так же возможно образование dauer-личинки, если в среде обитания возникают неблагоприятные условия, например, недостаток пищи. Dauer-личинка – это стадия, которая может наступить после L2, сопровождающаяся остановкой развития нематоды, замедлением движений червя, закрытием ротового отверстия белковой «пробкой», но при этом жизнедеятельность нематоды сохраняется. В лабораторных условиях нематод обычно содержат на чашках Петри с агаризованной средой NGM (включает в себя соли, холестерол, пептон, калий-фосфатный буферный раствор). В качестве источника пищи используют газон бактерий *Escherichia coli* штамма OP50. Данный штамм является ауксотрофом по урацилу и проявляет ограниченный рост на чашках с NGM, что облегчает наблюдение нематод с помощью микроскопа. [5]

Нематода *C. elegans* имеет белок-транспортер меди CUA-1, который гомологичен медь-транспортным АТФазам человека ATP7A/B. У человека мутации в генах *ATP7A И ATP7B* приводят к развитию тяжелых генетических заболеваний, связанных с нарушением метаболизма меди, таких, как болезнь Менкеса (дефицит меди) и болезнь Вильсона (токсический избыток меди), соответственно. Наиболее распространенной в европейской популяции мутацией, вызывающей болезнь Вильсона (БВ), является аминокислотная замена H1069Q в АТФазе ATP7B. Показано что гистидин в 828 положении белка CUA-1 аналогичен гистидину в положении 1069 в ATP7B, поэтому предполагается, что штамм нематод с аминокислотной заменой H828Q в белке-транспортере CUA-1 будет иметь нарушения в транспортной системе меди, сравнимые с таковыми у людей, страдающих БВ. Предполагается, что токсический эффект AgNPs относительно эукариотических организмов в основном связан с нарушением гомеостаза меди, то штамм нематод H828Q позволит оценить наличие этой связи и степень токсичности AgNPs для организмов с нарушениями метаболизма меди, в том числе для людей, страдающих БВ. К тому же модель такая модель нематод может быть ценной для поиска специфических лекарств для пациентов с БВ. Необходимо отметить, что опубликованных ранее исследований токсического эффекта AgNPs с использованием штамма H828Q нематод *C. elegans* не существует. Вместе это указывает на актуальность и уникальность настоящей работы. [6]

Цель работы: сравнительное исследование токсического эффекта AgNPs на штамм дикого (N2) и мутантного (H828Q) типа нематоды *C. elegans*.

Задачи:

1. Тестирование подвижности взрослых особей и скорость развития нематод *C. elegans* обоих штаммов для формирования групп сравнения.
2. Сравнение подвижности и скорости развития нематод *C. elegans* при различных концентрациях AgNPs.

Материалы и методы: Нематоды штамма *C. elegans* дикого (N2) и мутантного (H828Q) типов; чашки Петри с 2% агаризованной средой NGM; AgNPs; компьютер с использованием камеры, встроенной в стереоскоп, и компьютерной программы ToupView.

В качестве инструмента для оценки функции CUA-1 в метаболизме меди использовали AgNPs, так ATP7B/A и CUA-1 распознают и Cu(I) и Ag(I). Использованные AgNPs были получены путем восстановления серебра из раствора $AgNO_3$ гидразином в мицеллах, которые образованы олеатом калия. Их кристаллическая природа подтверждается UV/vis-спектром (максимум поглощения 410 нм), а сферическая форма и диаметр 30-40 нм методом трансмиссионной электронной микроскопией.

Изучение скорости развития нематод штамма дикого (N2) и мутантного (H828Q) типов проводили на чашках Петри с агаризованной средой NGM с использованием разных концентраций AgNPs: 0; 0,5; 1; 4; 6 мкг/мл отдельно для штамма N2 и 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 2; 5 мкг/мл для сравнения скорости развития штаммов N2 и H828Q. При нормальных условиях нематоды штамма N2 развиваются до стадии L4 за 56 часов. В начале эксперимента взрослых особей в количестве 10 штук помещали на каждую чашку Петри и оставляли примерно на 1 ч, чтобы нематоды отложили около 50 яиц. После чего взрослых особей убирали с чашек, а отложенные яйца инкубировали в течение 56 ч при T=20°C. Затем проводили качественную оценку скорости развития нематод на каждой чашке Петри: подсчитывали общее количество червей, количество червей, достигших стадии L4, и рассчитывали их долю от общего числа червей (рис. 2 и 3).

Для тестирования подвижности взрослых особей нематод обоих штаммов в количестве 10 штук помещали на 1 час на чашку Петри с агаризованной средой NGM с различными концентрациями AgNPs: 0, 4, 6 мкг/мл отдельно для штамма N2 и 0; 0,1; 0,5 1 мкг/мл для сравнения подвижности нематод штаммов N2 и H828Q. После того, как нематоды откладывали достаточное количество яиц, взрослых особей убирали, а чашки с оставшимися яйцами инкубировали в течение 3 дней при T=20°C. Оценку подвижности нематод проводили путем подсчёта движений животного в жидкости за минуту. За одно полноценное движение принимали двойное изгибание тела червя:

Взрослую особь помещали в каплю воды, где червь мог двигаться беспрепятственно. Количество движений фиксировали на компьютере с использованием камеры, встроенной в стереоскоп, и компьютерной программы ToupView (рис. 4 и 5).

Результаты и обсуждения: По результатам данных экспериментов можно сделать вывод, что AgNPs замедляют развитие нематод мутантного штамма H828Q начиная от концентрации 0,5 мкг/мл в среде что свидетельствует о непосредственном взаимодействии метаболических путей меди с ионами серебра, источником, которых являются AgNPs. При этом нематоды штамма дикого типа N2 тоже демонстрируют задержку в развитии, но она менее выражена и имеет место только при концентрациях выше 1 мкг/мл, что свидетельствует о токсичности высоких концентраций AgNPs для нематод *C. elegans*.

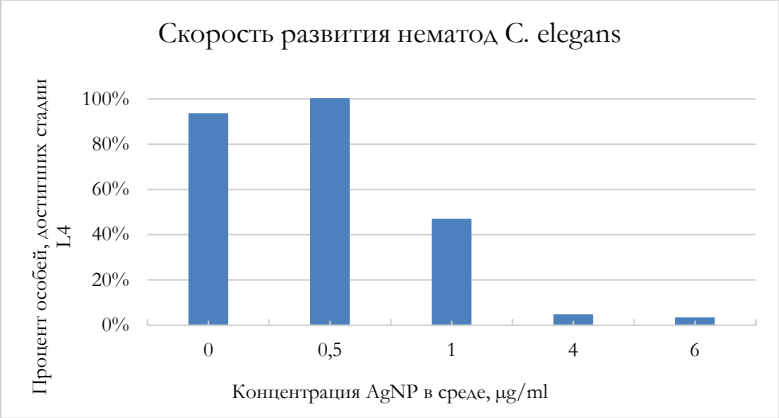


Рисунок 2. Сравнение скорости развития нематод дикого штамма при разной концентрации AgNPs

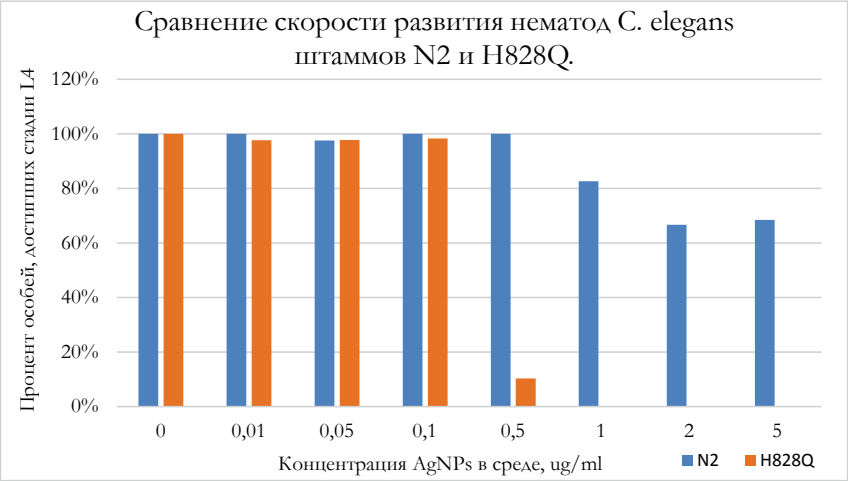


Рисунок 3. Сравнение скорости развития нематод штаммов N2 и H828Q при различных концентрациях AgNPs в среде

На рисунке 4 видно, что в чашках с концентрациями AgNPs 0-4 мкг/мл количество движений нематод N2 было почти одинаковым, при концентрации 6 мкг/мл подвижность нематод снижалась незначительно. Следовательно, данный тест показал, что концентрации AgNPs: 0, 4, 6 мкг/мл не влияет на подвижность нематод штамма N2, но было отмечено, что у некоторых особей наблюдалась слабо выраженная ригидность мышц в области хвоста, поэтому можно сделать вывод о том, что для значительных изменений в подвижности необходимо использовать более высокие концентрации AgNPs.

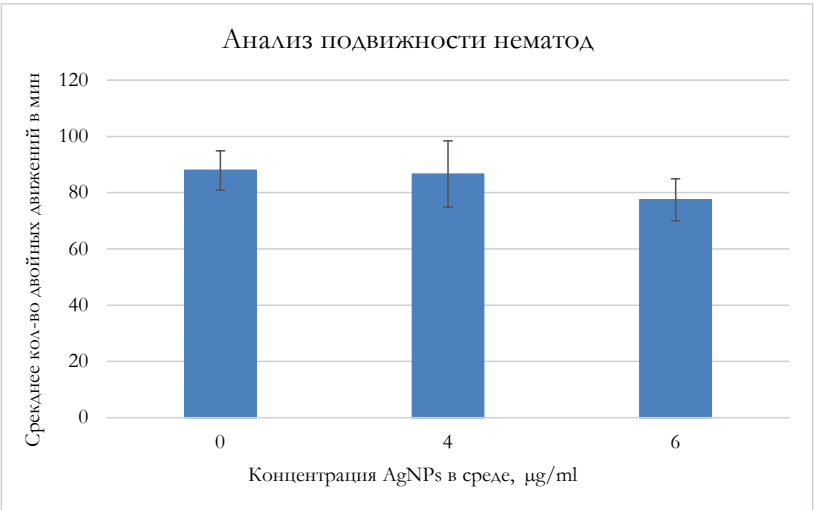


Рисунок 4. Сравнение подвижности нематод дикого штамма при разных концентрациях AgNPs

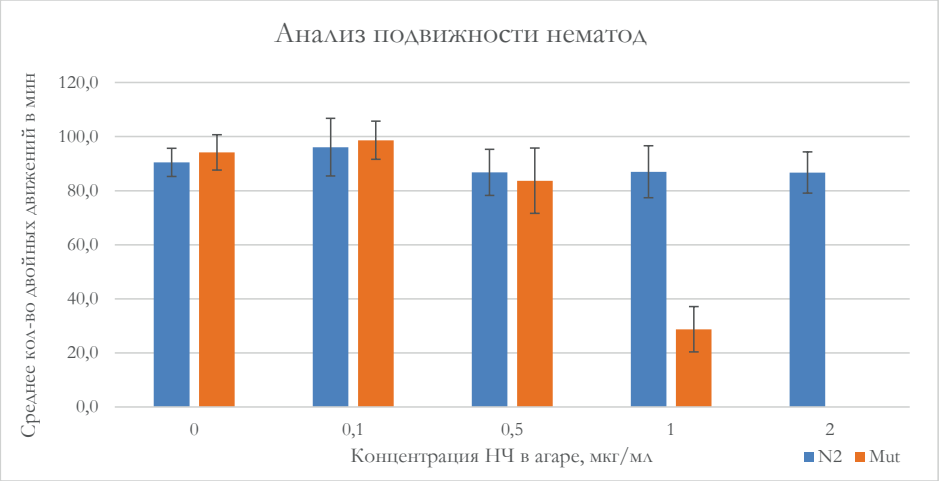


Рисунок 5. Результаты анализа подвижности нематод, выращенных при различных концентрациях AgNPs в среде

Данные рис. 5 демонстрируют, что подвижность нематод штамма H828Q значительно снижается при увеличении концентрации AgNPs в среде в то время, как подвижность штамма N2 не меняется. При концентрации AgNPs 2 мкг/мл особи штамма H828Q продемонстрировали абсолютную летальность, поэтому проведение анализа подвижности было невозможно при данной концентрации. Кроме того, примечательно то, что форма движений червей штамма мутантного типа становилась неправильной, а сами движения переставали быть плавными, по мере увеличения концентрации AgNPs в среде. Среди нематод H828Q, выращенных при концентрациях 0,5 и 1 мкг/мл, встречались животные, у которых полностью были парализованы передняя или задняя часть туловища, они были неспособны совершать привычные для нематоды движения.

Заключение: Результаты показали, что штамм H828Q более восприимчив к действию наночастиц серебра и уже при небольших концентрациях (концентрация AgNPs от 0,5 мкг/мл и выше) нарушается подвижность и уменьшается скорость развития. У дикого штамма *C. elegans* так же наблюдалось снижение скорости развития (концентрация AgNPs от 1 мкг/мл и выше), но подвижность оставалась почти неизменной.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

34.00.00 Биология

34.15.63 Молекулярная фармакология и токсикология

ЛИТЕРАТУРА

1. Wided N.M., Robert D.A., Brian S.C. Toxicological status of nanoparticles: What we know and what we don't know // Chem biol Interact. 2018. Vol. 295. P. 1-12. Doi: 10.1016/j.cbi.2018.07.015

2. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles / T.C. Dakal [et al.] // Front Microbiol. 2016. Vol. 7. P. 1831. doi:10.3389/fmicb.2016.01831

3. Size-Dependent Bioactivity of Silver Nanoparticles: Antibacterial Properties, Influence on Copper Status in Mice, and Whole-Body Turnover / E.A. Skomorokhova [et al.] // Nanotechnol Sci Appl. 2020. Vol. 13. P. 137–157. doi: 10.2147/NSA.S287658

4. Silver ions as a Tool for Understanding Different Aspects of Copper Metabolism. / L. V. Puchkova [et al.] // Nutrients. 2019. Vol. 11(6). P. 1364. Doi: 10.3390/nu11061364

5. Corsi A.K., Wightman B., Chalfie M. A Transparent window into biology: A primer on Caenorhabditis elegans. [Internet]. URL: http://www.wormbook.org/chapters/www_celegansintro/celegansintro.html#sec2.3

6. The Intestinal Copper Exporter CUA-1 Is Required for Systemic Copper Homeostasis in Caenorhabditis elegans / A.K. Sharma [et al.] // J Biol Chem. 2017. Vol. 292(1). P. 1–14. doi: 10.1074/jbc.M116.760876

SUMMARY

RESEARCH ON THE TOXIC EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLES (AgNPs) ON THE VIABILITY INDICATORS OF *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Samuseva P.D.[1], 4th year bachelor, **Orlov Yu. A**.[2], Candidate of Biology Sciences, Senior Scientific Researcher,
Mekhova A.A.[3], 2nd year master student
Academic advice: **Puchkova L. V**.[3], Doctor of Biology Sciences, Professor,
Arseniev N.A.[1], Candidate of Biology Sciences, senior lecturer
[1] St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
[2] The Herzen State Pedagogical University of Russia
48 Moika Embankment, St. Petersburg, 191186, Russian Federation
[3] Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University
29, Polytechnicheskaya., St. Petersburg, 195251, Russian Federation
E-mail: Polina.Samuseva@spcpu.ru

Silver nanoparticles are used in a lot of industries, but there is still no consensus on their toxic properties for eukaryotic organisms.In this paper, the effect of silver nanoparticles on the viability parameters of Caenorhabditis elegans of wild-type strain N2 and mutant strain H828Q was investigated.

Keywords: *silver nanoparticles, copper metabolism, copper transport system, ATP7B, Caenorhabditis elegans, CUA-1, toxicology, nanotoxicology.*

REFERENCES

1. Wided N.M., Robert D.A., Brian S.C. Toxicological status of nanoparticles: What we know and what we don't know // Chem biol Interact. 2018. Vol. 295. P. 1-12. Doi: 10.1016/j.cbi.2018.07.015
2. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles / T.C. Dakal [et al.] // Front Microbiol. 2016. Vol. 7. P. 1831. doi:10.3389/fmicb.2016.01831
3. Size-Dependent Bioactivity of Silver Nanoparticles: Antibacterial Properties, Influence on Copper Status in Mice, and Whole-Body Turnover / E.A. Skomorokhova [et al.] // Nanotechnol Sci Appl. 2020. Vol. 13. P. 137–157. doi: 10.2147/NSA.S287658
4. Silver ions as a Tool for Understanding Different Aspects of Copper Metabolism. / L. V. Puchkova [et al.] // Nutrients. 2019. Vol. 11(6). P. 1364. Doi: 10.3390/nu11061364
5. Corsi A.K., Wightman B., Chalfie M. A Transparent window into biology: A primer on Caenorhabditis elegans. [Internet]. URL: http://www.wormbook.org/chapters/www_celegansintro/celegansintro.html#sec2.3
6. The Intestinal Copper Exporter CUA-1 Is Required for Systemic Copper Homeostasis in Caenorhabditis elegans / A.K. Sharma [et al.] // J Biol Chem. 2017. Vol. 292(1). P. 1–14. doi: 10.1074/jbc.M116.760876

УДК 61:615.099.092

СОСТОЯНИЕ NOD-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭТАНОЛА

Серегина К.С., студ. 3 курса, **Ереско С.О.**, м.н.с., асп. 2 года
Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
Санкт-Петербургский государственный университет
Научный руководитель: **Айрапетов М.И.**, к.м.н., доц.
Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
Институт экспериментальной медицины
194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2, Российская Федерация
E-mail: ksu.seregin@gmail.com

При развитии алкоголизма нейровоспалительный процесс сопровождается дисрегуляцией системы «паттернраспознающих рецепторов», в том числе и цитозольных NOD-подобных рецепторов (NLRs). Изучение их состояния позволит найти новые терапевтические стратегии в лечении и профилактике нейровоспаления. Именно поэтому целью работы стал анализ научной литературы, в которой исследуется состояние NOD-подобных рецепторов в условиях хронического воздействия этанола. Анализ литературы показал, что в большинстве случаев моделирование хронического воздействия этанола in vivo и in vitro приводит к повышению уровня экспрессии NLRP3, что сопровождается активацией их молекулярных внутриклеточных каскадов реакций, ведущих часто к запуску путей гибели клеток.

Ключевые слова: *NOD-подобные рецепторы, NLRs, воздействие этанола, нейровоспаление, инфламмасомы, NLRP3.*

Введение. Алкоголизм представляет собой одну из самых важных социальных проблем человечества, приводящих к преждевременному старению и гибели людей. До сих пор многие исследователи пытаются изучить влияние этанола на организм, особенно на головной мозг человека, в котором начинают происходить нейроиммунные процессы взаимодействия.

Повреждение нервной ткани (в том числе воздействием этанола) инициирует патологический процесс, регулируемый в том числе факторами врожденного иммунитета и называемый нейровоспалением. В ходе этого процесса происходит активация клеток микроглии и астроцитов, несущих на своей поверхности специализированные «паттернраспознающие рецепторы» (pattern-recognizingreceptors — PRR), к которым относятся в том числе цитозольные NOD-подобные рецепторы (NLRs – nucleotide-binding leucine-richrepeatcontaining, т. е. связывающие нуклеотид и содержащие обогащенные лейцином повторы). Эти рецепторы образуются при повреждении компонентов ткани и связываются с определенными молекулярными конфигурациями (комплексами) микробных клеток или с высокомолекулярными (паттернгенерирующими) продуктами деструкции тканей организма.У человека описаны более 20 видов NLR, из которых наиболее интенсивно изучаются NLR, формирующие инфламмасомы: NLRP1, NLRP3, NLRC4, NLRC5, NLRP6, NLRP7 и NLRP12 [1]. Ткань головного мозга человека экспрессирует NLRP1-3 и NLRP6 и 12, а также NOD1 и NOD2 на более высоких уровнях [3].

Инфламмасома – макромолекулярные комплексы, образуемые разными видами NLR после их активации и представляющие собой молекулярную платформу для активации каспазы-1 (цистеиновой протеазы, опосредующей протеолиз и активацию цитокинов IL-1 и IL-18). В типичных случаях инфламмасома содержит 3 компонента: 1) белок NLR; 2) белок-адаптер с доменом активации каспазы — ASC (apoptosis-associatedspeck-likeproteincontaining a. Caspase recruitment domain); 3) молекулы каспазы-1 (каспазы-эффектора) [1]. Согласно классификации комитета по вопросам номенклатуры GNC (Gene Nomenclature Committee) международной организации HUGO (Human Genome Organization), NLRs принято подразделять, в зависимости от структурной организации их N-терминальных доменов, на четыре подсемейства: NLRA, NLRB, NLRP и NLRC/X [2]. В молекуле NLRP3 выделяют 3 домена: LRR (С-концевой, содержащий обогащенные лейцином повторы), центральный домен NACHT (обладает АТФазной активностью и обеспечивает олигомеризацию протеинов) и N-концевой эффекторный (пириновый) домен — PYD.

Из всех упомянутых типов инфламмасом наиболее изучена NLRP3, которая не только участвует в иммунном ответе против бактерий (золотистый стафилококк, гонококк), вирусов (vaccinia, influenza), грибов (Candida albicans), но и распознает сигналы опасности (АТФ, кристаллы урата, повышенная генерация активных форм кислорода, амилоид-β (Aβ), окисленные липопротеины низкой плотности и кристаллы холестерина), опосредуя развитие стерильной нейровоспалительной реакции при различных заболеваниях.NLRP3 и его адапторный белок ASC участвуют в инициировании прогрессирования демиелинизации и нейровоспаления.

Под действием стимула (сигнала «опасности») инфламмасомы начинают образовывать комплексы путем аутоолигомеризации через взаимодействие своими NACHT-доменами. Домен LRR в составе NLRP3 служит для распознавания сигналов, запускающих процесс сборки активного инфламмасомного комплекса, в ходе которой различные компоненты инфламмасомы (NLRP3, ASC, прокаспаза-1) реагируют между собой аналогичными участками посредством гомофильных PYD-PYD и CARD-CARD взаимодействий [1].

NOD2 играет регулирующую роль в воспалении ЦНС в ответ на потенциальные патогены, относящиеся к головному мозгу, такие как N. meningitides, B. burgdorferi, S. aureus или S. pneumoniae. Предполагается, что NOD2 может быть вовлечён в ишемическое повреждение головного мозга, а также в болезнь Альцгеймера и чувствительность к бета-амилоиду.

NLRP1 конститутивно экспрессируется в ткани мозга, включая нейроны, астроциты и микроглию, где, как полагают, он способствует апоптозу и может быть вовлечен в ишемическое повреждение головного мозга [3].

Актуальность работы: при развитии алкоголизма нейровоспалительный процесс сопровождается дисрегуляцией системы «паттернраспознающих рецепторов», в том числе и цитозольных NOD-подобных рецепторов (NLRs). Изучение их состояния позволит найти новые терапевтические стратегии в лечении и профилактике нейровоспаления.

Цель. Провести анализ научной литературы, в которой исследуется состояние NLRs в условиях хронического потребления этанола.

Задачи: 1) провести обзор научных статей и сделать выводы на основе их анализа; 2) определить последствия воздействия этанола на NOD-подобные рецепторы (инфламмасомы) и сделать выводы; 3) определить роль NOD-подобных рецепторов в нейровоспалении.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный обзор 11 научных статей за 2013-2021 гг. с использованием базы данных PubMed. Поиск задавался по ключевым словам: «NLR», «PRR», «ethanol», «alcoholization», «chronic alcoholism», «acute alcoholism», «brain», «immunity», «inflammation», «perception», «sensitivity».

Результаты. В эксперименте 2013 года самки мышей в течение 5 недель получали 5% этанол, содержащий EtOH или диету PF с равным количеством калорий, где калории, полученные из алкоголя, были заменены декстран-мальтозой. При этом экспрессия компонентов инфламмасом (NLRP1, NLRP3, ASC) и провоспалительных цитокинов (TNF-α, MCP-1) была увеличена на уровне мРНК и белка в мозжечке мышей, получавших алкоголь, по сравнению с контрольными мышами. Алкоголь регулирует и активирует инфламмасому NLRP3 / ASC, что приводит к активации каспазы-1 и увеличению IL-1β в мозжечке [4].

В другом эксперименте 2013 года использовались культивируемые макрофаги человека (из моноцитов – SFM) или клетки THP-1, к которым добавляли агонист TLR4 LPS (1 мкг / мл), клетки инкубировали в присутствии различных концентраций этанола (43 мМ, 86 мМ, 171 мМ и 343 мМ). Этанол дозозависимо снижал выработку IL-1β, индуцированную активаторами инфламмасомы NLRP3, на уровне мРНК и белка. Этанол не оказывал значительного влияния на экспрессию мРНК NLRP3 или IL1B в макрофагах с LPS. Этанол ингибирует активацию инфламмасом вместо синтеза про-IL-1β (секреция IL-1β снижалась параллельно со снижением активации каспазы-1) [5].

В 2014 году для хронического лечения этанолом были использованы 40 мышей-самок C57BL / 6 (WT / TLR4 + / +) и TLR4-KO, получавших обычную воду (WT и TLR4-KO контроль) или воду, содержащую 10% этанола, которых помещали на твердую диету ad libitum на 5 месяцев. Обработка этанолом (10 и 50 мМ) была способна повышать уровень мРНК NLRP3. Белок NLRP3 экспрессируется в цитозоле клеток GFAP +, хотя более высокая экспрессия NLRP3 отмечена в астроцитах WT с LPS, АТФ или этанолом (10, 50 мМ). Стимулируя генерацию mROS, этанол индуцирует активацию NLRP3 / caspase-1 для запуска синтеза IL-1β / IL-18 и гибели клеток в результате пироптоза и апоптоза. Элиминация TLR4 заметно уменьшает действия этанола на активацию воспалительных процессов NLRP3 и продукцию воспалительных цитокинов IL-1β / IL-18 [6].

В опыте 2016 года клетки мыши (J774), дендритные клетки, полученные из костного мозга мыши, нейтрофилы мыши и PBMC (peripheral blood mononuclear cell) человека примировали LPS и обрабатывали агонистами: АТФ, нигерицином, квасцами и apoSAA с увеличением доз этанола (0,38–3%) и без него. В результате, учёные пришли к выводу, что этанол может специфически ингибировать активацию инфламмасомы NLRP3, и это приводит к ослаблению расщепления и секреции IL-1β и каспазы-1 на уровне белка. Индуцированное ортованадатом натрия фосфорилирование ASC Y144, необходимое и достаточное для активации инфламмасомы Nlrp3, и секреция фосфорилированных ASC ингибировались этанолом. Этанол противодействует инфламмасоме NLRP3 на апикальном этапе своей активации посредством стимуляции протеинтирозинфосфатаз, что характерно для других короткоцепочечных спиртов [7].

В другом эксперименте 2016 года при воздействии этанола 70 мМ в течение 24 часов или 7 дней и провоспалительного фактора в дополнение к предварительному воздействию этанола на человеческие плюрипотентные стволовые (iPS) клетки и нейральные клетки-предшественники (NPC) учёные пришли к заключению, что воздействие этанола вызывает нейровоспаление как в индуцированных iPS клетках, так и в NPC. Воздействие этанола в течение 24 часов или 7 дней не влияет на пролиферацию iPS-клеток и NPC, но запускает врожденный иммуноподобный ответ путем активации пиринового домена семейства NLR, содержащего 3 (NLRP3) пути воспаления. Уменьшение на уровне белка количества зрелых нейронов, происходящих от дифференцирующихся NPC, очевидно в предварительно обработанном этаноле по сравнению с контрольными NPC [8].

В 2017 году изучалась первичная культура артериальных / капиллярных эндотелиальных клеток головного мозга самцов крыс. На шестой неделе некоторым животным была проведена хирургическая имплантация катетеров в общую сонную артерию. После полного заживления ран крыс акклиматизировали к контролю Либера-ДеКарли или жидкой диете на основе этанола с шагом 1%, 3% и 5% этанола в неделю. Затем крыс кормили парами в течение 12-20 недель жидкими диетами, состоящими из 1) нормальной контрольной диеты (ND), 2) диеты с высоким содержанием жиров (HD), 3) этанола (EtOH), 4) этанола + диеты с высоким содержанием жиров. (EtOH (HD)), 5) этанол + диета с высоким содержанием жиров + ALC + AVS (EtOH (HD) + ALC + AVS) и 6) только ALC + AVS в нормальном контрольном рационе. Суточное потребление алкоголя переводится в 0,7–1,0 г этанола / кг, что считается тяжелым употреблением алкоголя. Превращение холестерина в острые края кристаллов холестерина (CC) при приеме алкоголя было ключом к активации инфламмасомы NLRP3, индукции церебрального атеросклероза и развитию нейропатии вокруг атеросклеротических поражений. Потребление алкоголя повышает уровень холестерина в плазме, отложение и кристаллизацию холестерина, а также активацию инфламмасомы NLRP3 (утолщение стенок артериол или капилляров и повышение внутричерепного кровяного давления). Вызванное алкоголем накопление и кристаллизация холестерина активирует NLRP3 / каспазу-1 в сосуде головного мозга, что приводит к раннему развитию атеросклероза [9].

В одном из недавних исследований (2020 г.) клеточная линия нейробластомы человека (SK-N-MC) подвергалась воздействию различных концентраций этанола (100–400 мМ) на апоптоз нейронов. Исследование проводилось на уровне мРНК и белка. Этанол активирует NMDAR-зависимое фосфорилирование CaMKII, которое необходимо для Drp1-опосредованного избыточного деления митохондрий и индуцированной JNK1 активации воспаления NLRP3, приводящей к апоптозу нейронов [10].

В другом эксперименте 2020 года клетки миелоидного лейкоза человека (клетки U937) обрабатывали 100 мМ этанола в течение 24 часов, человеческие макрофаги, трансфицированные siRNA TXNIP и 1,0 мг / мл кристаллов MSU в течение 24 часов. Клетки U937, обработанные 100 мМ этанолом в течение 24 часов, индуцировали экспрессию NLRP3 и интерлейкина (IL) -1β. Обработка этанолом увеличивала экспрессию мРНК и белка NLRP3 и IL-1β в клетках U937, подвергшихся воздействию 1,0 мг / мл кристаллов MSU в течение 24 часов. Этанол стимулирует индуцированную мочевой кислотой активацию инфламмасомы NLRP3 за счет регрессии AhR и активации TXNIP [11].

Заключение. Проведя анализ имеющихся исследований, были получены сведения о значительной роли NLRs (NLRP1 и NLRP3) в опосредованных ими механизмах развития нейровоспаления.

При потреблении этанола увеличивается экспрессия инфламмасом и провоспалительных цитокинов, происходит активация NLRP1 и NLRP3 в мозге, что приводит в дальнейшем к нейровоспалению. Происходит активация каспазы-1 и увеличение IL-1β, который усиливает нейровоспаление, а нарушение передачи сигналов IL-1 / IL-1R предотвращает

вызванную алкоголем активацию воспаления и нейровоспаление. Вызванное алкоголем накопление и кристаллизация холестерина активирует NLRP3 / каспазу-1 в сосудах головного мозга, что приводит к раннему развитию атеросклероза.

Этанол может специфически ингибировать активацию инфламмасомы NLRP3, и это приводит к ослаблению расщепления и секреции IL-1β и каспазы-1. Этанол противодействует инфламмасоме NLRP3 на апикальном этапе своей активации посредством стимуляции протеинтирозинфосфатаз, что характерно для других короткоцепочечных спиртов.

Изучение состояния этих биологически активных молекул – важное направление в современной клеточной биологии, биохимии и фармакологии, достижения которого станут основой для новых терапевтических стратегий в лечении и профилактики нейровоспалительного процесса.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.00 Фармакология.

76.31.29 Клиническая фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Пирожков С.В., Теребилина Н.Н., Литвицкий П.Ф. Роль инфламмасом в развитии нервных и психических заболеваний. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2018. N 12. С. 81-91.

2. 4.3. NOD-подобные рецепторы в генезисе воспалительной реакции. / Л.С. Бакулина [и др.] // Сепсис: пожар и бунт на тонущем в шторм корабле. 2017. С. 197-208

3. NLRs in immune privileged sites. / Holly L. Rosenzweig [et. al.] // Curr Opin Pharmacol. 2011. Vol. 11(4). P. 423-8. https://doi.org/10.1016/j.coph.2011.07.002.

4. Alcohol-induced IL-1β in the brain is mediated by NLRP3/ASC inflammasome activation that amplifies neuroinflammation / D. Lippai [et. al.] // J Leukoc Biol. 2013. Vol. 94(1). P. 171-82. https://doi.org/10.1189/jlb.1212659.

5. Ethanol inhibits activation of NLRP3 and AIM2 inflammasomes in human macrophages--a novel anti-inflammatory action of alcohol / K. Nurmi [et. al.] // PLoS One. 2013. Vol. 8(11). e78537. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078537.

6. Role of mitochondria ROS generation in ethanol-induced NLRP3 inflammasome activation and cell death in astroglial cells / S . Alfonso-Loeches [et. al.] // Front Cell Neurosci. 2014. Vol. 8. 216 p. https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00216.

7. Ethanol and Other Short-Chain Alcohols Inhibit NLRP3 Inflammasome Activation through Protein Tyrosine Phosphatase Stimulation / L.R. Hoyt. [et. al.] // J Immunol. 2016. Vol. 197(4). P. 1322-34. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600406.

8. Ethanol-mediated activation of the NLRP3 inflammasome in iPS cells and iPS cells-derived neural progenitor cells / L. De Filippis [et. al.] // Mol Brain. 2016. Vol. 9(1). 51 p. https://doi.org/10.1186/s13041-016-0221-7.

9. Activation of NLRP3 inflammasome by cholesterol crystals in alcohol consumption induces atherosclerotic lesions / P.M. Abdul-Muneer [et. al.] // Brain Behav Immun. 2017. Vol. 62. P. 291-305. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.02.014.

10. Ethanol-activated CaMKII signaling induces neuronal apoptosis through Drp1-mediated excessive mitochondrial fission and JNK1-dependent NLRP3 inflammasome activation / J. R. Lim et. al. // Cell Commun Signal. 2020. Vol. 18(1). 123 p. https://doi.org/10.1186/s12964-020-00572-3.

11. Ethanol Augments Monosodium Urate-Induced NLRP3 Inflammasome Activation via Regulation of AhR and TXNIP in Human Macrophages / S.K. Kim [et. al.] // Yonsei Med J. 2020. Vol. 61(6). P. 533-541. https://doi.org/10.3349/ymj.2020.61.6.533.

SUMMARY

THE STATE OF NOD-LIKE RECEPTORS UNDER CHRONIC ETHANOL EXPOSURE

Seregina K.S., 3rd year student; **Eresko S.O.,** Research Assistant, P.G. 2nd year student
St. Petersburg State Pediatric Medical University,
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University,
St. Petersburg State University
Academic advise: **Airapetov M.I.,** Candidate of Medical Sciences, senior lecturer
St. Petersburg State Pediatric Medical University,
Institute of Experimental Medicine
194100, St. Petersburg, Litovskaya st., 2., Russian Federation
E-mail: ksu.seregin@gmail.com

With the development of alcoholism, the neuroinflammatory process is accompanied by dysregulation of the "pattern-recognizing receptors" system, including cytosolic NOD-like receptors (NLRs). The study of their condition will allow finding new therapeutic strategies in the treatment and prevention of neuroinflammation. That is why the aim of the work was to analyze the scientific literature, which studies the state of NOD-like receptors under conditions of chronic ethanol exposure. An analysis of the literature showed that in most cases, modeling of chronic ethanol exposure in vivo and in vitro leads to an increase in the level of NLRP3 expression, which is accompanied by the activation of their molecular intracellular cascades of reactions, often leading to the triggering of cell death pathways.

Keywords: *NOD-like receptors, NLRs, ethanol exposure, neuroinflammation, inflammasomes, NLRP3.*

REFERENCES

1. Pirozhkov S.V., Terebilina N.N., Litvitsky P.F. The role of inflammasomes in the development of nervous and mental diseases. // Journal of Neurology and Psychiatry. S.S. Korsakova. 2018. Vol. 118(12). P. 81-91. (in Russian)
2. 4.3. NOD-like receptors in the genesis of the inflammatory response / L.S. Bakulina [et al.] // Sepsis: fire and riot on a ship sinking in a storm. 2017. P. 197-208. (in Russian)
3. NLRs in immune privileged sites. / Holly L. Rosenzweig [et. al.] // Curr Opin Pharmacol. 2011. Vol. 11(4). P. 423-8. https://doi.org/10.1016/j.coph.2011.07.002.
4. Alcohol-induced IL-1β in the brain is mediated by NLRP3/ASC inflammasome activation that amplifies neuroinflammation / D. Lippai [et. al.] // J Leukoc Biol. 2013. Vol. 94(1). P. 171-82. https://doi.org/10.1189/jlb.1212659.
5. Ethanol inhibits activation of NLRP3 and AIM2 inflammasomes in human macrophages--a novel anti-inflammatory action of alcohol / K. Nurmi [et. al.] // PLoS One. 2013. Vol. 8(11). e78537. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078537.
6. Role of mitochondria ROS generation in ethanol-induced NLRP3 inflammasome activation and cell death in astroglial cells / S . Alfonso-Loeches [et. al.] // Front Cell Neurosci. 2014. Vol. 8. 216 p. https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00216.
7. Ethanol and Other Short-Chain Alcohols Inhibit NLRP3 Inflammasome Activation through Protein Tyrosine Phosphatase Stimulation / L.R. Hoyt. [et. al.] // J Immunol. 2016. Vol. 197(4). P. 1322-34. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600406.
8. Ethanol-mediated activation of the NLRP3 inflammasome in iPS cells and iPS cells-derived neural progenitor cells / L. De Filippis [et. al.] // Mol Brain. 2016. Vol. 9(1). 51 p. https://doi.org/10.1186/s13041-016-0221-7.
9. Activation of NLRP3 inflammasome by cholesterol crystals in alcohol consumption induces atherosclerotic lesions / P.M. Abdul-Muneer [et. al.] // Brain Behav Immun. 2017. Vol. 62. P. 291-305. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.02.014.
10. Ethanol-activated CaMKII signaling induces neuronal apoptosis through Drp1-mediated excessive mitochondrial fission and JNK1-dependent NLRP3 inflammasome activation / J. R. Lim et. al. // Cell Commun Signal. 2020. Vol. 18(1). 123 p. https://doi.org/10.1186/s12964-020-00572-3.
11. Ethanol Augments Monosodium Urate-Induced NLRP3 Inflammasome Activation via Regulation of AhR and TXNIP in Human Macrophages / S.K. Kim [et. al.] // Yonsei Med J. 2020. Vol. 61(6). P. 533-541. https://doi.org/10.3349/ymj.2020.61.6.533.

УДК 616.89-008.441.13-099-092.4:547.434.2

КОРРЕКЦИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Соколова А.А., студ. 4 года обучения (ORCID: 0000-0002-5116-8458),
Андриашвили Т.М., студ. 3 года обучения (ORCID: 0000-0002-0983-666),
Пустынников В.Э., студ. 3 года обучения (ORCID: 0000-0001-9561-5320),
Фомичев Е.А., студ. 3 года обучения (ORCID: 0000-0003-1837-4337)
Руководитель: **Куркин Д.В.**, д.фарм.н., доцент (ORCID: 0000-0002-1116- 3425)
ФГБОУ ВО Волгоградский Государственный Медицинский университет
400066, Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1, Российская Федерация
E-mail: chudi.lis.14@gmail.com

В данной работе проведено экспериментальное исследование влияния композиции веществ с антиоксидантным и психостимулирующим действием на симптомы психоневрологического дефицита после острой алкогольной интоксикации.

Ключевые слова: *этанол, ацетилцистеин, таурин, липоевая кислота, янтарная кислота, кофеин, пиридоксин, острая алкогольная интоксикация.*

Употребление алкоголя является одним из ведущих факторов снижения качества жизни и возникновения жизнеугрожающих ситуаций. Посталкогольная интоксикация и обусловленные ею психоневрологические симптомы часто сопровождают лиц, которые относительно редко употребляют алкогольные напитки (до 100 г, в пересчёте на чистый этанол, в день), и являются распространённой причиной низкой работоспособности, профессионального и бытового травматизма.

Большинство часто применяемых лекарственных средств не облегчают симптоматику интоксикации или купируют только отдельные симптомы. Сорбенты являются одними из самых распространённых препаратов для предупреждения или устранения симптомов алкогольной интоксикации, но их эффективность недостаточна. Применение антиоксидантов, таких как ацетилцистеин, таурин, тиоктовая кислота и некоторых других, с целью коррекции комплекса негативных последствий употребления больших доз алкоголя оправдано, что подтверждается результатами доклинических.

Цель

Экспериментально обосновать эффективность профилактического применение комбинации (ацетилцистеина, таурина, кофеина, янтарной кислоты, липоевой кислоты и пиридоксина) для снижения выраженности психоневрологиче-

ских нарушений после острой алкогольной интоксикации.

Острая интоксикация алкоголем – алкогольное опьянение – комплекс нарушений поведения, психологических и физиологических реакций, возникающих после приема алкоголя. Следствием алкогольного опьянения является похмелье.

Похмелье – постинтоксикационное состояние, возникающее вследствие злоупотребления алкогольными напитками, сопровождающееся неприятными психологическими и физиологическими эффектами, такими как: вялость, усталость, разбитость, жажда, головная боль, тошнота, гиперчувствительность к шуму и свету, тремор рук, внутренняя дрожь в теле, отсутствие аппетита, безразличие ко всему.

Плохое самочувствие и, как следствие, снижение работоспособности, после употребления спиртных напитков неизбежно и касается хотя бы раз каждого человека. По статистике наиболее подвержены этому состоянию студенты и люди с большими психоэмоциональными нагрузками.

Причинами похмелья считаются повышенный диурез, способствующий возникновению головных болей, сухости во рту, ощущению усталости, обезвоживанию и образование продуктов этанола в печени.

В печени происходит промежуточное окисление этилового спирта в ацетальдегид с помощью фермента алкогольдегидрогеназы, а затем идет превращение ацетальдегида в уксусную кислоту с помощью фермента ацетальдегидрогеназы. При избытке алкоголя в крови ферментные системы не справляются с полным превращением ацетальдегида в уксусную кислоту, в результате он накапливается в организме. Ацетальдегид (этаналь) в разы токсичнее самого этанола.

Для снятия симптомов похмелья часто применяют общедоступные лекарственные препараты от головной боли, такие как аспирин или цитрамон. Для борьбы с интоксикацей организма применяются меры детоксикации: промывание желудка и/или кишечника, приём сорбентов (например, активированного угля). Однако, активированный уголь крайне неэффективен при абсорбции низкомолекулярных веществ, хорошо растворимых в воде, наподобие спиртов и альдегидов, и помогает лишь при наличии токсичного вещества в желудке или кишечнике (также при его рециркуляции из желчной системы печени). А ацетальдегид и уксусная кислота не накапливаются в ЖКТ и не выделяются с желчью, являясь внутритканевыми ядами.

Ацетилцистеин обладает тремя фармакологическими действиями: отхаркивающим, муколитическим и антиоксидантным. В данном исследовании более подробно рассматривается антиоксидантное действие препарата. Детоксикация ацетальдегида, образовавшегося из этанола в печени, обусловлена наличием сульфгидрильных групп в молекуле ацетилцистеина, которые связываются с окислительными радикалами и тем самым нейтрализуют их. Такое действие препарата, способствует дальнейшему очищению организма от токсичных метаболитов этанола, образовавшихся в организме человека.

Кофеин оказывает активирующее и сохраняющее внимание действие, входит в состав (иногда в сочетании с родственными ему веществами) энергетических напитков и которые часто употребляются с алкоголем.

Таурин оказывает гепатопротекторное действие при алкогольных интоксикациях – снижает окислительный стресс, TNF-α, стеатоз.

Липоевая кислота поддерживает оптимальную активность альдегиддегидрогеназы 2 (АЛДГ-2), которая оказывает протективный эффект при окислительном стрессе, негативно влияющим на эффективность печеночной АЛДГ-2 и соответственно метаболизм алкоголя и ацетальдегида. Янтарная кислота представляет собой дикарбоновую кислоту, которая выполняет несколько биологических ролей в качестве промежуточного продукта метаболизма, который участвует в производстве АТФ, и в качестве сигнальной молекулы, отражающей состояние клеточного метаболизма. Таким образом липоевая и янтарная кислоты были включены в состав композиции, как вещества, аналогично ацетилцистеину, обладающие выраженным антиоксидантным действием и некоторыми уникальными эффектами.

Пиритинол (пиритиоксин) представляет собой комбинацию двух молекул витамина B6 (пиридоксина) с дисульфидной связью. Его фармакокинетический профиль имитирует профиль исходного соединения, легко проникает через гематоэнцефалический барьер и регулирует сигнальные пути различных нейротрансмиттеров, включая ацетилхолин, γ-аминомасляную кислоту, NMDA, также действует как антиоксидант и противовоспалительный агент, снижает вязкость плазмы.

Материалы и методы

Исследование проводили на половозрелых крысах самцах, которым перед острым введением большой дозы алкоголя (3 г/кг) вводили ацетилцистеин (500 мг/кг), таурин (10 мг/кг), кофеин (10 мг/кг), янтарную кислоту (50 мг/кг), липоевую кислоту (50 мг/кг), пиридоксин (200 мг/кг) или их комбинацию (дозы веществ вводимых в виде композиции составили половину от вводимых по отдельности). Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

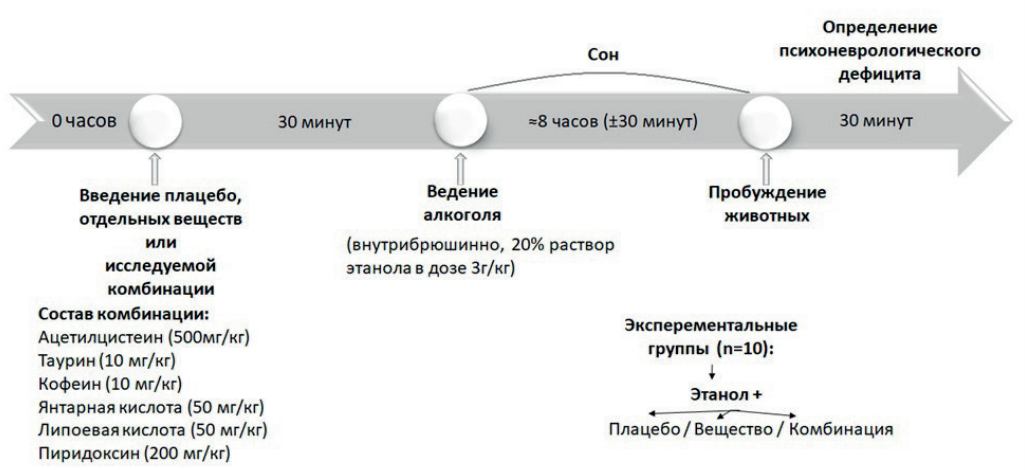


Рисунок 1. Дизайн исследования

Результаты и обсуждение

Симптомы психоневрологического дефицита оценивали после введения алкоголя и пробуждения животных. Введение раствора этилового спирта (3 г/кг, в/б) приводило к развитию выраженного седативного эффекта (животные засыпали в течение 2-3 минут на 8±0,5 часов). После пробуждения крысы проявляли признаки выраженного неврологического дефицита по шкале «Combs и D'Alecy». особенно в группе животных которым помимо этанола вводили плацебо. У животных, которым профилактически ввели исследуемую композицию или вещества по отдельности, симптомы психоневрологического дефицита проявлялись в значительно меньшей степени.

При проведении адгезивного теста, после пробуждения животные, которым помимо этанола вводили плацебо, не реагировали на инородный предмет, закрепленный на волярной поверхности лап, т.е. их сенсорно-моторная функция была снижена. Сенсорно-моторная функция у животных, которым вводили компоненты смеси по отдельности, лучше, а у животных с введенной композицией значительно лучше.

Двигательная и исследовательская активность наиболее выражена у группы животных, которым вводили исследуемую композицию (рис. 2).

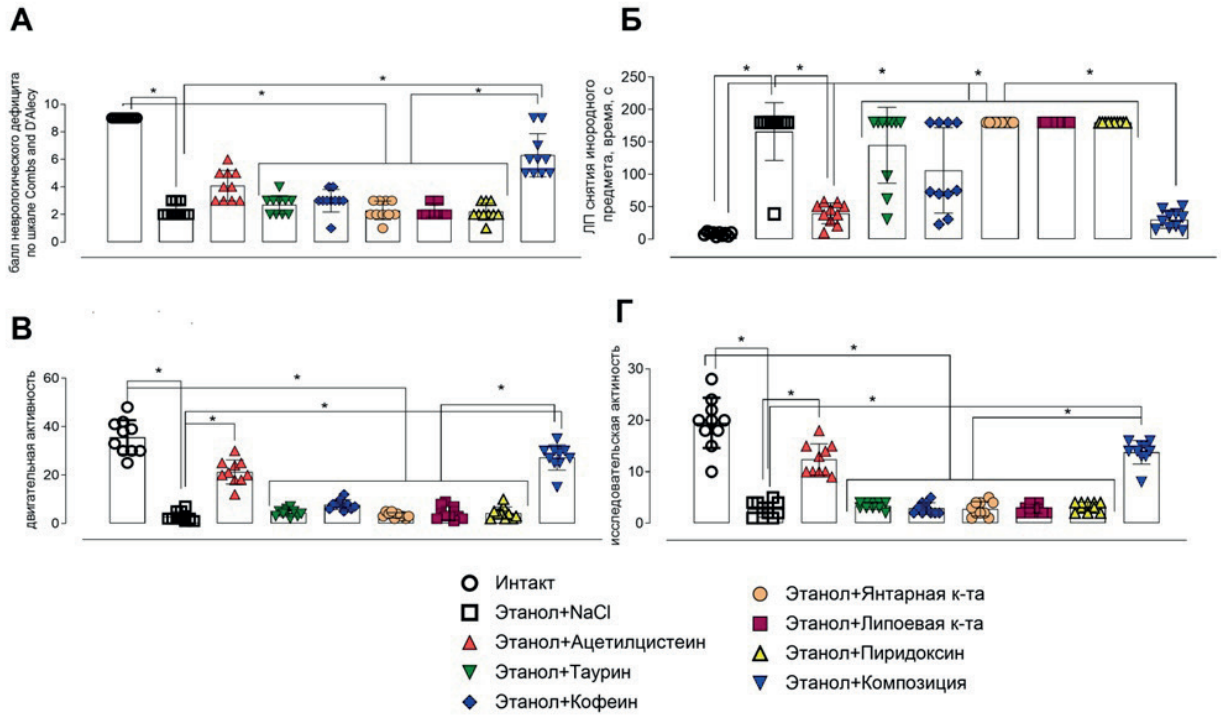


Рисунок 2. Уровень неврологического дефицита по шкале Combs и D'Alecy (А) и время снятия инородного предмета с волярной поверхности передних лап (Б, цифрами представлено количество животных, обнаруживших и избавившихся от инородного предмета закрепленного на ладонной поверхности передних лап в %), показатели двигательной (В) и исследовательской (Г) активности в тесте «Открытое поле» у крыс после острой алкогольной интоксикации

Обозначение: * – $p < 0,05$ однофакторный дисперсионный анализ с пост-тестом Ньюмена-Кеулса; сравниваемые выборки обозначены линиями; исследовательская активность – сумма числа актов стоек и количества обследованных отверстий-норок; двигательная активность – количество пересеченных секторов установки

Таким образом профилактическое введение композиции, состоящей из комплекса биологически активных веществ (ацетилцистеин, таурин, кофеин, янтарную кислоту, липоевую кислоту, пиридоксин), значительно снижает тяжесть психоневрологических симптомов, вызванных тяжелой алкогольной интоксикацией. Разработанная композиция может применяться не только для предупреждения и/или коррекции постинтоксикационных психоневрологических нарушений, но и при состояниях, сопровождающихся нарушениями антиоксидантной системы организма.

Выводы

Профилактическое введение комбинации ацетилцистеина с таурином, кофеином, пиридоксином, липоевой и янтарной кислотами перед острой алкогольной интоксикации оказывает более выраженное протективное действие, чем при их изолированном применении, значительно снижая выраженность симптомов психоневрологического дефицита. Антиоксидантные эффекты ацетилцистеина потенцируются пиридоксином, липоевой и янтарной кислотами, таурином, а введение кофеина оказывает психоактивирующее и ободряющее действие. Полученные результаты указывают на перспективность применения исследуемой композиции с целью предупреждения симптомов психоневрологического дефицита, возникающих в результате острого отравления этанолом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Oral and intravenous acetylcysteine for treatment of acetaminophen toxicity: a systematic review and metaanalysis / J.L. Green [et al.] // West J Emerg Med. 2013. Vol. 14(3). P. 218-226.

2. Морковин Е.И., Куркин Д.В., Тюренков И.Н. Оценка психоневрологического дефицита у грызунов: основные методы // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2018. Т. 68. N 1. С. 3-15.

3. McLellan T.M., Caldwell J.A., Lieberman H.R. A review of caffeine's effects on cognitive, physical and occupational performance // Neurosci Biobehav Rev. 2016. Vol. 71. P. 294-312.

4. Antioxidant effect of alpha-lipoic acid against ethanol-induced gastric mucosal erosion in rats / O. Sehirli [et al.] // Pharmacology. 2008. Vol. 81(2). P. 173-180.

5. Психоневрологические нарушения у животных с ишемией головного мозга на фоне сахарного диабета и их коррекция новым агонистом GPR119 и его комбинациями с метформином и цитиколином / Д.А. Бакулин [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2019. Т. 63. N 3. С. 96-104.

SUMMARY

MARKET OF HYPOGLYCEMIC DRUGS

Sokolova A.A., 4th year student (ORCID: 0000-0002-5116-8458),
Andriashvili T.M., 3rd year student (ORCID: 0000-0002-0983-666),
Pustynnikov V.E., 3rd year student (ORCID: 0000-0001-9561-5320),
Fomichev E.A., 3rd year student (ORCID: 0000 -0003-1837-4337)
Academic advise: Kurkin D.V., Doctor of Pharmacy, docent (ORCID: 0000-0002-1116-3425)
Volgograd State Medical University
400066, Volgograd, Fallen Fighters Square, 1, Russian Federation
E-mail: chudi.lis.14@gmail.com

In this paper, an experimental study of the effect of the composition of substances with antioxidant and psychostimulating effects on the symptoms of neuropsychiatric deficiency after acute alcohol intoxication was carried out.

Keywords: *ethanol, acetylcysteine, taurine, lipoic acid, succinic acid, caffeine, pyridoxine, acute alcohol intoxication.*

REFERENCES

1. Oral and intravenous acetylcysteine for treatment of acetaminophen toxicity: a systematic review and metaanalysis / J.L. Green [et al.] // West J Emerg Med. 2013. Vol. 14(3). P. 218-226.

2. Morkovin E.I., Kurkin D.V., Tyurenkov I.N. Assessment of neuropsychiatric deficits in rodents: basic techniques // Journal of higher nervous activity to them. I. P. Pavlova. 2018. Vol. 68(1). P. 3-15. (in Russian)

3. McLellan T.M., Caldwell J.A., Lieberman H.R. A review of caffeine's effects on cognitive, physical and occupational performance // Neurosci Biobehav Rev. 2016. Vol. 71. P. 294-312.

4. Antioxidant effect of alpha-lipoic acid against ethanol-induced gastric mucosal erosion in rats / O. Sehirli [et al.] // Pharmacology. 2008. Vol. 81(2). P. 173-180.

5. Psychoneurological disorders in animals with cerebral ischemia on the background of diabetes mellitus and their correction with a new agonist GPR119 and its combinations with metformin and citicoline / D.A. Bakulin [et al.] // Pathological physiology and experimental therapy. 2019. Vol. 63(3). P. 96-104. (in Russian)

УДК 61:615.1

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСТРАКТОВ СЫРЬЯ РОДА ДИОСКОРЕЯ (*DIOSCORÉA*) ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

Туравинина З.А., студ. 2 курса фармацевтического факультета
Ивкина А.С., ст. научный сотрудник ЦЭФ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Россия, Санкт-Петербург, улица профессора Попова, д. 14
E-mail: zlata.turavinina@spcpu.ru

В ходе данного исследования на лабораторных животных была определена наиболее эффективная дозировка испытуемых экстрактов культуры и лекарственного растительного сырья (ЛРС) диоскореи в условиях гемической гипоксии, плавания в воде комфортной температуры (t= 22-24°С) с грузом в 10% от массы тела животного, а также проведена оценка функционального состояния лабораторных животных в тесте вынужденного плавания в условиях гипоксии после приема испытуемых объектов в выбранной дозе. Показано, что культура и ЛРС диоскореи являются достаточно эффективным средством фармакологической коррекции переносимости комплексного воздействия гипоксии и физической нагрузки.

Ключевые слова: *гипоксия, лабораторные животные, натрия нитрит, диоскорея, работоспособность, фармакологическая коррекция.*

В настоящее время организм человека часто подвергается различным экстремальным нагрузкам (отдельным или сочетанию), которые могут снижать работоспособность и выносливость. Для поддержания эффективной деятельности человека требуется фармакологическая коррекция переносимости отдельных экстремальных воздействий. Она реализуется при помощи фармакологических средств различных классов (антиоксиданты, антигипоксанты, ноотропы, адаптогены и др.) [1]. Однако иногда данные средства недостаточно эффективны, так как происходит привыкание организма. В связи с этим целью исследования являлось изучение эффективности новых средств, обладающих протекторной активностью, и обоснование выбора их эффективной дозы при воздействии экстремальных факторов.

В качестве испытуемого объекта были выбраны экстракты культуры и ЛРС диоскореи. Лечебными свойствами обладают практически все виды семейства *Dioscoreaceae:* Диоскорея японская, Диоскорея супротивная, Диоскорея ниппонская, Диоскорея слоновая, Диоскорея мохнатая и др. Основными действующими веществами диоскореи являются сапонины, которые в большом количестве содержатся в корневищах данного растения. Среди фармакологических эффектов отмечают: активизация деятельность сердца и мозга, улучшение гемодинамики, снижение уровня холестерина, улучшение общего состояния, борьба с утомляемостью, нарушениями сна и повышенной раздражительностью.

Исследование проводилось на белых беспородных мышах-самках массой 18 – 22 г, полученных из питомника «Рапполово» (ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН) и прошедших адаптацию в течение не менее 5 дней. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях и Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях [2,3]. Животные содержались в прозрачных поликарбонатных клетках для грызунов с подстилом. Использовался «Полнорационный экструдированный комбикорм ЛБК-120 для лабораторных животных (крыс, мышей)», производства ЗАО «Тосненский комбикормовый завод», Россия при свободном доступе к водопроводной питьевой воде. В каждую группу экспериментальных животных было отобрано по 10 животных, которым испытуемые объекты вводились внутрижелудочно в виде растворов.

Для выбора эффективной дозы моделировали состояние гемической гипоксии с помощью внутрибрюшинного введения животным натрия нитрита в дозировке 300 мг/кг через 30 минут после однократного введения испытуемых объектов.

Результаты данного эксперимента представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Продолжительность жизни животных после моделирования гемической гипоксии (внутрибрюшинное введение натрия нитрита в дозировке 300 мг/кг через 30 минут после однократного введения испытуемых объектов) (M±SD)

Группа	Продолжительность жизни M±SD
Группа № 1 (экстракт ЛРС диоскореи 10 мг/кг)	798,4±161,7
Группа № 2 (экстракт ЛРС диоскореи 100 мг/кг)	824,4±135,5
Группа № 3 (экстракт культуры диоскореи 10 мг/кг)	716,1±156,3
Группа № 4 (экстракт культуры диоскореи 100 мг/кг)	803,4±101,2
Группа № 5 (контроль)	756,8±194,2

В качестве эффективной дозы была выбрана доза 100 мг/кг как у экстракта ЛРС так и у экстракта культуры.

Эффективность фармакологической коррекции испытуемых объектов в выбранной дозе оценивалась по динамике показателя физической работоспособности — времени плавания животных с грузом в 10% от массы тела в воде комфортной температуры (t°= 22-24°С) в условиях гипоксии [4] после курсового введения экстрактов в течение 5 дней. Умеренная интенсивность гипоксического воздействия обеспечивалась внутрибрюшинным введением меттемоглобинообразователя нитрита натрия в дозе 50 мг/кг [3]. Одной группе животных натрия нитрит вводился через 30 минут после

последнего введения испытуемых объектов, а другой – через сутки. В качестве контрольного плавания служило фоновое плавание животных до введения препаратов в аналогичных условиях.

Результаты оценки эффективности влияния испытуемых объектов на переносимость комплексного воздействия гипоксии и физической нагрузки представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Длительность вынужденного плавания животных при воздействии умеренной гемической гипоксии и физической нагрузки (с) после курсового введения испытуемых объектов в дозировке 100 мг/кг (M±SD)

Группа	M±SD (с) фоновая длительность	M±SD (с) после курсового введения
Группа № 1 (экстракт ЛРС диоскореи+$NaNO_2$ через 30 минут)	503,9±140,3	846,6±327,2*
Группа № 2 (экстракт ЛРС диоскореи+$NaNO_2$ через сутки)	448,9±139,5	444,4±310,4
Группа № 3 (экстракт культуры диоскореи+$NaNO_2$ через 30 минут)	427,3±135,0	901,2±430,2*
Группа № 4 (экстракт культуры диоскореи+$NaNO_2$ через сутки)	362,5±133,9	781,1±352,8*

* – статистически значимое отличие относительно фонового значения ($p \leq 0,05$)

В отношении всех количественных данных применялись методы описательной статистики: подсчитаны средние выборочные значения (M) и стандартные отклонения (SD) [5].

Межгрупповые различия анализировались непараметрическими методами для множественного сравнения – критерий Манна-Уитни. Различия определялись при 0,05 уровне значимости.

В ходе исследования было определено, что наиболее эффективной дозировкой экстрактов ЛРС и культуры диоскореи при воздействии гипоксии являлась доза 100 мг/кг. Эта доза была использована для курсового введения при оценке эффективности фармакологической коррекции комплексного влияния гипоксии и физической нагрузки. По результатам эксперимента было отмечено статистически значимое относительно фона увеличение времени плавания мышей после 5-дневного введения экстрактов ЛРС и культуры диоскореи при воздействии гипоксии через 30 минут после последнего введения (ЛРС и культура) и через сутки после последнего введения (культура).

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

Литература

1. Фармакологическая коррекция переносимости одновременного гипоксического и температурного воздействия на функциональное состояние организма / Е.Б. Шустов [и др.] // Биомедицина. 2021. Т. 17. N 1. С.57-69. https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-57-69

2. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientifi c Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.

3. Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств: метод. реком. МР21-44-2017. / Н.Н. Каркищенко [и др.]. М.: ФМБА России, 2017. 98 с.

4. Особенности интерпретации показателей физической работоспособности лабораторных животных по показателям плавательных тестов / В.Н. Каркищенко [и др.]. // Биомедицина. 2016. N 4. С. 34–46.

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012 . 944 с.

SUMMARY

THE USE OF EXTRACTS OF RAW MATERIALS OF THE GENUS DIOSCOREA UNDER EXTREME PHYSICAL EXERTION

Turavinina Z.A., 2nd year student of the Faculty of Pharmacy
Ivkina A.S., senior researcher at the CEF
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov, St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: zlata.turavinina@spcpu.ru

In the course of this study on laboratory animals, the most effective dosage of the tested extracts of the culture and medicinal plant raw materials (MPR) of Dioscorea was determined under conditions of hemic hypoxia, swimming in water of a comfortable temperature (t = 22-24 ° C) with a load of 10% of body weight animal, as well as an assessment of the functional state of laboratory animals in the test of forced swimming under hypoxic conditions after taking the test objects in the selected dose. It has been shown that the culture and MPS of Dioscorea are quite effective means of pharmacological correction of the tolerability of the complex effects of hypoxia and physical activity.

Keywords: *hypoxia, laboratory animals, sodium nitrite, dioscorea, working capacity, pharmacological correction.*

REFERENCES

1. Pharmacological correction of the tolerance of simultaneous hypoxic and temperature effects on the functional state of the body / E.B. Shustov [et al.] // Biomedicine. 2021. Vol. 17(1). P.57-69. https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-57-69 (in Russian)
2. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientifi c Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.
3. Biomedical (preclinical) study of the antihypoxic activity of drugs : method. Recom. MP21-44-2017. / N.N. Karkishchenko [et al.]. Moscow: FMBA of Russia, 2017. 98 p. (in Russian)
4. Features of the interpretation of indicators of physical performance of laboratory animals according to the indicators of swimming tests / V.N. Karkishchenko [et al.] // Biomedicine. 2016. Vol. 4. P. 34–46. (in Russian)
5. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. Moscow: Grif and K, 2012. 944 p. (in Russian)

УДК 61:615.272.3

ИЗУЧЕНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БЕМИТИЛА ФУМАРАТА И ЭТОМЕРЗОЛА ФУМАРАТА НА МОДЕЛИ ДЕКСАМЕТАЗОНОВОГО ДИАБЕТА

Усачева Д.В., студ. 5 курса
Руководитель: **Анисимова Н.А.**, канд. биол. наук, доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: usacheva.diana@pharminnotech.com

В ходе исследования была проведена оценка гипогликемической активности этомерзола фумарата и бемитила фумарата, являющихся синтетическими адаптогенами, в условиях экспериментальной патологии – дексаметазоновой модели сахарного диабета. Получены данные о гипогликемической активности исследуемых веществ в условиях их многократного введения, а также на фоне однократного введения дексаметазона.

Ключевые слова. *Этомерзола фумарат, бемитила фумарат, метформин, дексаметазоновая сахарный диабет, , пероральный глюкозотолерантный тест, адреналиновая гипергликемия, инсулин.*

Важное значение для доклинического исследования противодиабетических препаратов имеет их апробация в условиях патологии, поскольку моделирование сахарного диабета у животных позволяет достоверно выявить наличие фармакологической активности препаратов и уточнить механизм их действия. В доклинических исследованиях веществ с потенциальной противодиабетической активностью используется большое число экспериментальных моделей сахарного диабета, которые можно разделить на несколько групп: генетические модели, хирургические, химические, гормональные (эндокринные) и диет-индуцированные. К группе гормональных моделей относится модель дексаметазонового инсулиннезависимого сахарного диабета. Высокие дозы глюкокортикоидных препаратов нарушают секреторную функцию бета-клеток и приводят к развитию инсулинорезистентности [1, 2]. Объектами нашего исследования были бемитила фумарат и этомерзола фумарат, которые являются синтетическими адаптогенами, усиливающими пластический и энергетический обмен [3], а остаток фумаровой кислоты может корригировать явления митохондриальной дисфункции [4].

Цель. Изучение гипогликемической активности бемитила фумарата и этомерзола фумарата при многократном введении и на фоне дексаметазоновой модели сахарного диабета.

Материалы и методы. Опыт проводился на 59 крысах-самках массой 200-300 г в двух отдельных сериях. В первой серии эксперимента 35 животных были разбиты на 4 группы, и в течение двух недель им вводили перорально испытуемые вещества в дозе 25 мг/кг или метформин в дозе 300 мг/кг как препарат сравнения, контрольная группа получала физиологический раствор в том же объеме. Установление гипогликемической осуществлялось с помощью адреналиновой гипергликемии, ПГТТ и инсулинового теста толерантности. Затем всем группам животных вводили в течение двух недель дексаметазон в дозе 0,125 мг/кг п/к и повторно проводили инсулиновый тест толерантности и ПГТТ.

Адреналиновая гипергликемии моделировалось введением адреналина в дозе 1 мг/кг подкожно. Определяли исходный уровень глюкозы в крови и через 1, 2 ,3 часа после введения адреналина [5].

В опыте ПГТТ измерение уровня глюкозы проводилось натощак, через 30, 60, 90, 120 и 150 минут после внутрижелудочного введения глюкозы в дозе 3 г/кг [5].

В инсулиновом тесте толерантности инсулин вводили внутрибрюшинно в дозе 1 ЕД/кг, уровень глюкозы в крови определяли натощак, а также через 30 минут, 1, 2 и 3 часа после введения инсулина. Достоверными считались результаты с $p < 0,05$ [5].

Во второй серии эксперимента оставшиеся 24 крысы разделили на аналогичные группы и ввели однократно дексаметазон в дозе 0,8 мг/кг, а затем через 1 час ввели испытуемые вещества в дозе 25 мг/кг или метформин (300 мг/кг), контрольной группе – физиологический раствор в том же объеме. Проводилось измерение исходного уровня глюкозы, через 1 час после введения дексаметазона, а также через 1, 2 и 3 часа после введения веществ.

Статистическая обработка данных проводилась в электронном виде при помощи программного обеспечения Microsoft Excel 2010. Достоверность различий опытных групп по отношению к контролю оценивалась методом однофакторного дисперсионного анализа по критерию p. Достоверными считались результаты с $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В условиях адреналиновой гипергликемии после многократного введения исследуемых веществ в дозе 25 мг/кг фумараты продемонстрировали сравнимую гипогликемическую активность: через 3 часа после начала эксперимента на фоне этомерзола фумарата уровень глюкозы в крови составил 129% относительно исходных данных, у бемитила фумарат – 135 %, а в контрольной группе – 168% (таблица 1).

Таблица 1 – Уровень глюкозы в крови (ммоль/л) в условиях адреналиновой гипергликемии после многократного введения веществ в дозе 25 мг/кг

Группа животных	Концентрация глюкозы в крови (ммоль/л)			
	Исходное	После введения адреналина		
		через 1 час	через 2 часа	Через3 часа
Контроль	4,4±0,52	11,7±1,85*	12,0±1,66	11,8±0,72*
Метформин (300 мг/кг)	4,2±0,49	7,2±1,65*	8,6±2,40*	6,9±1,07*
Этомерзолфумарат (25мг/кг)	4,4±0,42	10,1±1,71*	11,0±1,08*	10,1±0,53*
Беметилфумарат (25мг/кг)	4,1±0,2	10,4±1,54*	10,6±1,43*	9,7±0,44*

*значение p в сравнении с контрольной группой (p<0,01)

В опыте с инсулином после многократного введения веществ в дозе 25 мг/кг этомерзола фумарат и бемитила фумарат усиливали гипогликемическое действие инсулина. Наибольшую активность исследуемые вещества показали через 2 часа после введения инсулина: гликемия в контрольной группе, группе метформина, этомерзола фумарата, бемитила фумарата составила 74±8,9%, 61±29,62%, 50±14,57% и 56±12,73% от исходного уровня (таблица 2). Наиболее сильно потенцировал действие гормона этомерзола фумарат, снизив концентрацию глюкозы в крови на 24% по сравнению с контрольной группой. Для бемитила фумарата данный показатель составляет 18%. Через 3 часа после начала эксперимента этомерзола фумарат и бемитила фумарат снизили уровень глюкозы на 22% и 7% соответственно.

Таблица 2 – Уровень глюкозы в крови (ммоль/л) в инсулиновом тесте толерантности после многократного введения веществ в дозе 25 мг/кг

Группа животных	Концентрация глюкозы в крови (ммоль/л)				
	Исходное	через 30 мин.	через 1 час	через 2 часа	Через 3 часа
Контроль	4.7±0,27	2.4±0,39*	3,3±0,87*	3,5 ±0,51*	3,8±0,37*
Метформин (300 мг/кг)	4,1±0,56	3,1±0,53*	2,2±0,58*	2,5±1,6*	2,0±1,04*
Этамерзолфумарат (25 мг/кг)	4,0±0,38	2,6±0,46*	2,1±0,33*	2,0±0,62*	2,3±0,65*
Бемитилфумарат (25 мг/кг)	4,1±0,46	2,8±0,63*	2,6±0,46*	2,3±0,53*	3,0±0,55*

*значение p в сравнении с контрольной группой (p<0,001)

В ПГТТ исследуемые вещества показали сопоставимый эффект, который активно проявился через полчаса и сохранятся на протяжении 120 минут после начала эксперимента. Через 30 минут гипергликемия в контрольной группе составила 113±48,83%,в группах этомерзола фумарата и бемитила фумарата 64,0±21,18%, 61±23,63% соответственно. По сравнению с исходным уровень глюкозы в контрольной группе, группе этомерзола фумарата и бемитила фумарата через 2 часа составил 46,0±21,18%, 33±19,63% и 31±17,63% соответственно (рис. 1).

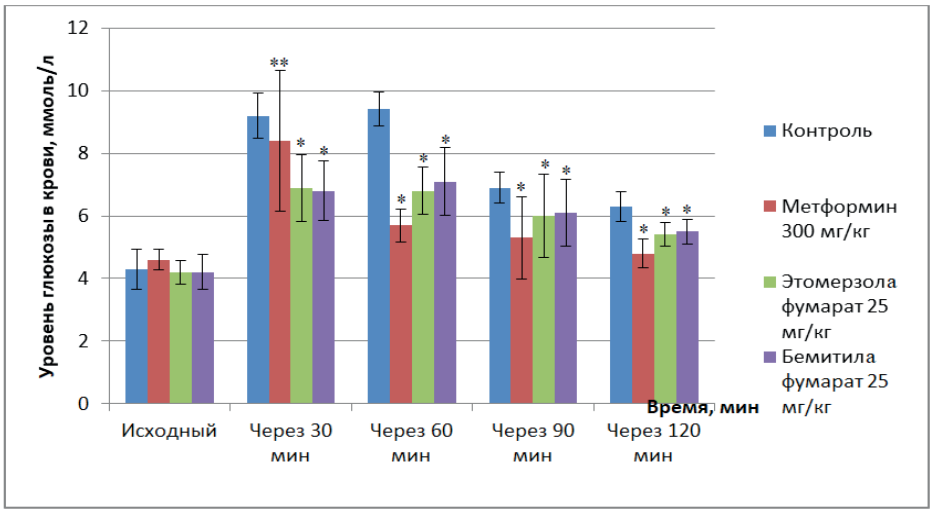


Рисунок 1. Изменение гликемии (моль/л) в ПГТТ на фоне многократного введения веществ (*p<0,01, **p<0,05 по сравнению с контрольной группой)

В проведенных экспериментах препарат сравнения оказывал более выраженное действие.

В условиях экспериментального сахарного диабета наблюдалась умеренная базальная гипергликемия, на фоне которой исследовали действие анализаторов. Использовали ПГТТ, который свидетельствует о действии эндогенного инсулина и введение экзогенного инсулина. Этомерзола фумарат и бемитила фумарат в условиях ПГТТ продемонстрировали одинаково выраженное лечебное действие, которое было максимально через 150 мин после начала эксперимента (рис. 2). Уровень глюкозы в крови животных контрольной группы составил 50,9±19,8%, этомерзола фумарата 24,1±7,2%, бемитила фумарата 22,2±6,9% от исходного уровня. По сравнению с контролем гипергликемия на фоне испытуемых веществ снизилась на 26,8% и 27,9%.

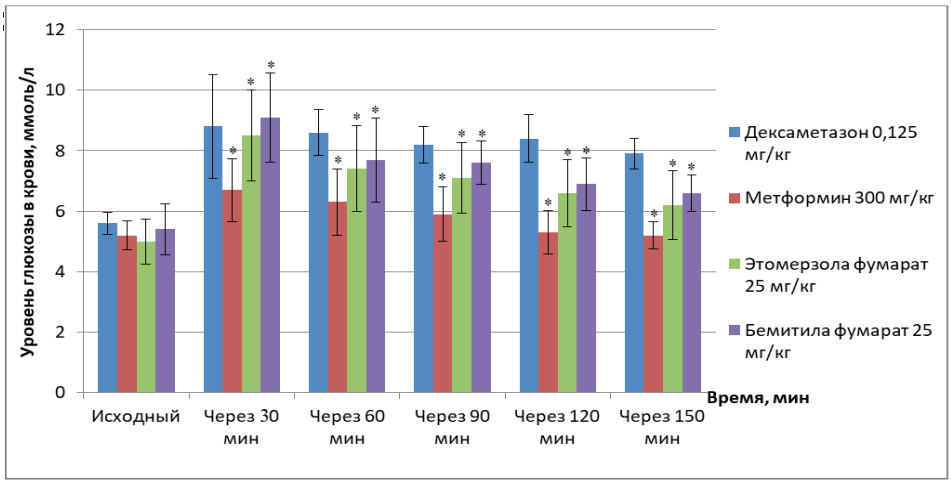


Рисунок 2. Уровень глюкозы в крови (ммоль/л) в ходе ПГТТ на фоне дексаметазоновой модели сахарного диабета (*p<0,01 по сравнению с контрольной группой)

В инсулиновом тесте толерантности испытуемые вещества потенцировали гипогликемическое действие гормона. Через 1 час после начала эксперимента уровень глюкозы в контрольной группе, группах метформина, этомерзола фумарата и бемитила фумарата по сравнению с исходным уровнем составил 53,8±8,2%, 45,2±12,5% 44,7±9,2% и 50,0±7,9% соответственно (рис. 3). В этой серии эксперимента этомерзола фумарат продемонстрировал большую активность, чем бемитила фумарат: через 2 часа, он снизил уровень глюкозы на 61,7±10,1%, что сопоставимо с эффектом метформина (59,6±9,3%). В данной серии экспериментов исследуемые вещества показали умеренный гипогликемический эффект на фоне дексаметазоновой модели сахарного диабета II типа.

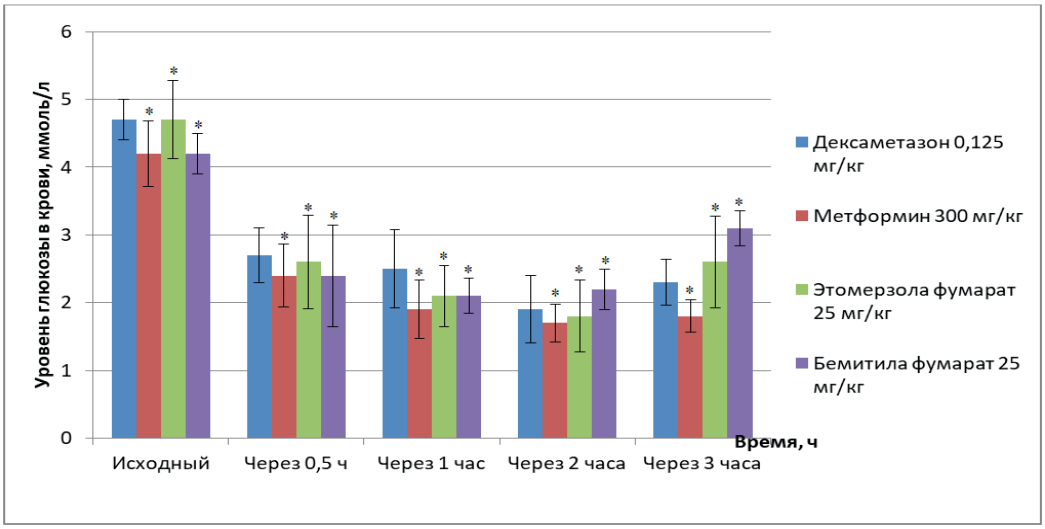


Рисунок 3. Уровень глюкозы в крови (ммоль/л) в инсулиновом тесте толерантности на фоне дексаметазоновой модели сахарного диабета (*p<0,001 по сравнению с контрольной группой)

В опыте с однократным введением дексаметазона исследуемые вещества показали одинаково выраженное гипогликемическое действие, которое наиболее было выражено через 3 часа после введения исследуемых веществ: уровень глюкозы в крови в контрольной группе, группе метформина, этомерзола фумарата и бемитила фумарата составляет 40,1±7,54%, 21,4±7,55%, 24,6±11,04% и 27,1±5,07% соответственно (p<0,05). При однократном введении дексаметазона гипогликемическая активность испытуемых веществ сопоставима с метформином (рис. 4).

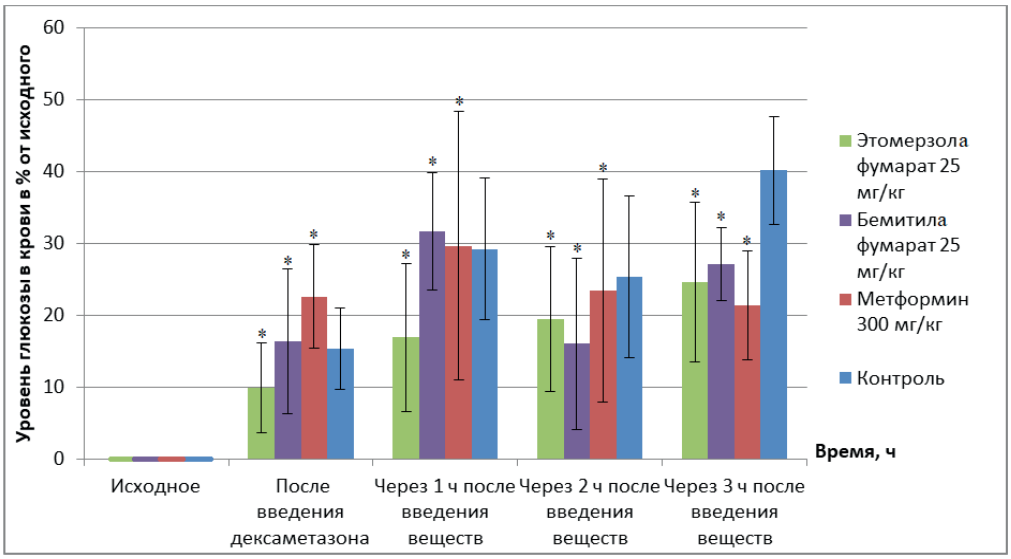


Рисунок 4. Изменение гликемии (%) на фоне однократного введения дексаметазона (*p<0,05 по сравнению с контрольной группой)

Механизм действия дексаметазона реализован за счет прямого влияния на экспрессию транспортеров глюкозы GLUT1 и GLUT4, что приводит к инсулинорезистентности, снижению утилизации глюкозы адипоцитами. Снижение секреторной активности бета-клеток поджелудочной железы, вероятно, связано с инактивацией митохондриальной ФАД-глицерофосфатдегидрогеназы как ключевого фермента в индуцированной глюкозой секреции инсулина. В исследованиях V.G. Selyatitskaya et al., было показано, что степень инсулинорезистентности при однократной инъекции или введении в течение 15-23 дней напрямую зависит от продолжительности лечения глюкокортикоидами [6].

Адреналин через бета$_2$–адренорецепторы вызывает усиление цАМФ-зависимых гликогенолиза и глюконеогенеза в печени и гликогенолиза в скелетных мышцах; угнетается активность гликогенсинтазы. ПГТТ позволяет определить нарушение толерантности к глюкозе [5].

На основании проведенных экспериментов можно предположить, что частично гипогликемический эффект испытуемых веществ связан с влиянием на гликоген тканей. Однако основное противодиабетическое действие бемитила фумарата и этомерзола фумарата, на наш взгляд, опосредовано улучшением толерантности к углеводам.

Заключение. В проведенных экспериментах установлено наличие значительной гипогликемической активности у бемитила фумарата и этомерзола фумарата. При многократном введении веществ, после инъекции адреналина гипергликемия на фоне фумаратов была на 30% ниже, чем в контроле. Изучаемые вещества усиливали гипогликемию инсулина на 20-25%, а в условиях ПГТТ гипергликемия через 30 минут после введения испытуемых веществ была на 50% ниже, чем в контроле. На фоне однократной инъекции дексаметазона фумараты понижали концентрацию глюкозы в крови на 15-17% по сравнению с контролем. На дексаметазоновой модели сахарного диабета в условиях ПГТТ гипергликемия на фоне испытуемых веществ снизилась более чем на 25% по сравнению с контролем. Изучаемые соединения усиливали действие инсулина в этих экспериментах, но эффект был слабее чем при отсутствии дексаметазона. Бемитила фумарат и этомерзола фумарат проявляли эффект, сравнимый с метформином, но в большинстве случаев уступали ему по активности. На основе полученных результатов можно предположить, что механизм действия исследуемых веществ связан с улучшением толерантности к глюкозе и определенным влиянием на гликоген.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.00 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Моделирование сахарного диабета 2 типа для изучения лекарственных средств с антидиабетической активностью / Г.Н. Чуканова [и др.] // Наука и здравоохранение. 2014. N 4.

2. Islam M.S., Wilson R.D. Experimentally induced rodent models of type 2 diabetes // Methods Mol Biol. 2012. P.161-174.

3. Оковитый С.В. Актопротекторы как синтетические адаптогены нового поколения // Психофармакология и биологическая наркология. 2003. Т. 3. N 1-2. С. 510-516.

4. Приходько В.А., Селизарова Н.О., Оковитый С.В. Молекулярные механизмы развития гипоксии и адаптации к ней. Часть I // Архив патологии. 2021. Т. 83. N 2. С. 52-61. DOI 10.17116/patol20218302152.

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов [и др.] М.: Гриф и К, 2012. 944 с.

6. Selyatitskaya V.G., Kuz'minova O.I., Odintsov S.V. Development of Insulin Resistance in Experimental Animals during Long-Term Glucocorticoid Treatment // Translated from Byulleten Eksperimentalnoi Biologii I Meditiny. 2002. Vol.133. N 4. P. 394-396.

SUMMARY

STUDY OF HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF BEMITIL FUMARATE AND ETOMERSOL FUMARATE IN THE DEXAMETHASONE DIABETES MODEL

Usacheva D.V., 5th year student
Academic advise: **Anisimova N.A.**, Candidate of biological sciences, docent
St.Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St.Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: usacheva.diana@pharminnotech.com

In the course of the study, the hypoglycemic activity of etomerzol fumarate and bemityl fumarate, which are synthetic adaptogens, was evaluated in experimental pathology – dexamethasone model of non-insulin dependent diabetes mellitus. Data were obtained on the hypoglycemic activity of the studied substances under conditions of their repeated administration, as well as against the background of a single administration of dexamethasone.

Keywords: *etomerzol fumarate, bemityl fumarate, metformin, experimental pathology, dexamethasone model of diabetes mellitus, epinephrine hyperglycemia, oral glucose tolerance test, insulin.*

REFERENCES

1. Modeling type 2 diabetes mellitus for the study of drugs with antidiabetic activity / G. N. Chukanova [et al.] // Science and Health. 2014. N 4. (In Russian)
2. Islam M.S., Wilson R.D. Experimentally induced rodent models of type 2 diabetes // Methods Mol Biol. 2012. P. 161-174.
3. Okovity S.V. Actoprotectors as synthetic adaptogens of a new generation // Psychopharmacology and biological narcology. 2003. Vol. 3(1-2). P. 510-516. (In Russian)
4. Prikhodko V.A., Selizarova N.O., Okovity S.V. Molecular mechanisms of development of hypoxia and adaptation to it. Part I // Archive of Pathology. 2021. Vol. 83(2). P. 52-61. DOI 10.17116/patol20218302152. (In Russian)
5. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs / A.N. Mironov [et al.] Moscow: Grif i K. 2012, 944 p. (In Russian)
6. Selyatitskaya V.G., Kuz'minova O.I., Odintsov S.V. Development of Insulin Resistance in Experimental Animals during Long-Term Glucocorticoid Treatment //
7. Translated from Byulleten Eksperimentalnoi Biologii I Meditiny. 2002. Vol.133(4). P.394-396.

УДК 61:615.322

СУБСТАНЦИЯ НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ТЕРАПИИ СЕБОРЕЙНОГО ДЕРМАТИТА: РАЗРАБОТКА И ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ

Филатов В.А., аспирант 1 года обучения (IstinaResearcherID (IRID): 411077716, ORCID: 0000-0001-7179-8062)
Научные руководители: **Каленикова Е.И.**, доктор фарм. наук, зав. кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела, (IstinaResearcherID (IRID): 840098, ResearcherID: R-3026-2016);
Куляк О.Ю., канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела, (IstinaResearcherID (IRID): 10555215)
Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова
119192, Москва, ул. Ломоносовский проспект, д. 27, к.1, Российская Федерация
E-mail: filatovviktor097@gmail.com

В результате проведенного исследования были получены данные об антимикробном действии разработанная композиции на основе биологически активных веществ в отношении микроорганизмов, ответственных за патогенез себорейного дерматита. Косвенно была установлена роль 1,8-цинеола (эвкалиптола) как усилителя проникновения биологически активных веществ в клетки микроорганизмов. Были получены данные о значительном снижении MIC и индексе синергизма FICI $\leq$0.5 при объединении веществ в одну субстанцию. Полученная композиция обладает повышенной антимикробной активностью и представляет интерес для дальнейшего изучения.

Ключевые слова*: фитокомпоненты, терпены, антибактериальная активность, синергизм, микрофлора, себорейный дерматит.*

Болезни кожи головы и волос, несмотря на постоянно совершенствующиеся методы их диагностики и лечения, остаются широко распространенными среди населения Российской Федерации. Они в значительной мере влияют на качество жизни людей, социальные аспекты, а также могут являться причиной развития других дерматологических заболеваний. По оценкам специалистов, себорейный дерматит (СД) распространен более чем в 50% популяции и встречается у 42% новорожденных детей в первые три месяца жизни [1]. Нозология включена в МКБ под шифром L21 [2], является самым распространенным дерматологическим заболеванием кожи головы в мире. Новая национальная стратегия развития фармацевтического рынка «Фарма 2030» на ближайшие десять лет предусматривает разработку и вывод на рынок

новых лекарственных препаратов (ЛП), обеспечение полного цикла производства лекарственных средств (ЛС) внутри страны в рамках социально ориентированного подхода. Основной акцент в рамках стратегии будет сделан на поддержку собственных разработок и последующий выпуск инновационных продуктов.

Изучение патогенеза перхоти и СД привели к новым подходам в терапии заболеваний кожи головы. Основной группой средств для профилактики и лечения себорейного дерматита кожи головы являются синтетические антимикробные субстанции, однако их регулярное и длительное использование нарушает биоразнообразие микрофлоры кожи головы, определяет последующую резистентность микроорганизмов и имеет неустановленные дерматологические последствия. В настоящее время ведется поиск новых активных субстанций растительного происхождения, с целью расширения номенклатуры лекарственных средств для профилактики и лечения себорейного дерматита. Одной из перспективных групп веществ являются биологически активные вещества из лекарственного растительного сырья (ЛРС).

Целью данного исследования является разработка субстанции на основе биологически активных веществ с антимикробным действием для профилактики и терапии себорейного дерматита.

Задачами данного исследования являлись:

1. Обоснование выбора биологически активных веществ субстанции на основании литературных данных и последних достижений в терапии себорейного дерматита;

2. Оценка антимикробной активности разработанной субстанции в экспериментах in vitro с использованием стандартных штаммов микроорганизмов *S. aureus*, *S. epidermidis*, *C. albicans*.

В качестве методов исследования были использованы метод определения чувствительности стандартных штаммов микроорганизмов к антибактериальным препаратам [3] и метод шахматной доски для определения синергизма и аддитивного действия субстанций [4], а также методы статистической обработки данных.

Объектом исследования стали биологически активные вещества субстанции, а именно эфирное масло листьев *M. alternifolia*, 1,8-цинеол (эвкалиптол) и (-)-α-бисаболол.

Проведен поиск и сделан подбор отечественной и зарубежной общедоступной литературы для выбора перспективных компонентов в составе активной субстанции для терапии себорейного дерматита: эфирное масло листьев *M. alternifolia*, 1,8-цинеол и (-)-α-бисаболол. Данные вещества являются природными субстанциями с антимикробным, противогрибковым и противовоспалительным действиями. С точки зрения химической структуры, выбранные биологически активные вещества (БАВ) являются производными терпенов и имеют различия в боковых заместителях и количестве циклов. Биологическая активность обусловлена их высокой липофильностью, что обеспечивает изменение структуры клеточных мембран бактерий и грибов с последующим лизисом.

Микробиота имеет важную роль в обеспечении здорового состояния кожи и поддержания постоянства микробного состава, способствующего защите от возникновения себорейного дерматита. Длительное время считалось, что липофильные дрожжеподобные грибы Malassezia spp. являются основной причиной себорейного дерматита, однако были сделаны открытия, раскрывающие роль комменсальных бактерий *S. epidermidis* и *S. aureus* в развитие себорейного дерматита [5]. Увеличение представленности *S. epidermidis* свидетельствует о развитии воспалительной реакции с вовлечением иммунных клеток. Так, соединения были первично протестированы на стандартных штаммах *S. aureus* ATCC 29213 и *S. epidermidis* ATCC 14990 по методике, описанной в [3]. Установлена различная антимикробная активность индивидуальных соединений со значением MIC от 1.25 до 40.00 мг/мл по сравнению с контролем бензалкония хлоридом.

Таблица – Минимальная ингибирующая концентрация индивидуальных соединений

Микроорганизм	MIC, мг/мл			
	Эфирное масло *M. alternifolia*	1,8-цинеол	(-)-α-Бисаболол	Бензалкония хлорид
S. aureus ATCC 29213	40.00	40.00	5.00	4.00
S. epidermidis ATCC 14990	1.25	2.50	1.25	4.00

При правильной комбинации двух и более веществ возможен синергизм (суммарное действие в одном направлении) или потенцирование (значительное повышение химиотерапевтического эффекта). Для оценки возможности сочетанного применения антимикробных агентов обычно используют метод шахматной доски [4]. В качестве парных комбинаций использовали эфирное масло M. alternifolia и 1,8-цинеол, эфирное масло M. alternifolia и (-)-α-бисаболол, 1,8-цинеол и (-)-α-бисаболол. Эксперименты были проведены трижды (n=3) для статистической обработки данных. Все комбинации биологически активных веществ продемонстрировали ингибирование роста выбранных штаммов микроорганизмов. Для каждой комбинации был определен индекс фракционной ингибирующей концентрации (FICI), который рассчитывался следующим образом:

$$\text{иФИК}_{А/Б} = \frac{\text{МПК}_{[А]\text{ в комбинации с }[Б]}}{\text{МПК}_{[А]}} + \frac{\text{МПК}_{[Б]\text{ в комбинации с }[А]}}{\text{МПК}_{[Б]}}$$

Интерпретацию полученных значений FICI проводят согласно [4]: синергия, $FICI \leq 0.5$; аддитивный эффект, $0.5 < FICI > 4.0$; и антагонизм, $FICI \geq 4.0$. FICI представлен в виде Mean ± SD.

Был показан аддитивный эффект для комбинации (-)-α-бисаболола и эфирного масла *M. alternifolia* в отношении всех выбранных штаммов, FICI составил 1.025±0.013 для *S. aureus* и 1.313±0.725 для *S. epidermidis*. Комбинация (-)-α-бисаболола и 1,8-цинеола также продемонстрировала аддитивный эффект, FICI составил 1.500±0.001 для *S. epidermidis*. Наиболее яв-

ный синергизм был обнаружен для комбинации 1,8-цинеола и эфирного масла *M. alternifolia* в отношении обоих микроорганизмов, FICI составил от 0,281 до 0,750. 1,8-цинеол (эвкалиптол) является усилителем проникновения эфирного масла *M. alternifolia* в клетки микроорганизмов. Комбинация данных веществ в одну субстанцию позволяет добиться значительного снижения MIC и индекса синергизма FICI ≤0.5.

Согласно полученным данным, можно сделать вывод, что полученная композиция на основе биологически активных веществ обладает повышенной антимикробной активностью в отношении микроорганизмов, ответственных в патогенезе себорейного дерматита, и представляет интерес для дальнейшего изучения. Несмотря на наличие известных фармацевтических субстанций синтетического происхождения, актуальность разработки субстанций растительного происхождения для лечения заболеваний кожи головы и волос неизменна. Необходимы дальнейшие исследования для установления оптимального соотношения компонентов композиции, сохранения антимикробного действия и стабильности в жидких лекарственных формах для наружного применения.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.03.43 Медицинская микробиология
76.29.57 Дерматология и венерология
76.31.00 Фармакология
31.27.51 Биохимические проблемы фармакологии и химиотерапии
31.27.22 Антимикробные агенты
34.27.00 Микробиология

ЛИТЕРАТУРА

1. Borda L.J., Wikramanayake T.C. Seborrheic Dermatitis and Dandruff: A Comprehensive Review // J. Clin. Investig. Dermatol. 2015. Vol. 3(2). https://doi.org/10.13188/2373-1044.1000019.

2. Дерматит себорейный. Клинические рекомендации: утв. Российским обществом дерматовенерологов и косметологов на XVI Всероссийском Съезде дерматовенерологов и косметологов 16.06.2016. [Электронный ресурс]. URL: https://medi.ru/klinicheskie-rekomendatsii/dermatit-seborejnyj_13921/. (Дата обращения: 06.03.2022).

3. Antimicrobial effects of sulfonyl derivative of 2(5H)-furanone against planktonic and biofilm associated methicillin-resistant and -susceptible Staphylococcus aureus / I.S. Sharafutdinov [et al.] // Front. Microbiol. 2017. Vol. 8. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02246.

4. Den Hollander J.G., Mouton J.W., Verbrugh H.A. Use of pharmacodynamic parameters to predict efficacy of combination therapy by using fractional inhibitory concentration kinetics // Antimicrob. Agents Chemother. 1998. Vol. 42. https://doi.org/10.1128/aac.42.4.744.

5. Comparison of Healthy and Dandruff Scalp Microbiome Reveals the Role of Commensals in Scalp Health / R. Saxena [et al.] // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2018. Vol. 8. P. 346.

SUMMARY

THE PHARMACEUTICAL SUBCTANCE BASED ON BIOLOGICAL ACTIVE INGREDIENTS FOR TREATMENT OF SEBORRHEIC DERMATITIS: DEVELOPMENT AND INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Filatov V.A., 1nd year post-graduate student (IstinaResearcherID (IRID): 411077716, ORCID: 0000-0001-7179-8062)
Academic advise: **Kalenikova E.I.**, Doctor of Pharmacy, chairholder of pharmaceutical chemistry, pharmacognosy and organization of pharmaceutical business (IstinaResearcherID (IRID): 840098, ResearcherID: R-3026-2016);
Kulyak O.Yu., Candidate of Pharmaceutical Sciences, senior lecturer (IstinaResearcherID (IRID): 10555215)
Lomonosov Moscow State University
27/1, Lomonosovsky Avenue, Moscow, 119192, Russian Federation
E-mail: filatovviktor097@gmail.com

As a result of the study, data of antimicrobial activity for developed pharmaceutical substance based on biological active ingredients were obtained. Biological active ingredients were chosen against microorganisms that are involving in pathogenesis of seborrheic dermatitis. The role of 1,8-cineole (eucalyptol) as enhancer for penetration through membrane was defined indirectly. Data of significant reduction of MIC and synergism index FICI≤0.5 when combining substance was obtained. Developed pharmaceutical substance has improved antimicrobial activity and has an interest for further study.

Keywords: *phytoconstituents, terpenes, antibacterial activity, synergism, microflora, seborrheic dermatitis.*

REFERENCES

1. Borda L.J., Wikramanayake T.C. Seborrheic Dermatitis and Dandruff: A Comprehensive Review // J. Clin. Investig. Dermatol. 2015. Vol.3. https://doi.org/10.13188/2373-1044.1000019.

2. Seborrheic Dermatitis. Clinical recommendations: approved by Russian Dermatology Society in XVI All-Russian Congress of Dermatologists and Cosmetologists 16.06.2016. [Internet]. URL: https://medi.ru/klinicheskie-rekomendatsii/dermatit-seborejnyj_13921/. (Accessed: 06.03.2022). (In Russian)

3. Antimicrobial effects of sulfonyl derivative of 2(5H)-furanone against planktonic and biofilm associated methicillin-resistant and -susceptible Staphylococcus aureus / I.S. Sharafutdinov [et al.] // Front. Microbiol. 2017. Vol. 8. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02246.

4. Den Hollander J.G., Mouton J.W., Verbrugh H.A. Use of pharmacodynamic parameters to predict efficacy of combination therapy by using fractional inhibitory concentration kinetics // Antimicrob. Agents Chemother. 1998. Vol. 42. https://doi.org/10.1128/aac.42.4.744.

5. Comparison of Healthy and Dandruff Scalp Microbiome Reveals the Role of Commensals in Scalp Health / R. Saxena [et al.] // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2018. Vol. 8. P. 346.

УДК 615.252

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА С ИНКРЕТИНОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПРИ МОДУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ ОКСИДА АЗОТА (II)

Фомичев Е.А., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ
Пустынников В.Э., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ
Андриашвили Т.М., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ
Соколова А.А., студ. 4 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ
Научный руководитель: **Куркин Д.В.**,
профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии, д.фарм.н
Волгоградский государственный медицинский университет
400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1, Российская Федерация
E-mail: FomichevVSMU@gmail.com

Препараты с инкретиновой активностью являются перспективной группой гипогликемических препаратов. При этом эффективность некоторых инкретиномиметиков является недостаточной (ингибиторы ДПП-4), а другие обладают значительной стоимостью. В данной работе была исследована возможность повышения терапевтической активности лираглутида посредством модуляции NO-ергической системы на модели сахарного диабета второго типа у крыс, который моделировали посредством инъекции стрептозотоцина с никотинамидом. Уровень гликемии определяли с использованием глюкометра, кровь в объеме 10 мкл забирали из хвостовой вены. Выраженность нарушений углеводного обмена оценивали при проведении перорального теста на толерантность к глюкозе. В ходе исследования было выявлено, что эффективность лираглутида при курсовом введении повышалась при его сочетанном применении с аминогуанидином. Дальнейшие исследования подходов к модуляции активности NO-ергической системы с целью повышения противодиабетической активности инкретиномиметиков являются целесообразными для разработки новых эффективных стратегий лечения сахарного диабета и его последствий.

Ключевые слова: *сахарный диабет, инкритиномиметики, лираглутид, NO-ергическая система.*

На сегодняшний день число случаев возникновения сахарного диабета 2 типа (СД2) необратимо повышается. По информации, представленной ВОЗ, количество людей с диабетом в мире с 1980 года возрасло более чем в четыре раза. Увеличивающаяся заболеваемость и возникающие осложнения, влекут за собой значимые медико-социальные последствия, проявляющиеся в виде более ранней смертности и ограниченности жизненных функций населения. СД2 является значительным социальным заболеванием, борьба с которым регулируется на уровне государства.

Среди известных на сегодняшний день лекарственных препаратов средства, влияющие на инкретиновую систему, представляют собой одну из фармакотерапевтических групп для наиболее безопасной и эффективной терапии СД2. Вместе с гипогликемическим эффектом, проявляющемся в увеличении секреции инсулина, инкретины также оказывают протекторное действие, уменьшая апоптоз и увеличивая регенерацию клеток поджелудочной железы [1,2].

Несмотря на существенную эффективность и безопасность инкретиномиметиков их применение существенно ограничено в связи с большой стоимостью и парентеральной формой выпуска лекарственных препаратов.

Известный факт, что система оксида азота и нарушения в её работе являются звеном патогенеза и этиологии многих заболеваний, в число которых входит и СД2. Также NO-ергическая система относится к основным регуляторам реализации противодиабетического действия инкретиномиметиков. В научной литературе описали воздействие системы инкретинов на составляющие компоненты NO-ергической системы [3,4], что позволяет нам предположить возможное повышение эффективности инкретиномиметиков при помощи модуляции секреции оксида азота. Данный модход может удешевить терапию инкретиномиметиками посредством снижения их дозы или применением более дешевых, но уступающих в эффективности препаратов, например – ситаглиптин.

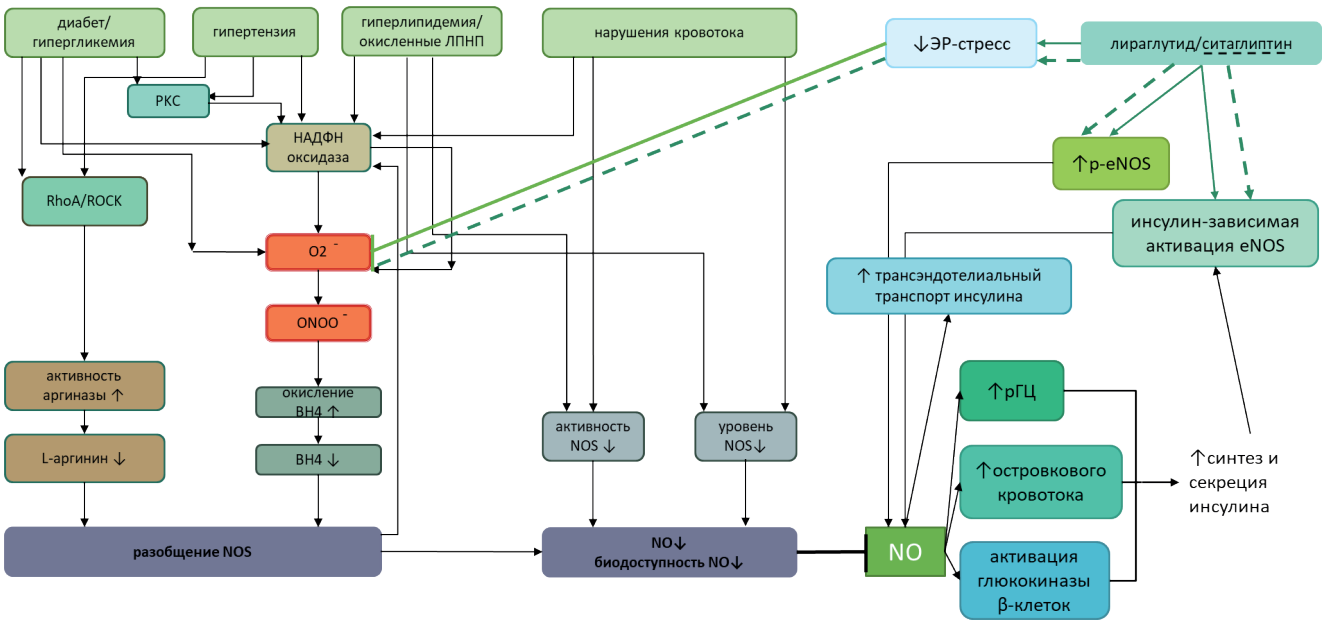


Рисунок 1. Участие NO -ергической системы в патогенезе сахарного диабета

Цель. Оценить влияние модуляции системы оксида азота на эффективность противодиабетического действия лираглутида.

Задачи

Оценить влияние модуляции системы оксида азота на способность лираглутида снижать уровень тощаковой гликемии.

Оценить влияние модуляции системы оксида азота на способность лираглутида улучшать скорость утилизации глюкозы.

Материалы и методы. Исследование выполнено на крысах-самцах линии Вистар. Животные распределяли на равноценные по уровню гликемии группы. Лираглутид вводился в дозе 0,2 мг/кг (в течение 5 дней). Модификаторы NO-ергической системы (NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), 7-нитроиндазол, аминогуанидин, L-аргинин, кальция добезилат) вводились курсом в течение 5 дней.

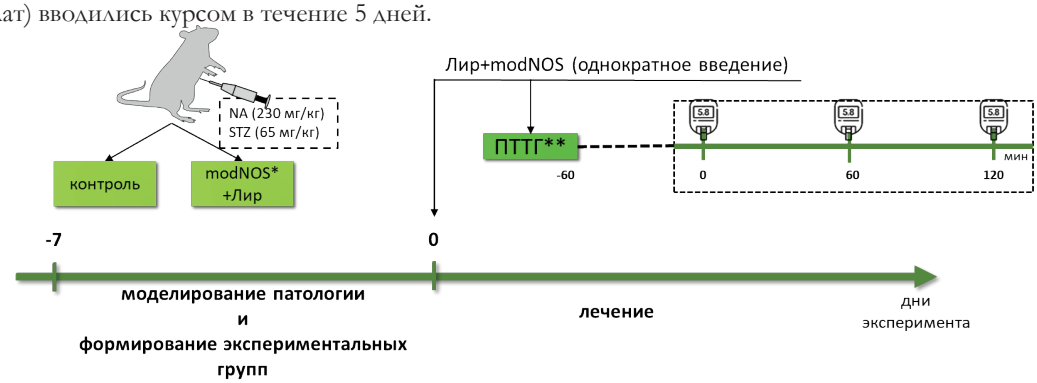


Рисунок 2. Дизайн исследования

Примечания: * modNOS – модулятор синтаз оксида азота, **ПТТГ – пероральный тест толерантности к глюкозе

Сахарный диабет моделировался введением стрептозотоцина (65 мг/кг) и никотинамида (230 мг/кг). Скорость утилизации глюкозы определяли проведением перорального теста толерантности к глюкозе (ПТТГ) [5,6].

Результаты и обсуждение. Было обнаружено, что однократное введение аминогуанидина и кальция добезилата и курсовое введение L-NAME в комбинации с лираглутидом животным с экспериментальным СД2 приводило к более выраженному улучшению углеводного обмена (снижение площади под кривой «концентрация глюкозы-время») по сравнению с теми, которым вводили только лираглутид.

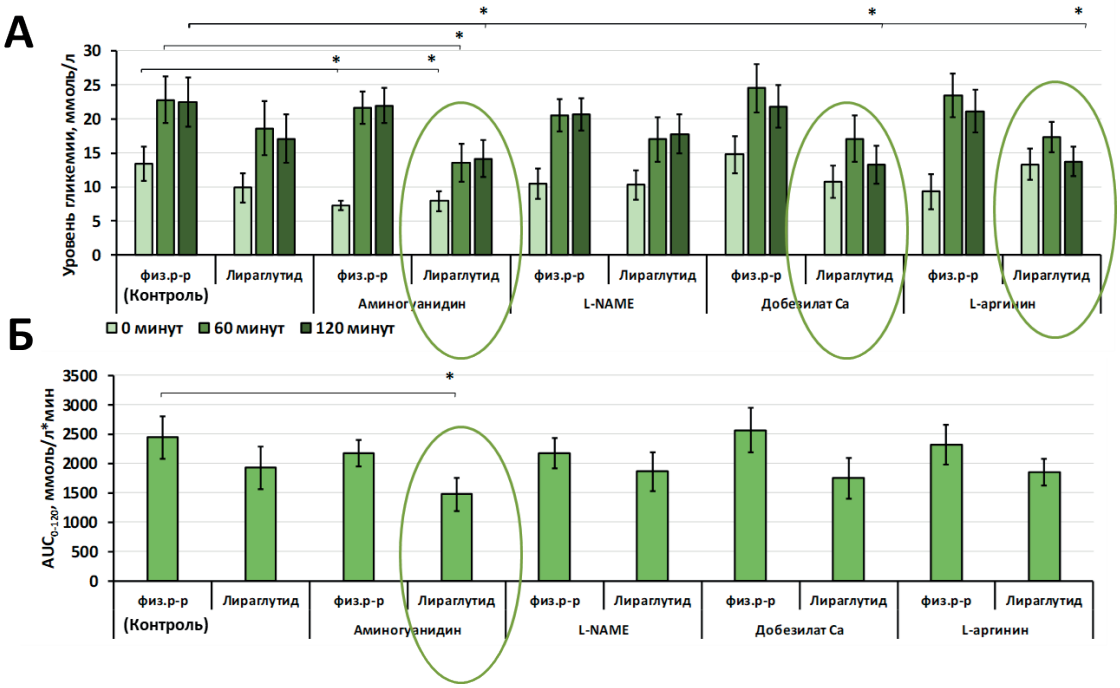


Рисунок 3. Уровень глюкозы при проведении ПТТГ (А) площадь под кривой «уровень глюкозы-время» (Б)
Примечание: * – различия достоверны относительно группы «Контроль» при р <0,05

Таким образом. лираглутид оказывает выраженное гипогликемическое действие, которое, при этом можно усилить применением препаратов-модификатором NO.

Выводы. Эффективность лираглутида повышалась при его сочетанном с аминогуанидином при курсовом введении, что может стать перспективным подходом в оптимизации фармакотерапии СД2.

Благодарности. Работа поддержана РНФ (проект №20-75-10013).

ЛИТЕРАТУРА

1. Система инкретинов как перспективная фармакологическая мишень для сахароснижающей терапии / Д.В. Куркин [и др.] // Фарматека. 2016. N 5. С. 45-50.
2. Нейротоксикологические свойства соединения АВ-19 для профилактики и лечения осложнений сахарного диабета / Д.В. Мальцев [и др.] // Токсикологический вестник. 2020. N 4. С. 39-43.
3. Кардиоваскулярные эффекты инкретиномиметиков и их терапевтический потенциал / И.Н. Тюренков [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. 2017. Т. 72. N 1. С. 66-75.
4. Sansbury B.E., Hill B.G. Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide // Free Radical Biology and Medicine 2014 N 73. P. 383-99
5. ZB-16, a novel GPR119 agonist, relieves the severity of streptozotocin–nicotinamide induced diabetes in rats / I.N. Tyurenkov [et al.] // Frontiers in Endocrinology. 2017. Vol. 8. P. 1-8. doi: 10.3389/fendo.2017.00152
6. Chemistry and hypoglycemic activity of gpr119 agonist zb-16 / I.N. Tyurenkov [et al.] // Frontiers in Endocrinology. 2018. Vol. 9. P. 543.

SUMMARY

CHANGES IN THE ACTIVITY OF THE DRUG WITH INCRETIN ACTIVITY DURING MODULATION OF NITRIC OXIDE (II) SECRETION

Fomichev E.A., 3rd year student of the Pharmaceutical Faculty of VolgSMU
Pustynnikov V.E., 3rd year student of the Pharmaceutical Faculty of VolgSMU
Andriashvili T.M., 3rd year student of the Pharmaceutical Faculty of VolgSMU
Sokolova A.A., 4th year student of the Pharmaceutical Faculty of VolgSMU
Supervisor: **Kurkin D.V.**, Doctor of Pharmacy, Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Intensive Care
Volgograd State Medical University
400131, Volgograd, Fallen Fighters Square, 1, Russian Federation
E-mail: FomichevVSMU@gmail.com

Drugs with incretin activity are a promising group of hypoglycemic drugs. At the same time, the effectiveness of some incretin mimetics is insufficient (DPP-4 inhibitors), while others have a significant cost. In this work, we investigated the possibility of

increasing the therapeutic activity of liraglutide by modulating the NO-ergic system in a model of type 2 diabetes mellitus in rats, which was modeled by injection of streptozotocin with nicotinamide. The level of glycemia was determined using a glucometer, blood in a volume of 10 μl was taken from the tail vein. The severity of carbohydrate metabolism disorders was assessed during an oral glucose tolerance test. In the course of the study, it was found that the effectiveness of liraglutide during course administration increased when it was combined with aminoguanidine. Further studies of approaches to modulating the activity of the NO-ergic system in order to increase the antidiabetic activity of incretin mimetics are appropriate for the development of new effective strategies for the treatment of diabetes mellitus and its consequences.

Keywords: *diabetes mellitus, incritinomimetics, liraglutide, NO system.*

REFERENCES

1. The incretin system as a promising pharmacological target for hypoglycemic therapy / D.V. Kurkin [et al.] // Farmateka. 2016. N 5. P. 45-50. (in Russian)

2. Neurotoxicological properties of the compound AB-19 for the prevention and treatment of complications of diabetes mellitus / D.V. Maltsev [et al.] // Toxicological Bulletin. 2020. N 4 P. 39-43. (in Russian)

3. Cardiovascular effects of incretinomimetics and their therapeutic potential / I.N. Tyurenkov [et al.] // Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences. 2017. Vol. 72(1). P. 66-75. (in Russian)

4. Sansbury B.E., Hill B.G. Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide // Free Radical Biology and Medicine. 2014. N 73. P. 383-99.

5. ZB-16, a novel GPR119 agonist, relieves the severity of streptozotocin–nicotinamide induced diabetes in rats / I.N. Tyurenkov [et al.] // Frontiers in Endocrinology. 2017. Vol. 8. P. 1-8. doi: 10.3389/fendo.2017.00152

6. Chemistry and hypoglycemic activity of gpr119 agonist zb-16 / I.N. Tyurenkov [et al.] // Frontiers in Endocrinology. 2018. Vol. 9. P. 543.

УДК 614.22

МОРАЛЬНО-ЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Шмарова А.А., магистрант 1 года обучения (ORCID: 0000-0002-0191-7342)
Руководитель: **Завершинская Н.А.**, зам. зав. каф. соц.-гум. дисциплин,
к. ф. н., доцент каф. соц.-гум. дисциплин (ORCID: 0000-0003-1107-3064)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: shmarova.aleksandra@pharminnotech.com

Развитие генетики постепенно формирует образ фармацевтической индустрии будущего. Современные технологии позволяют решать ряд задач, связанных с лечением генетических и онкологических заболеваний, коррекции аутоиммунных патологий и прочих болезней. Открывается перспектива развития генетической терапии как элемента персонализированной медицины. Однако, вмешательство в геном индивида приводит к появлению проблем этического характера. Сохранение человеческого достоинства, соблюдение автономии личности и проблема доверия становятся базовыми принципами построения взаимоотношений в цепочке «пациент-врач-регулирующий орган-государство». Нарушение границ так называемого «личного пространства» человека подчеркивает необходимость совершенствования законодательства в сфере биомедицинских исследований.

Ключевые слова: *генная терапия, генетические заболевания, орфанные заболевания, технология CRISPR-Cas9, генотерапевтические лекарственные препараты, биоэтика, права человека.*

Достижения молекулярной биологии и генетической инженерии в современной клинической практике активно воздействуют на развитие генетической терапии в России и за рубежом. Геномная медицина и фармакогенетика нацелены на поиск эффективных способов профилактики и лечения неизлечимых и трудно излечимых болезней. Наряду с клиническими трудностями по диагностике, скринингу, мониторингу и лечению генных патологий особую остроту в настоящее время приобретает проблема правовых и морально-этических аспектов генной терапии. Следствием вмешательства в генетическую структуру конкретного индивида может стать нарушение базового принципа свободы и независимости личности, гарантированного «Всеобщей Декларацией прав человека». Как в Российской Федерации, так и за рубежом проблемное поле генной терапии в области биоэтики не осмыслено в полной мере и не нашло исчерпывающего отражения в существующих нормативных документах. Этические принципы и нормативные соглашения даже в контексте одного государства коррелируют друг с другом не в полной мере, обозначая тем самым различие между формами регулирования социальных взаимоотношений – морали и права. Принятые законодательные акты и этико-правовые нормы охватывают проблемы взаимодействия пациента и медицинского сообщества в общем приближении, не позволяя провести детальную морально-этическую оценку конкретного клинического случая. Вследствие особенностей социально-медицинского взаимодействия в области генетической терапии формируется запрос общественного характера на закрепление биоэтических принципов,

детальное определение границ дозволенного при вмешательстве в геном человека, соотнесение рисков такого вмешательства и оценке действий, влияющих как на жизнь пациента, так и на окружающую среду. Таким образом, актуализируется востребованность обзора наиболее острых проблем геномной медицины и фармации и их биоэтических аспектов.

Цель данного исследования – проанализировать биоэтические аспекты генетической терапии, возникающие в клинической практике. Реализация поставленной цели предполагает решение следующих задач: во-первых, рассмотреть генетическую терапию с точки зрения альтернативной медицины XXI столетия и охарактеризовать принципы ее действия; во-вторых, сформулировать наиболее значимые морально-этические проблемы генетических технологий в клинической практике и научных исследований; в-третьих, проанализировать правовые инструменты регулирования генотерапии. Исследование базируется на использовании методов дескриптивного анализа, позволивших сформировать общее представление о рассматриваемой проблеме, а также на историко-хронологическом подходе, реализация которого дала возможность изучить проблему в динамике. Ниже представлены полученные результаты.

Генотерапия: принцип действия

Генетические заболевания не поддаются эффективному лечению традиционными способами с использованием широко распространенных синтетических лекарственных средств, что обусловливает потребность поиска альтернативных методов. Вектор научных исследований в течение последних десятилетий смещается в сторону биотехнологии. Благодаря достижениям молекулярной биологии и генной инженерии в современной клинической практике активно развивается направление генной терапии, которая представляется как одна из форм альтернативной медицины XXI столетия.

Цель генотерапии на начальном этапе заключалась в лечении генетических заболеваний и сводилась к замене «деструктивных» генов в герментативных клетках. Начиная с 1990-х годов начались работы с соматическими клетками и построение стратегий лечения злокачественных опухолей. Сегодня генная терапия применяется для лечения муковисцидоза, различных коронарных заболеваний, СПИДа, аутоиммунных и вирусных болезней [1]. В современной практике основными направлениями являются генотерапия соматических клеток (с помощью ретровирусных векторов), генотерапия рака и генотерапия зародышевых линий (редактирование генома эмбриона) [1-2]. По мере накопления успешных результатов клинических исследований и увеличения числа примеров одобрения лицензирования со стороны регулирующих органов генетическая терапия постепенно становится трендом в рамках подхода персонализированной медицины [3-4].

Для понимания особенностей генетической терапии обратимся к терминологии Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (*англ. Food and Drug Administration* (FDA)): генотерапия – «это медицинское вмешательство, основанное на модификации генетического материала живых клеток. Клетки могут быть модифицированы *ex vivo* для последующего введения человеку или изменены *in vivo* непосредственно в организме» [5]. Примеры вариантов реализации генетической терапии в современной практике приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Варианты реализации генетической терапии

Вариант реализации	Принцип	Примеры
ex vivo	Взятие соматических клеток с повреждённым геном у пациента, внедрение в культуру этих клеток необходимого генетического материала, последующую трансплантацию пациенту.	1. врожденные иммунологические патологии (например: аденозиндезаменаза (ADA) – тип тяжелого комбинированного иммунодефицита (SCID) [6]; 2. врожденные болезни системы кровотворения (β-талассемия); 3. онкогематологические заболевания (гемобластозы, В-клеточный острый лимфобластный лейкоз) [7];
in vivo	Внедрение генетического материала осуществляется инфузионно. Гены вносятся в организм человека посредством специальных носителей – вирусных векторов [1-2].	1. инъекционный препарат Luxturna для лечения наследственной дистрофии сетчатки (редкая форма наследственной слепоты, вызванная биаллельной мутацией гена RPE65) [8]; 2. инфузионный препарат Zolgensma от фармацевтической компании Novartis для лечения спинальной мышечной атрофии (SMA) – редкого наследственного нейродегенеративного заболевания; 3. генетически модифицированный вирус простого герпеса типа 1 (HSV-1) Imlygic от компании Amgen для лечения меланомы [8-10].

Отдельно необходимо отметить технологию генотерапии зародышевых линий, более известную как CRISPR-Cas9. Суть метода заключается в редактировании генома эмбриона путем помещения гена в сперматозоид, в яйцеклетку или же непосредственно в сам эмбрион. В качестве основных молекул-носителей используют нуклеазу Cas9, направляющую РНК или матричную РНК. Цель внедрения генов на раннем этапе развития будущего зародыша заключается в передаче потомкам исправленной «здоровой» генетической информации. Проведенные эксперименты на животных выявили высокую степень риска ввиду возможности процессов экспрессии генов в неподходящих тканях [11]. Следовательно, вероятное нарушение в генетической цепочке может сказаться на нормальном развитии эмбриона, а следовательно, на жизни и развитии дальнейших поколений. Возможные риски необходимо предусмотреть и предупредить, использовав механизмы юридической и моральной кодификации. Достигнутый ныне уровень морально-правовой регламентации можно считать недостаточным, поскольку на законодательном уровне генотерапия зародышевых линий лишена нормативной базы.

Описанные принципы генетической терапии, с одной стороны, выявляют тенденцию к поиску оптимального способа лечения тяжелых заболеваний. То есть пациенты получают шанс на выздоровление. Однако на фоне вмешательства в структуру генома человека остро обозначается проблема доверия научному сообществу в целом и сохранением автономии отдельного пациента.

Морально-этическая сторона вопроса

В глобальном смысле, генотерапия затрагивает моральный вопрос, относящийся к генетике в целом: имеет ли человек право вмешиваться в естественный ход биологических процессов? Может ли человек стать регулятором направленной биологической эволюции? Указанная проблематика особенно четко прослеживается в применении технологии CRISPR-Cas9. Редактирование зародышевого генома приводит к появлению множества биоэтических проблем и противоречий: возникновение нежелательных изменений, юридический статус эмбриона, вопрос подписания информированного соглашения, селекция человеческого вида (евгеника). Для безопасного использования CRISPR-Cas9 во всех областях и решения потенциальных проблем необходимо совершенствовать нормативно-правовую базу, опирающуюся на мнения как ученых-биологов, так и биоэтиков, социологов, политиков и прочих заинтересованных сторон.

Генотерапия сочетает в себе тенденции научного поиска и нравственные принципы. Уважение к человеку и соблюдение первостепенности интересов пациента должно рассматриваться как ключевой сегмент в сдвиге парадигмы от сугубо научных изысканий в область биоэтики. В системе генетической терапии человек может рассматриваться с двух позиций: как личность и как пациент. Наряду с физиологическими особенностями при внедрении процедур лечения в контексте генетической терапии важно учитывать личностные качества человека, формирующие в целом его достоинство и самосознание.

Применение методов генотерапевтического вмешательства подчеркивает противоречивость понимания сущности человеческой жизни в контексте биомедицинских исследований. Обозначенные противоречия выявляют необходимость формирования нормативной базы, четко регламентирующей взаимоотношения пациента и специалистов при проведении генетических исследований и осуществлении процедур лечения методами генетической терапии, а также защищающей интересы пациента как личности.

Правовые инструменты регулирования генотерапии

В современной правовой практике разработаны нормативные акты и соглашения, которые закрепляют ряд морально-этических аспектов и отражают правовой статус человека как потенциального объекта генетических исследований в пределах международных отношений, а также на законодательном уровне отдельных стран.

Отправной точкой понимания прав человека в генетических исследованиях становятся «Всеобщая декларация прав и свобод человека» [12]. Права человека рассматриваются в общем случае, в то время как при проведении генетической терапии необходимо оценивать взаимоотношения «пациент – специалист» в пределах биомедицинских исследований. Поэтому ещё в XX веке были подписаны соглашения между странами мирового сообщества, которые регламентировали проведение каких-либо исследований в области генной инженерии и скрининга (табл. 2).

Таблица 2 – Нормативно-правовые акты и соглашения, регламентирующие сферу генетических исследований

Документ	Дата принятия	Принципы
Всеобщая декларация прав и свобод человека, принятая Организацией Объединенных Наций (ООН)	10 декабря 1948 года	права индивида независимо от внешних воздействий: «Каждый человек имеет право на жизнь, на свободу и на личную неприкосновенность» [12]
Конвенция о защите прав и достоинства человека в связи с применением достижений биологии и медицины	4 апреля 1997 года	принцип уважения человека как индивидуума, признается важность «обеспечения его достоинства», запрет на клонирование [13]
Всеобщая декларация о геноме человека и о правах человека	11 ноября 1997 года	принцип добровольной информированности пациента: «во всех случаях следует заручаться предварительным, свободным и ясно выраженным согласием заинтересованного лица» [14]

Среди прочих нормативно-правовых актов можно выделить Рекомендацию №Р(92)3 Комитета Министров Совета Европы по проблемам диагностики и массового генетического обследования населения, проводимого в целях охраны здоровья, Руководство ВОЗ «Proposed International Guidelines on Ethical Issues in Medical Genetics and Genetic Services» (1997), Рекомендации по этике, юридическим и социальным последствиям генетического тестирования Независимой экспертной группы Европейской комиссии ЕС (2004) и другие.

В Российской Федерации регламентирующими документами являются Федеральный закон от 21 ноября 2011 г. N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» и Федеральный закон N 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации». Основу законодательства составляет принцип, согласно которому генно-инженерная деятельность направлена на улучшение условий существования человека и охрану его здоровья с определением зоны ответственности за возможное нанесение вреда личности и окружающей среде [15-16]. Однако, этические вопросы, напрямую сопряженные с биобезопасностью, остаются неурегулированными.

Таким образом, можно выделить критические точки регламентирующих документов: рекомендательный характер этических принципов, неполноценность регулирования взаимоотношений пациента и врача, отсутствие четкого личной ответственности специалиста, осуществляющего генетическую терапию. Противоречия обусловлены прогрессом генетики и медленным развитием биоэтического «освоения» новых клинических практик, отставания при закреплении их в форме этических и правовых норм. Следовательно, перспективность компоненты «этика – нравственность» в системе общественных отношений становится очевидной и необходимой для становления нравственного права в области биомедицины.

Заключение

С появлением новых технических возможностей развитие генотерапии неуклонно продолжается. Однако, такой подход требует особых мер предосторожности при нарушении как физиологической, так и нравственной неприкосновенности личности. Высокая социальная и индивидуальная значимость генной терапии обозначает новые формы нравственной ответственности и социальной справедливости ученых и практиков в сфере геномной медицины и фармации в отношении конкретного человека.

Интеграция генотерапии и биоэтики на сегодняшний день сопровождается серьезными затруднениями. Существующие регламенты на законодательном уровне рассматривают осуществление терапии и вмешательство в геном человека в общем плане. Поэтому усовершенствование этического и правового регулирования генетических исследований, в том числе и генотерапии, становится востребованным направлением развития общественной мысли. Очевидно, что успехи генетических исследований в целом могут иметь значимые результаты при внедрении этических и правовых норм в контексте социальных взаимоотношений во всех сферах общественной жизни. Поэтому качественный синтез морали, правовых взаимоотношений и генетики может способствовать прогрессу в сфере биофармации и биоэтики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кэмпбелл А., Джилетт Г., Джонс Г. Медицинская этика / под ред. В.И. Моисеева. 3-е изд-е. М.: ГЭОТАР-медиа, 2021.

2. Ксенофонтова Д.С. Правовые основы генной терапии: в поисках баланса интересов // Lex Russica. 2019. N 6(151). С. 143-152.

3. Anguela X.M., High K.A. Entering the Modern Era of Gene Therapy // Annu Rev. Med. 2019. Vol. 70. P. 273-288. doi: 10.1146/annurev-med-012017-043332.

4. Номенклатура генотерапевтических лекарственных препаратов: международный опыт / А.А. Мохов [и др.] // Ремедиум. 2019. N 5. С. 22-26. DOI: https://doi.org/10.21518/1561-5936-2019-5-22-26.

5. Regulatory Considerations for Gene Therapy Products in the US, EU, and Japan / C. L. Halioua-Haubold [et al.] // The Yale journal of biology and medicine. 2017. Vol. 90(4). P. 683–693.

6. Development and Clinical Translation of Approved Gene Therapy Products for Genetic Disorders / A. Shahryari [et. al.] // Front. Genet. 2019. N 10. P. 868. DOI: https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00868.

7. Zheng P., Kros J.M., Jin Li. Approved CAR T cell therapies: ice bucket challenges on glaring safety risks and long-term impacts // Drug Discovery Today. 2019. Vol. 23(6). P. 1175-1182. doi: 10.1016/j.drudis.2018.02.012.

8. Doepker M.P., Zager J.S. An update on talimogene laherparepvec // The American Journal of Hematology/Oncology. 2016. Vol. 14. P. 17–20.

9. Into the clinic: Talimogene laherparepvec (T-VEC), a first-in-class intratumoral oncolytic viral therapy / H. Rehman [et al.] // Journal immunotherapy cancer. 2016. Vol. 4. P. 53. DOI: http://dx.doi.org/10.1186/s40425-016-0158-5

10. Final analyses of OPTiM: a randomized phase III trial of talimogene laherparepvec versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in unresectable stage III–IV melanoma / R.H.I. Andtbacka [et. al.] // j. immunotherapy cancer. 2019. Vol. 7 (1). P. 145. DOI: http://dx.doi.org/10.1186/s40425-019-0623-z.

11. Ayanoğlu F.B., Elçin A.E., Elçin Y.M. Bioethical issues in genome editing by CRISPR-Cas9 technology // Turkish Journal of Biology. 2020. Vol. 44(2). P. 110-120. doi: 10.3906/biy-1912-52.

12. Всеобщая декларация прав человека (принята Генеральной Ассамблеей ООН 10.12.1948) [Электронный ресурс]. URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_120805/ (дата обращения: 04.02.2022).

13. Конвенция о защите прав и и достоинства человека в связи с применением достижений биологии и медицины: Конвенция о правах человека и биомедицине от 4 апреля 1997 года. URL: https://rm.coe.int/168007d004. (дата обращения: 04.02.2022).

14. Всеобщая декларация о геноме человека и о правах человека от 11 ноября 1997 года. URL: https://docs.cntd.ru/document/901818154 (дата обращения: 05.02.2022).

15. Федеральный закон от 21 ноября 2011 г. N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» [Электронный ресурс]. URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_121895/(дата обращения: 03.02.2022).

16. Федеральный закон от 30.12.2020 N 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации» [Электронный ресурс]. URL: https://docs.cntd.ru/document/573249393. (дата обращения: 05.02.2022).

SUMMARY

MORAL AND ETHICAL ASPECTS OF GENE THERAPY

Shmarova A.A., 1st year undergraduate (ORCID: 0000-0002-0191-7342)
Supervisor: **Zavershinskaya N.A.**, Deputy Head of the Department of Social and Humanitarian Disciplines, Candidate of Philosophy, Associate Professor of the Department of Social and Humanitarian Disciplines (ORCID: 0000-0003-1107-3064)
St. Petersburg Chemical and Pharmaceutical University
14 Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: shmarova.aleksandra@pharminnotech.com

The genetics development is progressively molding the pharmaceutical industry's vision of the future. Modern technologies allow to solve a range of problems related to the treatment of genetic and oncological diseases, correction of autoimmune pathologies and other disorders. The prospect is opening up for the development of genetic therapy as an element of personalized medicine. However, interference with the individual's genome causes problems of an ethical nature. The basic principles of the «patient-doctor-regulator-state» chain are the maintenance of human dignity, the autonomy of the personality, and the problem of confidence. Violating the boundaries of the alleged «personal space» of an individual highlights the necessity to improve the legislation in the area of biomedical research.

Keywords: *gene therapy, genetic diseases, orphan diseases, CRISPR-Cas9 technology, genotherapeutic drugs, bioethics, human rights.*

REFERENCES

1. Campbell A., Gillette G., Jones G. Medical Ethics / Ed. V.I. Moiseev. 3rd Edition. M.: GEOTAR Media. 2021. (in Russian).
2. Ksenofontova D.S. The Legal Basis for Gene Therapy: In Search of a Balance of Interests // Lex Russica. 2019. N 6(151). P. 143-152. (in Russian).
3. Anguela X.M., High K.A. Entering the Modern Era of Gene Therapy // Annu Rev. Med. 2019. Vol. 70. P. 273-288. doi: 10.1146/annurev-med-012017-043332.
4. Nomenclature of Genotherapeutic Drugs: International Experience / A.A. Mohov [et al.] // Remedium journal. 2019. N 5. P. 22-26. DOI: https://doi.org/10.21518/1561-5936-2019-5-22-26. (in Russian).
5. Regulatory Considerations for Gene Therapy Products in the US, EU, and Japan / C. L. Halioua-Haubold [et al.] // The Yale journal of biology and medicine. 2017. Vol. 90(4). P. 683–693.
6. Development and Clinical Translation of Approved Gene Therapy Products for Genetic Disorders / A. Shahryari [et. al.] // Front. Genet. 2019. N 10. P. 868. DOI: https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00868.
7. Zheng P., Kros J.M., Jin Li. Approved CAR T cell therapies: ice bucket challenges on glaring safety risks and long-term impacts // Drug Discovery Today. 2019. Vol. 23(6). P. 1175-1182. doi: 10.1016/j.drudis.2018.02.012.
8. Doepker M.P., Zager J.S. An update on talimogene laherparepvec // The American Journal of Hematology/Oncology. 2016. Vol. 14. P. 17–20.
9. Into the clinic: Talimogene laherparepvec (T-VEC), a first-in-class intratumoral oncolytic viral therapy / H. Rehman [et al.] // Journal immunotherapy cancer. 2016. Vol. 4. P. 53. DOI: http://dx.doi.org/10.1186/s40425-016-0158-5
10. Final analyses of OPTiM: a randomized phase III trial of talimogene laherparepvec versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in unresectable stage III–IV melanoma / R.H.I. Andtbacka [et. al.] // j. immunotherapy cancer. 2019. Vol. 7 (1). P. 145. DOI: http://dx.doi.org/10.1186/s40425-019-0623-z.
11. Ayanoğlu F.B., Elçin A.E., Elçin Y.M. Bioethical issues in genome editing by CRISPR-Cas9 technology // Turkish Journal of Biology. 2020. Vol. 44(2). P. 110-120. doi: 10.3906/biy-1912-52.
12. Universal Declaration of Human Rights (adopted by the UN General Assembly on December 10, 1948) [Internet]. URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_120805/ (Accessed: 04.02.2022). (in Russian).
13. Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine: Convention on Human Rights and Biomedicine of April 4, 1997. [Internet]. URL: https://rm.coe.int/168007d004. (Accessed: 04.02.2022). (in Russian).
14. Universal Declaration on the Human Genome and Human Rights of November 11, 1997. [Internet]. URL: https://docs.cntd.ru/document/901818154 (Accessed: 05.02.2022). (in Russian).
15. Federal Law No. 323-FZ of November 21, 2011 "On the Fundamentals of Public Health Protection at the Russian Federation" [Internet]. URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_121895/ (Accessed: 03.02.2022). (in Russian).
16. Federal Law No. 492-FZ of December 30, 2020 «On Biological Safety in the Russian Federation»[Internet]. URL: https://docs.cntd.ru/document/573249393. (Accessed: 05.02.2022). (in Russian).

УДК 615.038

К ВОПРОСУ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ РЕКОМЕНДУЕМЫХ ТАБЛЕТОК «ОРТОФ-S»

Юнусова М.С.[1], **Жалолиддинова М.Ш.**[2], соискатель
Руководитель: **Аллаева М.Ж.**[1], докт. биол. наук., проф., **Юнусова Х.М.**[2], докт. фарм. наук, проф.
[1]Ташкентская медицинская академия,
100109, Ташкент, ул. Фаробий 2, Республика Узбекистан
[2]Ташкентский фармацевтический институт,
100015, Ташкент, ул. Айбека, д.45, Республика Узбекистан
E-mail: samina1809@mail.ru

В этой статье представлены результаты исследования, проведенного до клинические исследования. Приведен результаты фармакологического изучения рекомендуемого препарата – влияние препарата «Ортоф-S» на сосудистую проницаемость, на болевую чувствительность и жаропонижающие действие.

Ключевые слова: *таблетки, жаропонижающий, болеутоляющий, препарат, омепразол, диклофенак натрия.*

Во всем мире ежедневно более 30 млн. людей принимают нестероидные противовоспалительные препараты, из них 40% – старше 60 лет. Большинство пациентов хорошо переносят эти препараты, но у некоторых из них развиваются гастроэнтерологические побочные эффекты, иногда требующие отмены препарата. Поэтому разработка нестероидных противовоспалительных препаратов, не проявляющих побочные эффекты, имеет большое значение для фармацевтической промышленности [8,9].

В настоящее время в мире большо к внимание уделяется исследованиям, напрвленным на уменьшение побочных эффектов обезболивающих препаратов с целью разработки высокоэффективных безвредных лекарственных средств. В связи с этим большое значение имеет разработка и комплексное изучение комбинированных препаратов, защищающих слизистую оболочку желудка и двенадцатиперстной кишки, стимулирующих трофические и регенеративные процессы, содержащих противовоспалительные нестероидные лекарственные средства, применяемые в качестве анальгетиков, в сочетании с ингибиторами протонного насоса [9,10].

В результате широкомасштабных мер, принимаемых сегодня в стране, достигаются определенные результаты в дальнейшем развитии фармацевтической промышленности и обеспечении населения эффективными, безвредными и доступными лекарственными средствами. В четвертой главе Стратегии действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан определены важные задачи по « дальнейшего развития фармацевтической промышленности, улучшению обеспечения населения и лечебно-профилактических предприятий доступными, эффективными лекарственными средствами и медицинскими изделиями...». В связи с этим одной из актуальных научных и практических задач является разработка и внедрение технологии лекарственных средств без побочных эффектов, которые могут широко применяться в медицинской практике [7,8].

Цель исследования: изучение фармакологических свойств рекомендуемых таблеток на основе омепразрола и диклофенак натрия.

Материалы и методы исследования. Нестероидный противовоспалительный препарат (НПВП), производное фенилуксусной кислоты. Диклофенак обладает противовоспалительным, обезболивающим, антиагрегантным и жаропонижающим действием. Неизбирательно угнетая циклооксигеназу 1 и 2 (ЦОГ1 и ЦОГ2), нарушает метаболизм арахидоновой кислоты, уменьшает количество простагландинов в очаге воспаления. Наиболее эффективен при болях воспалительного характера.

При ревматических заболеваниях противовоспалительное и анальгезирующее действие диклофенака способствует значительному уменьшению выраженности боли, утренней

скованности, припухлости суставов, что улучшает функциональное состояние сустава.

При травмах, в послеоперационном периоде диклофенак уменьшает болевые ощущения и воспалительный отек.

Омепрозол – специфический ингибитор протонного насоса: тормозит активность Н+/К+-АТФазы в париетальных клетках желудка, блокируя заключительную стадию секреции соляной кислоты, тем самым снижая ее продукцию.

Омепразол является пролекарством и активируется в кислой среде секреторных канальцев париетальных клеток желудка [1,2,5].

Воздействие является дозозависимым и обеспечивает эффективное ингибирование базальной и стимулированной секреции кислоты, независимо от природы стимулирующего фактора.

Антисекреторный эффект после приема 20 мг наступает в течение 1-го ч, максимум — через 2 ч. Ингибирование 50% максимальной секреции продолжается 24 ч. Однократный прием в сутки обеспечивает быстрое и эффективное угнетение дневной и ночной желудочной секреции, достигающее своего максимума через 4 дня лечения и исчезающее к исходу 3–4-го дня после окончания приема.

У больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки прием 20 мг омепразола поддерживает внутрижелудочный pH выше 3 в течение 17 ч.

Влияние рекомендуемого препарата на сосудистую проницаемость изучали по методу А.И. Ойвина, К.Н. Монаковой в модификации П.Г. Голикова (1968). 12 крыс, весом 200 – 240г разделили на 2 группы. Первая группа служила контролем, второй группе крыс 2 раза в день внутрижелудочно вводили препарат «Ортоф-S» – таблетки в дозе 5 мг/кг соот-

ветственно. В качестве вещества, повышающего сосудистую проницаемость, использовали ксилол, который вводили внутрикожно в область живота, предварительно лишённую шерсти в количестве 0,05 мл за 5 мин до внутривенной инъекции голубого Эванса в дозе 10 мг/кг в виде 0,3% раствора, приготовленного на 0,9% растворе NaCl. Статистические расчеты проводились методом вариационной статистики с вычислением критерия Стьюдента.

Влияние препарата «Ортоф-S» на болевую чувствительность изучали следующим образом: анальгезирующий эффект препаратов изучали на белых беспородных мышах, в количестве 18 голов, массой тела 20-23 г. Специфическую болевую реакцию – «корчи» (характерные движения животных, включающие сокращения брюшных мышц, чередующиеся с их расслаблением, вытягиванием задних конечностей и прогибанием спины) вызывали внутрибрюшинным введением 0,75% уксусной кислоты (0,1мл/10г массы тела)[3,4, 5].

Для этого белых мышей разделили на 3 группы по 6 голов в каждой. Препараты вводили следующим образом:

1 группа – контрольная: мышам этой группы внутрижелудочно вводили воду очищенную 0,4 мл + через 15 мин внутрибрюшинно 0,75% уксусную кислоту в дозе 0,2 мл/20г;

2 группа-опытная: мышам внутрижелудочно вводили препарат «Анальгин», производства ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь в дозе 100 мг/кг (2,5 % р/р) + через 15 мин внутрибрюшинно 0,75% уксусную кислоту в дозе 0,2мл/20г.

3 группа-опытная: мышам внутрижелудочно вводили рекомендуемый препарат «Ортоф-S» в дозе 100 мг/кг (22,5 % р/р) + через 15 мин внутрибрюшинно 0,75% уксусную кислоту в дозе 0,2мл/20г;

В течение последующих 15 минут после инъекции подсчитывали количество корчей для каждого животного. Анальгезирующий эффект оценивали по уменьшению количества корчей в процентах к контролю. Полученные результаты статистически обрабатывали по парному критерию Стьюдента [7].

Жаропонижающее действие препаратов изучали на крысах, массой тела 180 – 200 г. Изучалась способность сравниваемых препаратов снижать повышенную температуру тела, вызванной внутрибрюшинным введением Пирогенала [3].

Для этого белых крыс разделили на 3 группы по 6 голов в каждой. Препараты вводили следующим образом:

1 группа – контрольная: крысам этой группы внутрибрюшинно вводили Пирогенал и через 60 мин внутрижелудочно вводили воду в количестве 2 мл.

2 группа – опытная: крысам внутрибрюшинно вводили Пирогенал в дозе 4 мкг/кг, а через 60 минут, на фоне лихорадочной реакции, внутрижелудочно вводили препарат «Анальгин», производства ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь в дозе 50 мг/кг.

3 группа – опытная: крысам внутрибрюшинно вводили Пирогенал в дозе 4 мкг/кг, а через 60 минут, на фоне лихорадочной реакции, внутрижелудочно вводили препарат «Ортоф-S» – рекомендуемые таблетки в дозе 50 мг/кг.

Температуру тела измеряли ректально, через 60 минут после введения сравниваемых препаратов. Полученные результаты статистически обрабатывали по парному критерию Стьюдента [7].

Результаты и обсуждение. Изучение специфической активности (влияние на сосудистую проницаемость) показало, что после внутривенной инъекции голубого Эванса у крыс, получавших препарат «Ортоф-S» – таблетки окрашивание вокруг папулы наблюдалось через 6,8 ± 0,7 минуты, в то время как в контроле окрашивание наблюдалось через 3,9 ± 0,4, т.е. препарат удлинял время начала окрашивания папулы на 74,3%. Время полного завершения окрашивания ксилоловой папулы у крыс, получавших препарат «Ортоф-S» – таблетки составило 11,0 ± 0,6 минуты, при контроле 7,0 ± 0,5 минуты. Т.е. под влиянием препарата «Ортоф-S» – таблетки время завершения ксилоловой папулы продлилось на 57,1% по сравнению с контролем, т.е. препарат оказал укрепляющее действие на сосудистую стенку кровеносных капилляров (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние рекомендуемых таблеток на проницаемость стенки капилляров, при её нарушении внутрикожным введением ксилола

№ животного	Контрольная группа					
	Вес, г	Объём,мл	Время окрашивания, мин			
			начало	%	конец	%
M ± m	218,3 ±12,1	-	3,9 ± 0,4	-	7,0 ± 0,5	-
«Ортоф-S» – рекомендуемые таблетки						
M ± m P	215,3±17,8 P > 0,5	-	6,8 ± 0,7 P < 0,05	74,3	11,0 ± 0,6 P < 0,05	57,1

Изучение влияние препарата «Ортоф-S» на болевую чувствительность показали, что после введения уксусной кислоты у мышей контрольной группы количество корчей составило 30,3 ± 1,8 раза. У мышей опытной группы, которым вводили препарат «Ортоф-S» количество корчей составило 7,5 ± 0,5 т.е. на 75,3% меньше, чем в контрольной группе. Полученные результаты показывают достоверный анальгетический эффект рекомендуемого препарата «Ортоф-S» (таблица 2).

Аналогичные данные были получены при изучении анальгезирующего эффекта препарата «Анальгин», производства ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь.

Количество корчей у мышей, которым вводили препарат «Анальгин», производства ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь, составило 7,1 ± 0,75 что на 76,6% меньше, чем показатели контрольной группы (таблица 2).

Таблица 2 – Анальгезирующее действие рекомендуемого препарата «Ортоф-S» и «Анальгин», ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь

Масса животного (г)	ЛС		Уксусная кислота 0,75 %	Количество корчей после введения уксусной к-ты	Эффект, %
	мг/кг	мл			
Контрольная группа + вода очищенная					
21,6 ± 1,0	-	0,4	0,2	30,3 ± 1,8	-
«Анальгин», ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь					
21,8 ± 0,75	500	0,4	0,2	7,5 ± 0,5 p<0,05	75,3
Ортоф-S» рекомендуемые таблетки					
21,6 ± 1,0	500	0,44	0,2	7,1 ± 0,75 p<0,05	76,6

Результаты исследований т.е. жаропонижающее действие показали, что после введения Пирогенала у крыс контрольной группы, через 60 минут, наблюдалось повышение температуры тела до 39,5 ± 0,44ºС. После введения препарата «Ортоф-S», через 60 минут наблюдалось снижение температуры тела до 37,7 ± 0,2ºС. Т.е. практически не отличалась от первоначальной температуры (до введения Пирогенала) (Р=0,000) (таблица 3).

Таблица 3 – Жаропонижающее действие рекомендуемого препарата «Ортоф-S» и «Анальгин», ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь

Вес, г	Доза Мг/кг	t тела до введения Пирогенала, º С	t тела после введения Пирогенала, º С	t тела после введения препаратов, º С
Контрольная группа+вода очищенная				
202,5 ± 10,8	-	37,8 ± 0,4	39,5 ± 0,44	39,4 ± 0,4
«Анальгин», ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь				
198 ± 9,0	500	37,5 ± 0,39	39,5 ± 0,36 P>0,05	37,7 ± 0,2 P<0,05
Ортоф-S» рекомендуемые таблетки				
202,7 ± 0,9	500	37,7 ± 0,4	39,6 ± 0,36 P>0,05	37,4 ± 0,3 P<0,05

Аналогичные данные были получены при изучении гипотермического действия препарата «Анальгин» производства ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь. Через 60 мин после введения препарата наблюдалось снижения температуры тела крыс до 37,7 ± 0,2ºС, что практически не отличалась от первоначальной температуры (до введения Пирогенала) (таблица 3).

Заключение: Таким образом, проведенные опыты показали что рекомендуемый препарат «Ортоф-S» в испытанной дозе обладает достоверной сосудоукрепляющей активностью. Полученные данные показывают, что рекомендуемый препарат «Ортоф-S» – таблетки в сравнении с препаратом «Анальгин» – таблетки, производства ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь идентичны и достоверно снижают температуру тела белых крыс, вызванную внутрибрюшинным введением Пирогенала, т.е. обладают равнозначным гипотермическим действием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурбелло А.Т., Шабров А.В. Современные лекарственные средства. М. 2007. 800с.

2. Пожилова Е.В. Влияние антигипоксантов на развитие каррагенин – индуцированного воспаления // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2014. N 4. С. 61-67.

3. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований М.: Медицина. 2005. 542 с.

4. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. Изд. второе, перер. и доп. М.: Медицина, 2005. С. 763-774.

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.И. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.

6. Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств. Киев, 2002. С. 91.

7. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Evaluation of biopharmaceutical and pharmacological properties of combined ternary componential analgesic tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(02). P. 6009-6017.

8. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of “Ortof-S” tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288.

9. Abdijalilova Z.Kh., Yunusova Kh.M., Ilkhamova N.B. Pre-clinical study of expectorant properties of «Ambrol» tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(04). P. 2349-2354.

10. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Biopharmaceutical aspects of capsulirine drug based on NSAIDs // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(04). P. 2258-2265.

SUMMARY

ON THE ISSUE OF PRECLINICAL STUDIES OF RECOMMENDED «ORTOF-S» TABLETS

Yunusova M.S.[1], **Jaloliddinova M.Sh.**[2], applicant
Supervisor: **Allaeva M.J.**[1], doctor. biol. sciences, prof., **Yunusova Kh.M.**[2], doctor. farm. science, prof.
[1] Tashkent Medical Academy,
100109, Tashkent, ul. Farobiy 2, Republic of Uzbekistan
[2]Tashkent Pharmaceutical Institute,
100015, Tashkent, Aybek p., 45, Republic of Uzbekistan
E-mail: samina1809@mail.ru

This article presents the results of a study conducted by preclinical research. The results of the pharmacological study of the recommended drug are presented – the effect of the drug «Ortof-S» on vascular permeability, pain sensitivity and antipyretic effect.

Keywords: *tablets, antipyretic, analgesic, drug,omeprazole, diclofenac sodium.*

REFERENCES

1. Burbello A.T., Shabrov A.V. Modern medicines. Moscow, 2007. 800 p. (in Russian)

2. Senzhova E.V. The effect of antihypoxants on the development of carrageenan-induced inflammation. // Russian Medico-Biological Bulletin named after Academician I.P. Pavlov. 2014. N 4. P. 61-67. (in Russian)

3. Nazarenko G.I., Kishkun A.A. Clinical evaluation of laboratory research results M.: Medicine, 2005. 542 p. (in Russian)

4. Basic methods of statistical processing of the results of pharmacological experiments. // The Manual for Experimental (Preclinical) The study of new pharmacological substances Under the general / Ed. R. U. Khabriev. The second ed., revised and supplemented. M.: Medicine, 2005. P. 763-774. (in Russian)

5.Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one / Ed. A.I. Mironov. M.: Vulture and K, 2012. 944 p. (in Russian)

6. Stefanov A.V. Preclinical studies of medicines. Kiev. 2002. P. 91. (in Russian)

7. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Evaluation of biopharmaceutical and pharmacological properties of combined ternary componential analgesic tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(02). P. 6009-6017.

8. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288.

9. Abdijalilova Z.Kh., Yunusova Kh.M., Ilkhamova N.B. Pre-clinical study of expectorant properties of «Ambrol» tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(04). P. 2349-2354.

10. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Biopharmaceutical aspects of capsulirine drug based on NSAIDs // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(04). P. 2258-2265.

UDC 615.454

PRECLINICAL STUDY OF RECOMMENDED ANTIHYPERTENSIVE TABLETS

Jaloliddinova M.Sh., applicant
Supervisor: **Yunusova Kh.M.**, doctor. pharm. sciences, prof.
Ilkhamova N.B., doctor. pharm. sciences
Tashkent Pharmaceutical Institute, 100015,
Tashkent, Aybek str., 45, Republic of Uzbekistan
E-mail: samina1809@mail.ru

Modern cardiology can not be imagined without drugs belonging to the beta-adrenoblocker group. At present, the creation of highly effective drugs that have an antihypertensive effect is an important task. In this article, the results of a study conducted on the determination of specific activity and acute toxicity in the study of clinical trials that took the form of a drug based on bisoprolol fumarate from the beta-adrenoblockator group are presented.

Keywords: *Antihypertensive agent (beta-adrenoblocker), specific activity, exudation, pharmacology, clinical indications, bisoprolol fumarate.*

Introduction. It is impossible to imagine modern cardiology without beta-blockers, of which more than 30 names are currently known. The need to include beta-blockers in the treatment of cardiovascular diseases (CVD) is obvious: over the past

50 years of cardiological clinical practice, beta-blockers have taken a strong position in the prevention of complications and in pharmacotherapy of arterial hypertension (AH), coronary heart disease (CHD), chronic heart failure (CHF), metabolic syndrome (MS), as well as in some forms of tachyarrhythmias. Traditionally, in uncomplicated cases, drug treatment of hypertension is started with beta-blockers and diuretics that reduce the risk of myocardial infarction (MI), cerebral circulatory disorders and sudden cardiogenic death [1,3,10].

Bisoprolol is a highly selective agent that blocks betagadrenoreceptors, the action of which leads to a decrease in the frequency and strength of heart contractions. Medications of this group protect the heart from excessive excitability [6,8,9].

The purpose of the study: to study the bioequivalence of the drug "Biscor" tablets 5 mg, in comparison with the drug analog "Bisoprol®" – tablets 5 mg, manufactured by PJSC Farmak Ukraine. In order to study bioequivalence, studies were conducted to study specific activity on a model of adrenaline hypertension in rabbits.

Materials and methods of research. – the specific activity of the compared drugs "Biscor" – tablets and "Bisoprol®" – tablets, manufactured by PJSC Farmak, Ukraine, was studied on a model of adrenaline hypertension in rabbits [4,5].

The action of adrenaline is perceived by the adrenoreceptors of cells. The functions of alpha and beta adrenergic receptors in the same organ are usually opposite. For example, in blood vessels, the excitation of alpha-adrenoreceptors leads to a contraction of the circular muscles and narrowing of their lumen, and the excitation of beta-adrenoreceptors, on the contrary, causes muscle relaxation and vasodilation. In other organs, beta adrenoreceptors (heart, bronchi) perform an excitatory function. With intravenous administration, adrenaline acts quickly, but the effect is very short-term (only about 5 minutes) due to rapid destruction [5,7].

For the experiment, 6 rabbits with a body weight of 2100 – 2400 g were used, which were divided into 2 groups of 3 individuals. The animals were put to sleep under urethane anesthesia, the cervical region was opened and the carotid artery was found. To register blood pressure in the carotid artery, a special glass cannula was installed' to which a mercury pressure gauge was attached to a kimograph.

Rabbits were injected intravenously (through the ear vein) with 0.001% epinephrine solution at a dose of 5mcg/kg. With intravenous administration of adrenaline, blood pressure rises within 5 seconds due to irritation of alpha receptors, called the alpha phase, after which, within 1-2 minutes, blood pressure decreases due to irritation of beta receptors below the level of normal blood pressure, this phase is called the beta phase. This period lasts 2-3 minutes, after which blood pressure normalizes.

To study the hypotensive effect, the compared drugs in the form of 1% aqueous solutions were administered to rabbits per os through a pre-installed gastric tube at a dose of 5 mg / kg, blood pressure was measured after 3 hours. After 5 hours, rabbits were repeatedly injected intravenously (through the ear vein) 0.001% epinephrine solution at a dose of 5mcg/kg. Statistical calculations were carried out by the method of variational statistics with the calculation of the Stu data criterion using the STATISTICAL program for Windows 95 [2, 6].

- the acute toxicity of the compared preparations "Biskor" – tablets and "Bisoprol®" – tablets, manufactured by PJSC Farmak, Ukraine, was studied by the generally accepted method described in the literature, a single injection of drugs with the determination of LD50 and toxicity class [1,5,9].

For the experiment, white mongrel mice of males and females in the amount of 36 heads, weighing 19-21 g, kept in quarantine for 14 days were used. Before and during the experiments, the mice were in the vivarium at an air temperature of +20-22 ° C, humidity – no more than 50%, the volume of air exchange (exhaust: inflow) – 8:10, in the light mode – day – night. Mice were placed in standard plastic cages and kept on a standard diet.

At the beginning of the studies, a 1% aqueous suspension was prepared from the compared preparations at the rate of 1 tablet + 1 ml of purified water.

An experiment to study the acute toxicity of the compared drugs was carried out in two series. In the first series of the experiment, mice were injected with a 0.5% aqueous suspension of the drug "Biskor" – tablets, which were administered as follows:

Group 1 (6 mice) – per os at a dose of 100 mg/kg (0.4 ml);
Group 2 (6 mice) – per os at a dose of 150 mg/kg (0.6 ml);
Group 3 (6 mice) – per os at a dose of 200 mg/kg (0.8 ml).

In the second series of the experiment, mice were injected with a 1% aqueous suspension of the comparison drug Bisoprol®, manufactured by PJSC Farmak Ukraine, as follows:

Group 1 (6 mice) – per os at a dose of 100 mg/kg (0.4 ml);
Group 2 (6 mice) – per os at a dose of 150 mg/kg (0.6 ml);
Group 3 (6 mice) – per os at a dose of 200 mg/kg (0.8 ml).

Mice of all groups were monitored hourly during the first day of the experiment in the laboratory, while survival during the experiment, general condition, possible seizures and death were used as indicators of the functional state of the animals. From the second day, observation was conducted daily, for 2 weeks in a vivarium, while monitoring the general condition and activity, behavioral characteristics, reaction to tactile, painful, sound and light stimuli, frequency and depth of respiratory movements, heart rate, condition hair and skin, the position of the tail, the amount and consistency of fecal masses, the frequency of urination, changes in body weight, etc. indicators. All experimental animals were kept in the same conditions and on a common diet with free access to water and food [2,3,4].

After the experiment was completed, LD50 and the toxicity class of the compared drugs were determined [1,7,10].

Results and discussion: When studying the antihypertensive activity of the compared drugs, an increase in arterial pressure was reflected on the kimogram pressure, similar to the alpha phase. After that, there was a decrease in blood pressure to normal without beta phase. This is due to the fact that bisoprolol is a beta blocker and eliminates beta phases (Table 1).

The table shows that intravenous administration of adrenaline reduced blood pressure in the beta phase by 17.3% of the norm. Administration of adrenaline 5 hours after the drug "Biskor" the level of the beta-phase decreased by only 1.6%, this is due to the fact that the studied drug had a blocking effect.

Table 1 – Antihypertensive effect of the drugs «Biskor» and «Bisoprol ®» of PJSC Farmak Ukraine

Preparation	Weight, g	AD is normal	AD- Beta phase	Difference AD	AD- after the administration of drugs	AD- beta the phase of drug administration	Difference
«Biskor»	1400	120	100	20	95	95	0
	1200	125	100	25	95	90	5
	1300	130	110	20	100	100	0
	1300±100,0	125±5,0	103,3±5,7	21,6±2,8	96,6 ± 2,8	95±5	1.6 ± 2,8
"Bisoprol®" - PJSC Farmak Ukraine	1300	125	105	20	95	90	5
	1100	115	100	15	90	90	0
	1300	120	100	20	95	95	0
	1233±115,5	120±5	101,7±2,8	18,3±2,8	93,3±2,8	91,6±2,8	1,6±2,8
		P >0,5	P >0,5	P >0,5	P >0,5	P >0,5	P >0 5

When studying the acute toxicity of the drug «Biskor» – tablets, the following data were obtained:

Group 1 [dose 100 mg / kg): after administration of the drug during the day, the mice remained active, no changes in behavior and functional status were observed. The condition of the coat and skin is normal without changes, food and water were not refused, the death of mice was not observed. On the second day and in the subsequent period of observation, there were no pathological changes in the behavior and physiological parameters of the mice. The consumption of water and feed is normal, there was no lag in growth and development. There was no death of mice within 14 days.

Group 2 (dose 150 mg / kg): after administration of the drug during the day, mice were active, no changes in behavior and functional status were observed. The condition of the coat and skin is normal without changes, food and water were not refused, the death of mice was not observed. On the second day and in the subsequent period of observation, there were no pathological changes in the behavior and physiological parameters of the mice. The consumption of water and feed is normal, there was no lag in growth and development. There was no death of mice within 14 days.

Group 3 (dose 200 mg/ kg) after administration in mice was observed short-term lethargy and inactivity, which passed after 30 – 40 minutes.

After 1 hour, the mice returned to their previous state, active behavior, physical indicators did not deviate from the norm.

The data obtained are shown in Table 2.

On the second day and during the entire observation period for 14 days, no changes were observed in the behavior and other physical indicators of mice, mice willingly consumed food and water, reactions to light and sound stimuli remained normal, wool and skin were clean, urination and fecal excretion were normal, the weight and growth of mice did not lag behind in development. The death of mice was not observed (Table No. 1). The LD50 of the drug «Biscor» was a dose of more than 200 mg / kg.

Similar data were obtained in the study of acute toxicity of the drug «Bisoprol®» – tablets, PJSC Farmak Ukraine. The LD50 of the drug was a dose of more than 200 mg/kg.

Table 2 – Determination of acute toxicity (LD50) of «Biskor» and «Bisoprol®» of PJSC Farmak

Studied drugs						
№	«Biskor»			«Bisoprol®» – PJSC FarmakUkraine		
	The way of introduction – Per os					
Animal groups	Animal weight, mg/kg	Dose, ml	Result	Animal weight, mg/kg	Dose, ml	Result
1	100	0,4	0/6	100	0,4	0/6
2	150	0,6	0/6	150	0,6	0/6
3	200	0,8	0/6	200	0,8	0/6
LD_{50} >200 mg/kg						

Conclusion: Thus, the study of acute toxicity of the drug «Biskor» – 5 mg tablets in comparison with the analog drug «Bisoprol®» – 5 mg tablets produced by PJSC Farmak Ukraine have an antihypertensive effect, i.e. the drugs were biologically equivalent in specific action. the study of the acute toxicity of the drug «Biskor» – 5 mg tablets in comparison with the analog drug «Bisoprol®» – 5 mg tablets, manufactured by PJSC Farmak Ukraine, showed that the drugs are biologically equivalent.

REFERENCE

1. Belenky M.L. Elements of quantitative assessment of pharmacological effect. L. 1963. P.81-90. (in Russian)

2. Burbello A.T., Shabrov A.V. Modern medicines. Moscow, 2007. 800 p. (in Russian)

3. Guskova T.A. Toxicology of medicines. Moscow, 2008. P. 27-30. (in Russian)

4. Methodological guidelines for the study of the general toxic effect of pharmacological substances. / Ed. R. U. Khabriev. // In the Manual for the (preclinical) study of new Pharmacological Substances. The 2 edition, revised and supplemented. M.: Medicine, 2005. P. 41-54. (in Russian)

5. Methodological guidelines for the study of antihypertensive effect of drugs / Ed. A.N.Mironov. // In the Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicines. M.: Vulture and K, 2012. P. 363 - 373. (in Russian)

6. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Evaluation of biopharmaceutical and pharmacological properties of combined ternary componential analgesic tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(02). P.6009-6017.

7. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288.

8. Abdijalilova Z.Kh., Yunusova Kh.M., Ilkhamova N.B. Pre-clinical study of expectorant properties of «Ambrol» tablets. // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020 Vol. 24(04). P. 2349-2354.

9. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Biopharmaceutical aspects of capsulirine drug based on NSAIDs // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(04). P. 2258-2265

10. Comparative study of sedative properties of combined tincture / M.H. Tursunova [et al.] // Infection, immunity and pharmacology. 2021. N 6. P. 172-177. (in Russian)

SUMMARY

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕКОМЕНДУЕМЫХ ТАБЛЕТОК АНТИГИПЕРТЕНЗИВНОГО ДЕЙСТВИЯ

Жалолиддинова М.Ш., соискатель
Руководитель: **Юнусова Х.М.**, докт. фарм. наук, проф.
Илхамова Н.Б., докт. фарм. наук.
Ташкентский фармацевтический институт,
100015, Ташкент, ул. Айбека, д.45, Республика Узбекистан
E-mail: samina1809@mail.ru

Современную кардиологию невозможно представить без препаратов, относящихся к группе бета-адреноблокаторов. В настоящее время создание высокоэффективных препаратов, обладающих гипотензивным действием, является важной задачей. В этой статье представлены результаты исследования, проведенного по определению специфической активности и острой токсичности при изучении клинических испытаний, которые принимали форму препарата на основе бисопролола фумарата из группы бета-адреноблокаторов.

Ключевые слова: *Антигипертензивное средство (бета-адреноблокатор), специфической активности, экссудация, фармакология, клинические показания, бисопролола фумарат.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л., 1963. С.81-90.

2. Бурбелло А.Т., Шабров А.В. Современные лекарственные средства. М., 2007. 800 с.

3. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. М., 2008. с. 27-30.

4. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ / под ред. Р. У. Хабриева. // Руководство по (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Изд. 2-е, перер. и доп. М.: Медицина, 2005. С. 41-54.

5. Методические указания по изучению антигипертензивное действие препаратов / под ред. А.Н.Миронова. // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. С. 363 - 373.

6. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Evaluation of biopharmaceutical and pharmacological properties of combined ternary componential analgesic tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(02). P.6009-6017.

7. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288.

8. Abdijalilova Z.Kh., Yunusova Kh.M., Ilkhamova N.B. Pre-clinical study of expectorant properties of «Ambrol» tablets. // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020 Vol. 24(04). P. 2349-2354.

9. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Biopharmaceutical aspects of capsulirine drug based on NSAIDs // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(04). P. 2258-2265

10. Сравнительное изучение седативных свойств комбинированной настойки / М.Х. Турсунова [и др.] // Инфекция, имунитет и фармакология. 2021. N 6. С.-172-177.

УДК 615.2

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ И МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ДИМЕТИЛФУМАРАТА КАК НЕЙРОПРОТЕКТОРА ЦНС

Заварина Е.Ю., Красова Е.К., студ. 4 курса
Руководители: **Титович И.А.**, канд. биол. наук, доц.
Кафедра фармакологии и клинической фармакологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация

Ключевые слова: *диметилфумарат, цереброваскулярные заболевания, нейропротекторы.*

Заболевания головного мозга являются важнейшей медико-социальной проблемой, так как занимают одно из первых мест в структуре общей смертности и инвалидности населения в России. По данным всемирной федерации неврологических сообществ, ежегодно в мире регистрируется около 15 миллионов инсультов. В большинстве развитых стран инсульт занимает второе – третье место в структуре общей смертности населения, в России – второе, уступая лишь кардиоваскулярной патологии. Актуальность поиска новых способов фармакологической защиты мозга при гипоксии и ишемии обусловлена тяжестью заболевания, ведущей в большинстве случаев к утрате трудоспособности и первичной инвалидности пациентов.

В клинической практике с этой целью традиционно применяются лекарственные средства, обладающие антигипоксическим, антиоксидантным, нейропротекторным и нейрореабилитационным действием. Совокупность подобных видов активности позволяет отнести такие фармакологические средства к классу ноотропов, для которых поддержка процессов памяти, внимания и мышления, в сочетании с нейропротекторным действием, являются основными классификационными свойствами.

В настоящее время к классу ноотропных препаратов относятся производные пирролидона, препараты нейроаминокислот, производные витаминов, янтарной кислоты, препараты, содержащие нейропептиды и их аналоги, предшественники фосфолипидов, непрямые холиномиметики. Определенные перспективы в развитии ноотропных препаратов связывают с установлением роли этаноламинов как функциональных и структурных компонентов нейрональных мембран, а также агонистов рецепторов в ЦНС, в частности, к кислотам цикла трикарбоновых кислот – янтарной, фумаровой, альфа-кетоглутаровой. Потенциально перспективным веществом с нейропротекторным действием является диметиловый эфир фумаровой кислоты – диметилфумарат (ДМФ). В отношении ДМФ ведутся исследования его антиоксидантных свойств, а также предполагаемого нейропротекторного эффекта, что потенциально может являться терапией рассеянного склероза, инсультов, ЧМТ и других патологий ЦНС.

Целью литературного обзора было изучение возможности применения ДМФ при патологии центральной нервной системы и установления возможного механизма действия. При написании обзора литературы использовались следующие информационные базы: PubMed, Google Академия, Scopus.

В исследовании NaoYan и соавторов в 2021 показали, что ДМФ оказывает противовоспалительное и антиоксидантное действие через сигнальный путь NRF2/ARE/NF-*κ*B.

Антиоксидантный эффект ДМФ связан с влиянием на ядерный эритроидный фактор 2 типа (Nrf2). Механизм изучался на моделях лабораторных животных двух групп. У первой группы присутствовал ген, отвечающий за синтез Nrf2, а у второй он отсутствовал. В ходе исследования было выявлено, что ММФ, образующийся при расщеплении ДМФ, оказывает прямое влияние на Nrf2. Впоследствии Nrf2 перемещается в ядро и связывается с элементом антиоксидантного ответа (ARE). Последний вызывает индукцию экспрессии ряда цитопротекторных генов: NAD(P)H-хиноноксиредуктазу-1 (NQ01), сульфиредоксин-1, гемоксигеназу-1, супероксидисмутазу-1, γ-глутамилцистеинсинтетазу, тиоредоксинредуктазу-1, глутатион-S-трансферазу и другие. Увеличивается синтез внутринейронального антиоксидантного глутатиона, который может защищать нейрональные клетки от повреждения окислительного стресса. ДМФ привел к повышению синтеза антиоксидантных генов и белков, а значит, снижению количества очагов воспаления. У животных с мутацией генов, отвечающих за синтез фактора Nrf2, не произошло снижение очагов воспаления.

Кроме того было проведено исследование, направленное на подтверждение гипотезы о повышении экспрессии фактора Nrf2, который регулирует антиоксидантную защиту клеток. Исследование было направлено на нейропротекторные эффекты ДМФ посредством активации Nrf2-фактора в коре, стриатуме и промежуточном мозге. Было проведено моделирование инсульта с окклюзией средней мозговой артерии (СМА). 22 самца крыс Sprague-Dawley делили на 3 группы: группа, проходившая терапию ДМФ; группа, получавшая носитель; группа, получавшая плацебо. Лечение проводили ДМФ в дозе 15 мг/кг перорально два раза в день через желудочный зонд с 0-го по 14-й день. На 14 день крыс умерщвляли, оценка объема инфаркта проводилась стереологическим методом. Экспрессию Nrf2-фактора оценивали в коре, стриатуме и промежуточном мозге методом иммуногистохимии. По результатам анализа была отмечена позитивная динамика в отношении крыс, проходивших терапию ДМФ: «ДМФ индуцировал экспрессию Nrf2-фактора и оказывал нейропротекторные эффекты в различных областях головного мозга» [3].

В исследовании Xiaowen Hou и соавторов также было изучено влияние ДМФ при окклюзии средней мозговой артерии на 48 крысах самцах породы Sprague-Dawley. Их делили на 4 группы. ДМФ вводили в дозе 12,5 мг/мл перорально через желудочный зонд в течение 10 дней. После проведения тестов на ЦНС, гистологического анализа ткани головно-

го мозга, было установлено, что снизился уровень GSH/GSSG и T-AOC, была отмечена позитивная динамика в тестах водного лабиринта Морриса и челночное плаванье, более регулярное расположение нейронов и телец Ниссля, снижение количества UNEL-позитивных клеток и аутофагосом, более низкая экспрессия 4-HNE и более высокая экспрессия GCLM и NQO1 у крыс, которым вводился ДМФ по сравнению с крысами, не проходившим лечение после окклюзии средней мозговой артерии».

Таким образом, лечение ДМФ является перспективными при поражениях центральной нервной системы. ДМФ снижать уровень воспалительного процесса, способствует сохранению нервных тканей. Более подробное изучение механизма действия ДМФ при патологии ЦНС остается актуальным и требует дальнейшего исследования. Понимание механизма действия ДМФ поможет расширить спектр применения и обеспечить новую терапевтическую стратегию для патологии ЦНС.

Секция 4. Биотехнология: перспективные направления в медицине и фармации

Биотехнология сегодня – флагман современных научных дисциплин и фундаментальная основа для инновационных разработок от медицинских и фармацевтических разработок для генно-инженерных технологий. Биотехнологические методы все более интенсивно проникают в практику диагностики, профилактики и лечения различных заболеваний. Благодаря достижениям генной и клеточной инженерии наблюдается значительный прогресс в производстве высокоэффективных рекомбинантных препаратов, иммунобиологических препаратов, вакцин, моноклональных антител, энзимов, селективных аллергенов и реагентов для современных диагностических методов.

13 апреля 2022 года в рамках XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» состоялось заседание секции «Биотехнология: перспективные направления в медицине и фармации». Для участия в работе секции было подано 53 заявки молодых ученых. Доклады были заслушаны на первом (отборочном) этапе конференции в подразделениях СПХФУ – кафедры биотехнологии, микробиологии, НОЦ иммунобиотехнологии, НОЦ МКТ. По результатам отборочного этапа 15 докладчиков получили возможность выступить на втором этапе. Доклады представили студенты и аспиранты СПХФУ, а также представители сторонних учреждений, таких как Санкт-Петербургский НИИ вакцин и сывороток, компания БИОКАД, Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Ботанический институт им. В. Л. Комарова Российской Академии Наук.

Тематики докладов относились к оптимизации биотехнологических процессов, использованию в процессах генной инженерии малых интерферирующих РНК, продуктов биосинтеза микроорганизмов, изучению культурально-морфологических особенностей и биосинтетического потенциала новых штаммов базидиальных грибов, распространения инфекций, методов оценка негативного воздействия сточных вод, образующихся в процессе синтеза биологически активных веществ на окружающую среду и другим актуальным темам. Были затронуты такие актуальные темы, как клеточные модели, гетерологичные белки, биосинтез каллусной ткани, вторичные метаболиты биообъектов.

Все доклады были представлены на высоком уровне, темы были актуальны и глубоко проработаны, имели научную новизну и практическую значимость, вызвали живой интерес у членов жюри и слушателей. В состав жюри входили преподаватели СПХФУ, компании БИОКАД. В результате проведения заседания секции были присуждены призовые места следующим докладчикам:

I место – Подбор оптимального режима экстракции белков из фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, автор Руди Ричард Валерьевич – магистрант 1 года обучения, ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, руководитель – Глазова Н.В., канд. хим. наук, доцент. Победитель секции получил награду на пленарном заседании конференции 18 апреля 2022 года.

В рамках заседания секции с докладами выступили партнеры и спонсоры конференции: Ломкова Екатерина Александровна, к.фарм.н., директор департамента фармацевтической разработки генотерапевтических препаратов БИОКАД.

В сборнике материалов конференции в разделе секции «Биотехнология: перспективные направления в медицине и фармации» опубликованы 44 статьи как докладчиков, так и участвовавших в конференции без выступления с докладом. Мы выражаем благодарность всем участникам конференции, спикерам, спонсорам, членам экспертной комиссии, представителям СПХФУ и сторонних учреждений и надеемся на дальнейшее сотрудничество.

Модератор секции
Ольга Юрьевна Богданова,
и.о. директора НОЦ иммунобиотехнологии, доцент кафедры микробиологии
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, канд. биол. наук

УДК 61:615.038

ОБЗОРНЫЙ АНАЛИЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР В ТЕРАПИИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Агапова Ю.В., студ. 3 курса медицинского факультета,
Устинов С.А., студ. 3 курса медицинского факультета
Научный руководитель: **Уланова Т.В.**, к.м.н., доцент, зав. каф. фармакологии (ORCID: 0000-0003-1904-2692)
Обнинский институт атомной энергетики – филиал федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»,
249039, Калужская область, городской округ «Город Обнинск», город Обнинск, тер. Студгородок, д.1
E-mail: julia_agapova_3@mail.ru

Использование клеточных культур на основе клеток модифицированных химерных антигенным рецептором – это развивающаяся область, которая показала впечатляющие результаты в лечении онкологических заболеваний крови и принесла надежду неизлечимым пациентам. Успех в лечении солидных видов опухолей был менее выдающимся из-за наличия у последних иммунодепрессивного микроокружения. Современная наука и медицина провела тщательные исследования для преодоления данных препятствий. Рассмотрены основные пути решения данной проблемы и последние клинические достижения.

Ключевые слова: *клеточные культуры, CAR-NK-клетки, CAR-T-клетки, терапия онкологических заболеваний, химерный антигенный рецептор, CAR-T-клеточная терапия, онкология, иммунотерапия, адоптивная терапия.*

В настоящее время по всему миру остается весьма значимой проблема терапии онкологических заболеваний. Актуальность данного вопроса возросла в связи с ухудшением ранней диагностики онкологический заболеваний в связи с широким распространением коронавирусной инфекции (COVID-19). Были значительно ограничены возможности онкоскрининга, приостановлено проведение мероприятий диспансеризации определенных групп взрослого населения, увеличена нагрузка на систему оказания онкологической помощи в целом, что привело к снижению показателей заболеваемости злокачественными новообразованиями за счет выявляемости. В структуре смертности населения России злокачественные новообразования занимают второе место (13,6%; 2019 г. – 16,4%) после болезней системы кровообращения (43,9%; 2019 г. – 46,8%), опередив коронавирусную инфекцию, вызванную COVID-19 (6,8%). [1]

В настоящее время современная медицина использует множество видов лечения рака и одними из новейших из них является CAR-T-клеточная терапия и модифицированная CAR-NK-клеточная терапия.

CAR-T-клеточная терапия представляет собой инновационный метод лечения определенных типов онкологических заболеваний крови, при котором собственные лейкоциты пациента генетически программируются на уничтожение опухолевых клеток. Кроме того, на основе исследований получения CAR-T-клеток широко развивается получение модифицированных химерным антигеном CAR-NK-клеток. Данные технологии широко используются для лечения именно гематологических опухолей. В терапии солидных опухолей долгое время они были неэффективны в связи с наличием у них иммуносупрессивного микроокружение опухоли (Tumor Microenvironment TME). Чтобы преодолеть эти препятствия, были разработаны новые стратегии инженерии CAR-T-клеток, чтобы усилить распознавание опухоли, инфильтрацию и противораковую активность во враждебном TME.

Цель работы: предоставить обзор на международный опыт применения клеточной терапии различных видов солидных опухолей по данным литературных источников.

Задачи работы:

1. Теоретически изучить основные механизмы взаимодействия модифицированных клеток, экспрессирующими химерные антигенные рецепторы с онкологическими клетками.
2. Рассмотреть последние научные исследования и опыты применения CAR-клеточных технологий в терапии солидных опухолей.
3. Выявить преимущества использования той или иной клеточной культуры (Т-клеточной или NK-клеточной).

Клеточная иммунотерапия, также известная как адоптивная клеточная терапия, представляет собой инновационный подход к лечению, направленный на использование иммунной системы организма для уничтожения опухоли. Клеточная иммунотерапия может быть применена различными способами. Например, терапия активируемыми лимфокинами киллерами (LAK) и терапия инфильтрирующими опухоль лимфоцитами (TIL) используют аутологичные моноциты периферической крови или естественные опухолевые инфильтрирующие Т-клетки, активированные и увеличенные до больших количеств ex vivo, а затем вводимые тем же больным онкологией. Однако эти негенетически модифицированные клетки LAK или TIL продемонстрировали лишь скромную пользу в клинических исследованиях. [2] Для лучшего распознавания и уничтожения опухолевых клеток иммунные клетки, включая Т-клетки, NK-клетки, γδТ-клетки, NKT-клетки и даже макрофаги. Наибольшую эффективность и соответственно распространение получили клетки модифицированные химерным антигеном. В 2017 году Управление по контролю за продуктами и лекарствами (FDA) США одобрило нацеленную на CD19 терапию CAR-T-клетками, что стало важной вехой в разработке генетически модифицированных клеточных методов лечения опухолей и вызвало большой интерес к разработке CAR-NK-клеток для иммунотерапии онкологии.

Начнем рассмотрение основных механизмов взаимодействия модифицированных клеток, экспрессирующими химерные антигенные рецепторы с онкологическими клетками. Сегодня CAR – это рекомбинантный рецептор, обеспечивающий как специфичность взаимодействия, так и активацию Т-лимфоцитов. CAR распознает мишень с помощью внеклеточного домена – одноцепочечного вариабельного фрагмента антитела (single-chain variable fragment, scFv), отвечающего за специфичность узнавания антигена. Активацию Т-клеток, пролиферацию и созревание эффекторных функций обеспечивает внутриклеточный сигнальный домен, состоящий из ζ-цепи CD3 и дополнительных сигнальных доменов, заимствованных у костимуляторных рецепторов, – как правило, CD28 или 4-1BB (CD137). [3]

После того, как модифицированные клетки ввели в организм пациента, CAR-t-клетка узнает своего «врага» при помощи внеклеточной части CAR и сразу же его убивает. Преимущество заключается в том, что это может происходить многократно: уничтожив одну мишень, CAR-T-клетка не выходит из строя и продолжает передвигаться по организму в поисках следующей.

К сожалению, CAR-T-клеточная терапия имеет недостатки, которые можно проследить в сравнении с CAR-NK-клеточной терапией. Во-первых, NK-клетки можно забирать у донора, что имеет важное значение при лимфопении у онкологического больного. Это связано с тем, что НК-клетки, в отличие от Т-клеток не имеют TCR, соответственно не будет развиваться реакция трансплантат против хозяина. Из этого следует, что применять их можно довольно широко и нет необходимости в персонализированном и специфичном для пациента продукте, который мешает современной терапии CAR-T-клетками. Во-вторых, синдром высвобождения цитокинов и нейротоксичность с меньшей вероятностью возникают при иммунотерапии CAR-NK-клетками из-за другого спектра секретируемых цитокинов: активированные NK-клетки обычно продуцируют IFN-γ и GM-CSF, тогда как CAR-T-клетки преимущественно индуцируют цитокины, такие как IL-1a, IL-1ra, IL-2, IL-2ra, IL-6, TNF-α, MCP-1, IL-8, IL-10 и IL-15 , которые в значительной степени связаны с цитокиновым штормом и тяжелой нейротоксичностью. В-третьих, помимо уничтожения клеток-мишеней опухоли CAR-зависимым способом, CAR-NK-клетки потенциально могут уничтожать раковые клетки CAR-независимым способом. CAR-NK-клетки все еще обладают своей естественной цитотоксической активностью против опухолевых клеток [4] и могут быть активированы с помощью CAR-независимого механизма, такого как NCRS, NKG2D, костимулирующего рецептора DNAM-1 (CD226) и некоторых активирующих KIRS (KIR2DS1, KIR2DS4 и KIR2DL4). Более того, NK-клетки могут элиминировать опухолевые клетки посредством CD16-опосредованной антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. Таким образом, CAR-модифицированные NK-клетки могут быть способны эффективно уничтожать гетерогенную опухоль, в которой некоторые опухолевые клетки не экспрессируют антиген, нацеленный на CAR, с помощью как CAR-зависимых, так и NK-клеточных рецепторов, зависимых механизмов. Кроме того, использование NK-клеток в качестве носителей CAR открывает уникальную возможность применения CAR-технологии в терапии Т-клеточных лейкозов и лимфом. И действительно, использование с этой целью CAR-T-клеток сопряжено с рядом серьезных ограничений, включая присутствие мишеней CAR-T на самих CAR-T и вероятность непреднамеренной трансдукции CAR-кассетой перерожденных Т-клеток, что, в свою очередь, может делать такие клетки резистентными к уничтожению CAR-T-клетками. [5]

Итак, CAR-клеточные технологии хорошо зарекомендовали себя в лечении «жидких» опухолей-онкологических заболеваний системы крови. В настоящее время широко ведутся исследования по преодолению иммуносупрессивного микроокружения опухоли и терапии солидных опухолей. Разработано и предложено достаточное количество путей преодоления TME. Наиболее очевидным представляется решение вводить CAR-клетки не внутривенно, а локально – в опухоль или в область, из которой опухоль была удалена хирургически. Действительно, в некоторых работах были продемонстрированы преимущества такого подхода. [6] Однако в другом исследовании было показано, что инъекции CAR-T-клеток в полость после удаления глиобластомы не предотвращают образования отдаленных метастазов в спинном мозге, в то время как инъекции в желудочек, откуда клетки попадают в спинномозговую жидкость, приводит к полному исчезновению уже возникших метастазов.[7] Следующая проблема по проникновению CAR-клеток в микроокружение опухоли – несогласованность в хемокинах, выделяемых опухолью и рецепторов для хемокинов на иммунологически модифицированных клетках. Обеспечить миграцию к опухоли эффективных CAR-T-клеток можно с помощью экспрессии в них рецепторов к хемокинам, выделяемых опухолями. В двух исследованиях авторы экспрессировали на CAR-клетках CCR-2b – субъединицу рецептора CCR-2, синтезируемого обычно многими опухолями. В одном исследовании эффективность хоуминга CAR-T-клеток по направлению к нейробластоме увеличилась.[8] В другом исследовании аналогичного эффекта удалось добиться в исследованиях со злокачественной плевральной мезотелиомой мышей. [9] В обоих случаях рост эффективности хоуминга сопровождался ростом противоопухолевой активности CAR-T-клеток. В дальнейшем ученые столкнулись с проблемой подавления противоопухолевой активности Т-лимфоцитов в TME с помощью супрессорных факторов, таких как Tregs, MDSC, ассоциированных с опухолью макрофагов, цитокины и растворимых факторов, связанных с иммуносупрессией (TGF-β и ИЛ-10). Решение данной проблемы заключалось в таргетинге на те клетки, вырабатывающие данные ингибиторные цитокины и на сами ингибирующие клетки. Чаще всего такими клетками выступали макрофаги, ассоциированные с опухолью (TAMs). На сегодняшний день различные терапевтические стратегии, нацеленные на TAMS, уже были протестированы в доклинических исследованиях и клинических испытаниях. [10] Иммунотерапевтические стратегии, ориентированные на макрофаги, направлены либо на истощение, либо на реполяризацию TAMs. Кроме того, для проникновения в солидную опухоль CAR-T-клетки одновременно с опухолевым антигеном нацеливают на белки стромальных опухолевых клеток (cancer-associated fibroblasts – CAFs).

Итак, мы выяснили, что современная наука теоретически нашла множество путей преодоления иммуносупрессивного микроокружения опухоли, путей доставки эффективных CAR-клеток к трансформированным клеткам солидных опу-

холей. Конечно, это направление только развивается, и, к счастью, уже есть первые клинические результаты. В данное время интенсивно исследуется пути терапии рака поджелудочной железы. Используют как CAR-T-клетки, так и CAR-NK-клетки, которые представляют наибольший потенциал в будущих исследованиях. В одном исследованиях [11] CAR-NK-92-клетки второго поколения против ROBO1 вводили в качестве примера пациенту с раком поджелудочной железы с метастазами в печень. Пациента лечили еженедельными системными инфузиями и внутриопухолевыми инъекциями в метастазы печени. Стабильное заболевание было достигнуто в течение 5 месяцев, и единственным зарегистрированным осложнением была лихорадка после инфузии. Эти многообещающие результаты привели к началу следующих фаз клинических испытаний. В другом клиническом исследовании фазы 1 изучалась клетка CAR NK-92 второго поколения, направленная против MUC1 и PD-1(положительны при раке поджелудочной железы, легкого, яичников). Из 13 человек у 9 было стабильное заболевание, у 1 было прогрессирующее заболевание, а остальные 3 были исключены из исследования. [12] Во время испытания не было выявлено никаких серьезных побочных действий. Это указывает на то, что аллогенные CAR-NK-клетки должны стать предметом дальнейших клинических испытаний.

Что касается терапии рака яичников, клинические эффекты CAR-NK-клеток, нацеленных на мезотелин (MSLN), при раке яичников не оценивались. В исследовании были сконструированы клетки CAR NK-92, нацеленные на MSLN и CD19 (MSLN- и CD19-CAR NK). NK-клетки MSLN-CAR специфически убивали MSLN-положительные клетки рака яичников (OVCAR-3 и SK-OV-3), а не MSLN-отрицательные клетки (SK-HEP-1) in vitro.[13]

Рак легких является причиной смертности, связанной с раком, номер один. Соответственно, предложение технологий клеточных культур в терапии онкологических заболеваний легких было значительным. В одном исследовании было показано, что одна из мишеней рака легкого, MSLN, экспрессируется в 69% случаев аденокарциномы легкого. У каждого пятого пациента с аденокарциномой сильно экспрессируется MSLN, при этом экспрессия MSLN не обнаруживается в нормальной легочной ткани [14], следовательно не возникает респираторного дистресс-синдрома. Терапия CAR-T-клетками MSLN снижала опухолевую нагрузку на доклинических моделях мышей. [15]

Опухоли предстательной железы также являются одними из распространенных онкологических заболеваний среди мужчин. Нацеливание CAR-клеток происходит на один из наиболее распространенных антигенов рака предстательной железы – простатспецифический мембранный антиген (PSMA). В мышиной модели рака предстательной железы, построенной из клеток PC3, Ма и др. [16] сравнили эффективность CAR-T-клеток первого и второго поколений, нацеленных на PSMA, и нормальных Т-клеток. Они обнаружили, что 75% (6/8) из группы CAR-T второго поколения достигли полной ремиссии, что значительно превосходит CAR-T первого поколения (1/8) и нормальные Т-клетки (0/8).

Заключение

Таким образом, предоставлен обзор на международный опыт применения клеточной терапии различных видов солидных опухолей по данным различных литературных источников. В заключении хотелось бы сказать, что клеточные культуры, как технологии в терапии онкологических заболеваний, являются очень перспективной отраслью развития современной науки онкологии. Последние научные исследования и опыты применения CAR-клеточных технологий показали, что это терапия солидных опухолей при помощи клеток, модифицированными химерными антигенными рецепторами возможна. Также стоит отметить, что использование клеточных культур требует усовершенствования и внимательного контроля за генами, против которых синтезируют CAR-рецепторы, так как многие эти гены экспрессированны и на нормальных клетках. В будущем, после всех доработок, данная технология, в особенности CAR-NK-клеточная, станет рутинной, как любят клиницисты – «всегда под рукой» и лечение онкологии будет заключаться в одном сеансе инфузии.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.29.49 Онкология
76.31.29 Клиническая фармакология
76.03.55 Медицинская иммунология

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена − филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. 252 с.

2. Weber J.S. At the bedside: adoptive cell therapy for melanoma-clinical development // J Leukoc Biol. 2014. Vol. 95(6). P. 875–882

3. Павлова А.А., Масчан М.А., Пономарев В.Б. Адоптивная иммунотерапия генетически модифицированными Т-лимфоцитами, экспрессирующими химерные антигенные рецепторы // Онкогематология. 2017. Т.12(1) . С.17-32. DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-1-17-32

4. Oei V, Siernicka M, Graczyk-Jarzynka A. Intrinsic Functional Potential of NK-Cell subsets constrains retargeting driven by chimeric antigen receptors // Cancer Immunol Res. 2018. Vol. 6(4). P. 467–480.

5. Комбинированная терапия рака на основе онколитической виротерапии и таргетной car t/nk-клеточной иммунотерапии / Г. В. Кочнева [и др.] // Молекулярная биология. 2020. Т. 54. N 1. С. 3-16. DOI: 10.31857/S0026898420010103

6. Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cell therapy generates potent and long-lasting CD4-dependent tumor immunity / P.S. Adusumilli [et al.] // Sci. Transl. Med. 2014.Vol. 6(261). P. 261ra151. doi: 10.1126/scitranslmed.3010162.

7. Regression of glioblastoma after chimeric antigen receptor T-cell therapy / C.E. Brown [et al.] // N Engl J Med. 2016. Vol. 375(26). P. 2561–9. doi: 10.1056/NEJMoa1610497.

8. Enhanced tumor traffi cking of GD2 chimeric antigen receptor T cells by expression of the chemokine receptor CCR2b / J.A. Craddock [et al.] // J. Immunother. 2010. Vol. 33(8). P. 780–8. doi: 10.1097/CJI.0b013e3181ee6675.

9. Expression of a functional CCR2 receptor enhances tumor localization and tumor eradication by retargeted human T cells expressing a mesothelin-specifi c chimeric antibody receptor / E.K. Moon [et al.] // Clin. Cancer Res. 2011. Vol. 17(14). P. 4719–30. doi: 10.1158/1078- 0432.CCR-11-0351

10. Tumor-Associated macrophages: potential therapeutic strategies and future prospects in cancer / C. Li [et al.] // J Immunother Cancer. 2021. Vol. 9(1). P. e001341. doi: 10.1136/jitc-2020-001341

11. Robo1-specific chimeric antigen receptor natural killer cell therapy for pancreatic ductal adenocarcinoma with liver metastasis / C. Li [et al.] // J. Cancer Res. Ther. 2020. Vol. 16(2). P. 393–396. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_190_20.

12. Abstract A014: phase I clinical trial with PD-1/MUC1 CAR-pNK92 immunotherapy / Q. Li [et al.] // Cancer Immunol. Res. 2019. Vol. 7. P. A014. DOI:10.1158/2326-6074.CRICIMTEATIAACR18-A014

13. Use of chi meric antigen receptor NK-92 cells to target mesothelin in ovarian cancer / Bihui Caoa [et al.] // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2020. Vol. 524(1). P. 96-102. doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.01.053

14. Mesothelin overexpression is a marker of tumor aggressiveness and is associated with reduced recurrence-free and overall survival in early-stage lung adenocarcinoma / S.S. Kachala [et al.] // Clin Cancer Res. 2014. Vol. 20(4). P. 1020-1028. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1862

15. Control of large, established tumor xenografts with genetically retargeted human T cells containing CD28 and CD137 domains / C. Carpenito [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. 2009. Vol. 106(9). P. 3360-5. doi:10.1073/pnas.0813101106

16. Advanced generation anti-prostate specific membrane antigen designer T Cells for prostate cancer immunotherapy / Q. Ma [et al.] // Prostate. 2014. Vol. 74(3). P. 286–296. doi: 10.1002/pros.22749

SUMMARY

REVIEW OF THE USE OF CELL CULTURES IN THE TREATMENT OF ONCOLOGICAL DISEASES

Agapova J.V., 3rd year student of the Faculty of Medicine
Ustinov S.A., 3rd year student of the Faculty of Medicine
Scientific supervisor: **Ulanova T.V**. – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor,
Head of the Department of Pharmacology
(ORCID: 0000-0003-1904-2692)
Obninsk Institute of Atomic Energy – branch of the Federal State Autonomous Educational Institution of
Higher Education "National Research Nuclear University "MEPhI",
249039, Kaluga region, Obninsk City district, Obninsk, ter. Campus, d. 1
E-mail: julia_agapova_3@mail.ru

The use of cell cultures based on chimeric antigen receptor modified cells is a developing field that has shown impressive results in the treatment of blood cancer and brought hope to incurable patients. Success in the treatment of solid types of tumors was less outstanding due to the presence of immunosuppressive microenvironment in the latter. Modern science and medicine have conducted thorough research to overcome these obstacles. The main ways of solving this problem and the latest clinical achievements are considered.

Keywords: *cell cultures, CAR-NK cells, CAR-T cells, cancer therapy, chimeric antigen receptor, CAR-T cell therapy, oncology, immunotherapy, adoptive therapy.*

REFERENCES

1. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O. Malignant neoplasms in Russia in 2020 (morbidity and mortality). Moscow: P.A. Herzen Institute of Medical Research – Branch of the Federal State Budgetary Institution «NMIC of Radiology» of the Ministry of Health of Russia, 2021. 252 p. (In Russian)

2. Weber J.S. At the bedside: adoptive cell therapy for melanoma-clinical development // J Leukoc Biol. 2014. Vol. 95(6). P. 875–882

3. Pavlova A.A., Maschan M.A., Ponomarev V.B. Adoptive immunotherapy with genetically modified T-lymphocytes expressing chimeric antigenic receptors // Oncohematology. 2017. Vol.12(1). P. 17-32. (In Russian) DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-1-17-32

4. Oei V, Siernicka M, Graczyk-Jarzynka A. Intrinsic Functional Potential of NK-Cell subsets constrains retargeting driven by chimeric antigen receptors // Cancer Immunol Res. 2018. Vol. 6(4). P. 467–480.

5. Combination of Oncolytic Virotherapy and CAR T/NK Cell Therapy for the Treatment of Cancer / G. V. Kochneva [et al.] // Molecular Biology. 2020. Vol. 54(1) P. 3-16. (In Russian) DOI: 10.31857/S0026898420010103

6. Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cell therapy generates potent and long-lasting CD4-dependent tumor immunity / P.S. Adusumilli [et al.] // Sci. Transl. Med. 2014.Vol. 6(261). P. 261ra151. doi: 10.1126/scitranslmed.3010162.

7. Regression of glioblastoma after chimeric antigen receptor T-cell therapy / C.E. Brown [et al.] // N Engl J Med. 2016. Vol. 375(26). P. 2561–9. doi: 10.1056/NEJMoa1610497.

8. Enhanced tumor traffi cking of GD2 chimeric antigen receptor T cells by expression of the chemokine receptor CCR2b / J.A. Craddock [et al.] // J. Immunother. 2010. Vol. 33(8). P. 780–8. doi: 10.1097/CJI.0b013e3181ee6675.

9. Expression of a functional CCR2 receptor enhances tumor localization and tumor eradication by retargeted human T cells expressing a mesothelin-specifi c chimeric antibody receptor / E.K. Moon [et al.] // Clin. Cancer Res. 2011. Vol. 17(14). P. 4719–30. doi: 10.1158/1078- 0432.CCR-11-0351

10. Tumor-Associated macrophages: potential therapeutic strategies and future prospects in cancer / C. Li [et al.] // J Immunother Cancer. 2021. Vol. 9(1). P. e001341. doi: 10.1136/jitc-2020-001341

11. Robo1-specific chimeric antigen receptor natural killer cell therapy for pancreatic ductal adenocarcinoma with liver metastasis / C. Li [et al.] // J. Cancer Res. Ther. 2020. Vol. 16(2). P. 393–396. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_190_20.

12. Abstract A014: phase I clinical trial with PD-1/MUC1 CAR-pNK92 immunotherapy / Q. Li [et al.] // Cancer Immunol. Res. 2019. Vol. 7. P. A014. DOI:10.1158/2326-6074.CRICIMTEATIAACR18-A014

13. Use of chi meric antigen receptor NK-92 cells to target mesothelin in ovarian cancer / Bihui Caoa [et al.] // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2020. Vol. 524(1). P. 96-102. doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.01.053

14. Mesothelin overexpression is a marker of tumor aggressiveness and is associated with reduced recurrence-free and overall survival in early-stage lung adenocarcinoma / S.S. Kachala [et al.] // Clin Cancer Res. 2014. Vol. 20(4). P. 1020-1028. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1862

15. Control of large, established tumor xenografts with genetically retargeted human T cells containing CD28 and CD137 domains / C. Carpenito [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. 2009. Vol. 106(9). P. 3360-5. doi:10.1073/pnas.0813101106

16. Advanced generation anti-prostate specific membrane antigen designer T Cells for prostate cancer immunotherapy / Q. Ma [et al.] // Prostate. 2014. Vol. 74(3). P. 286–296. doi: 10.1002/pros.22749

УДК 579:579.6

ПОИСК НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ С ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫМ ДЕЙСТВИЕМ: КРАТКИЙ БИБЛИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ (2016-2022)

Ахметчанова А.В., студ. 2 курса, **Замкина М.А.**, студ. 2 курса
Руководитель: **Тихомирова О.М.**, канд. биол. наук, доц. кафедры микробиологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anastasiya.ahmetchanova@spcpu.ru

Проведен библиометрический анализ мировых исследований в области поиска новых веществ, активных в отношении *Mycobacterium tuberculosis* за период 2016-2022 гг. Анализировали публикации, включенные в базу данных Scopus, в научную электронную библиотеку eLibrary, локализованные на платформе электронных журналов J-STAGE и в журналах American Society for Microbiology. Всего было проанализировано 1099 оригинальных статей, содержащих экспериментальные данные, подтверждающие *in vitro* активность исследуемых соединений в отношении *Mycobacterium tuberculosis*. Показано, что наиболее интенсивный поиск новых веществ противотуберкулезного действия проводятся в странах Азии, прежде всего, в Индии (43,49% статей) и Китае (10,37% статей). 42,15% исследований выполнены при международной кооперации. 73,03% статей были посвящены веществам, полученным химическим синтезом, 17,4% – растительным метаболитам, 3,2% – метаболитам микроорганизмов, 6,4% – веществам иного природного происхождения.

Ключевые слова: *противотуберкулезная активность, антимикобактериальная активность, Mycobacterium tuberculosis, библиометрический обзор, международные исследования, современные направления.*

Туберкулез ежегодно поражает около 9,4 млн человек в мире и является социальной проблемой, особенно в слаборазвитых странах. Несмотря на то, что уровень смертности от туберкулеза снизился на 47% с 1990 г., он до сих пор уносит до 1,5 млн жизней каждый год [1]. Несмотря на наличие в арсенале современной медицины нескольких десятков химиотерапевтических средств с противотуберкулезной активностью, лечение зачастую оказывается неэффективным, что связано с возникновением и распространением лекарственно-устойчивых штаммов основного возбудителя – *Mycobacterium tuberculosis* [2]. Этот факт побуждает исследователей всего мира искать новые, оригинальные вещества, обладающие противотуберкулезным действием, а также модифицировать уже изученные.

Целью данной работы был библиометрический анализ результатов исследования новых антимикобактериальных соединений, которые были опубликованы в период с 2016 года по февраль 2022 года и включены в ведущие базы научных публикаций. Задачами исследования были поиск публикаций в указанной области, обработка полученных данных и определение наиболее перспективных направлений исследования оригинальных противотуберкулезных средств.

Материалы и методы

При поиске публикаций использовались такие базы данных научных статей, как Scopus (https://www.scopus.com), научная электронная библиотека eLibrary (https://elibrary.ru/defaultx.asp), платформа электронных журналов J-STAGE (Япония) (https://www.jstage.jst.go.jp), а также журналы American Society for Microbiology (https://asm.org). Использовали расширенный поиск по наличию в ключевых словах, названии статьи или ее аннотации слов *противотуберкулезный* ИЛИ

антимикобактериальный (для публикаций на русском языке), *antimycobacterial* OR *antitubercular* для публикаций на английском языке. Отбирались статьи, опубликованные и включенные в базы с 2016 года по февраль 2022 года. В ходе работы рассматривались только оригинальные статьи, в которых были представлены результаты оценки антимикробной активности соединений в отношении тест-штаммов *Mycobacterium tuberculosis* (как *in vitro*, так и *in vivo*); результаты исследований только *in silico* не рассматривались. Обзорные статьи не включены в данное исследование. Также не учитывались статьи, в которых в качестве тест-микробов использовали микобактерии других видов и статьи, в которых было установлено отсутствие противотуберкулезной активности или крайне низкая активность. При рассмотрении найденных статей отмечали страны и научные учреждения, в которых были проведены исследования. Вещества, получение и активность которых описывались в статьях, разделяли по их происхождению на оригинальные вещества, полученные химическим синтезом; соединения, полученные химической модификацией уже известных противомикробных средств; вещества растительного происхождения; микробные метаболиты (биологически активные вещества бактериального и грибного происхождения); соединения иного природного происхождения.

Результаты и обсуждение

В научной электронной библиотеке eLibrary, на платформе электронных журналов J-STAGE (Япония) и в журналах Американского микробиологического общества (American Society for Microbiology) были найдены 1099 подходящих под условия выбора научных статей. Первичный поиск в базе научных статей Scopus дал 12138 статей, в результате появилась очевидная необходимость установления дополнительных ограничений. Поскольку многие публикации содержали результаты тестирования антимикобактериальной активности в отношении не *M. tuberculosis*, а других видов рода *Mycobacterium*, чувствительность которых к противотуберкулезным средствам может существенно отличаться, было задано условие поиска AND *tuberculosis*, однако даже после этого число отобранных статей превышало 9000. Анализ названий и содержания первых 200 статей показал, что необходимы дополнительные фильтры, отсекающие многочисленные публикации с результатами клинических, эпидемиологических, иммунологических, генетических исследований, в которых не упоминалось о тестировании новых соединений на антимикобактериальную активность, а также обзоры научной литературы, ответы на комментарии читателей, клинические рекомендации. Поскольку в подавляющем большинстве случаев уже из названия статей было ясно, что для нашего библиометрического исследования они не подходят, были добавлены новые ограничения (AND NOT) по словам: *diagnosis, plasma, serum, hypoxia, cough, sputum, bacteriemia, mortality, regimen, injury, compliance, severity, biocompatibility, case, care, epidemiology, transmission, immunity, immune, macrophage, microbiome, microbiota, first-line, gene, amplification, sequencing, review, brief , reply, guidelines.* После установки указанных ограничений осталось 1989 статей, из которых при дальнейшем просмотре часть также была отсеяна. Всего в нашем исследовании из выбранных баз научных публикаций были рассмотрены 1099 статей.

В выбранных для анализа библиометрических данных статьях обращали внимание на страну (или страны), ученые которых принимали участие в исследовании. Было установлено, что в поиске новых противотуберкулезных агентов участвовали ученые из 45 стран, при этом лидирующие позиции по количеству публикаций занимают Индия (28,40%), США (8,80%), Китай (6,8%), Бразилия (3,9%) Великобритания (3,6%) и Франция (4,91%). Существенный вклад также внесли Россия, ЮАР, ФРГ, Италия, Турция, Испания, Польша, Сингапур, Саудовская Аравия, Египет (рис. 1).

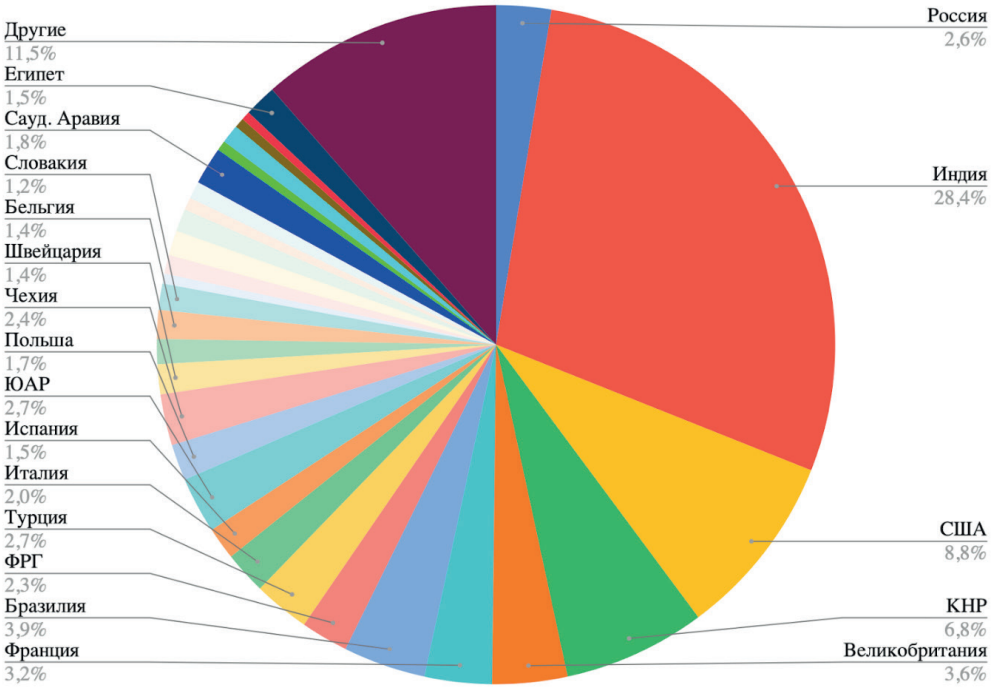


Рисунок 1. Участие ученых разных стран в исследованиях новых противотуберкулезных средств в период с 2016 года по февраль 2022 года (по числу публикаций)

Отдельно следует отметить тот факт, что в 42,15% случаев исследования проводились научными коллективами, включающими представителей разных государств (рис. 2). Однако даже если они проводились на национальном уровне, в значительной части из них участвовали ученые, работающие в двух и более разных научных учреждениях. Такая высокая степень кооперации между учеными, странами и континентами не удивительна. Это объясняется глобальной заинтересованностью человечества в поиске лекарства против туберкулеза. Такое сотрудничество обеспечивает высокую точность получаемых результатов, передачу опыта и наработок друг другу, что лишь способствует дальнейшему развитию и открытию новых и более эффективных веществ.

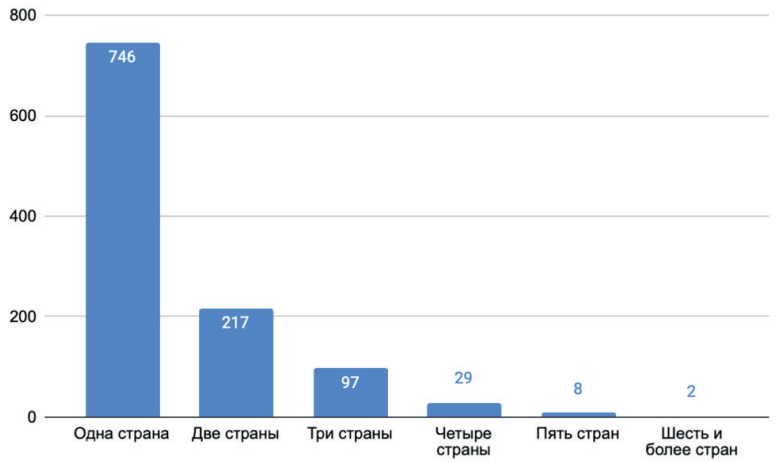


Рисунок 2. Кооперация между учеными разных стран в исследовании новых противотуберкулезных средств

Наиболее распространенным направлением, описанным в рассмотренных нами научных статьях, оказался химический синтез новых соединений. Полученные оригинальные вещества при оценке их ингибирующей активности в отношении *M. tuberculosis* показывали весьма разные результаты, многие уступали по эффективности уже известным противотуберкулезным средствам первого и второго ряда, однако для части из них было показано преимущество в плане более низкой токсичности. Тем не менее часть исследованных соединений показали очень убедительные результаты в подавлении жизнедеятельности не только лабораторного тест-штамма возбудителя, но и в отношении клинических изолятов возбудителя туберкулеза, включая имеющих широкую или множественную устойчивость к уже используемым в клинической практике противотуберкулезным средствам. Активность некоторых из них была сравнима или даже превосходила активность рифампицина, этамбутола, изониазида.

Наиболее часто в качестве потенциальных противотуберкулезных агентов исследовались азотсодержание гетероциклические соединения – производные 1,2,4- и 1,2,3-триазола, пиразолина, индола (прежде всего, производные изатина), бензимидазола, бензо[d]триазола, хинолина, 1,3,4-оксадиазола, тиазина, пиримидина, пиперазина, тиазолидина (особенно производные роданина). Также много публикаций посвящено получению производных хромена (бензопирана), фурана, тиофена, адамантана. Много веществ с противомикобактериальной активностью выявлено среди производных семикарбазона, гидразинов, оснований Шиффа. Опубликованы сведения и о перспективных гетероциклических соединениях, содержащих в кольце атомы бора и фосфора. Единичные исследования посвящены использованию наночастиц для борьбы с микобактериями (если это не наночастицы, полученные на основе уже известных противотуберкулезных средств).

Кроме того, часть исследований была посвящена получению и исследованию противотуберкулезной активности новых производных уже известных соединений с антимикробным действием, прежде всего фторхинолонов, изониазида, сульфаниламидов, нитроимидазолов, цефалоспоринов, бедаквилина, оксазолидинонов. Более 100 статей включали описание получения гибридных молекул (например, гатифлоксацина, 1,2,3-триазола и изатина).

В более чем 15 публикациях было отражено получение и исследование комплексных соединений различных органических соединений с ионами металлов (Cu(II), Mn (II), Ru(II), Fe(II) и других).

Следующей выделенной нами группой новых соединений, обладающих противотуберкулезной активностью, являются вещества растительного происхождения. Исходя из проанализированных статей, можно сделать вывод о том, что наибольший интерес для исследователей представляют растения семейства Астровые (Сложноцветные), Имбирные, Рутовые, Яснотковые (Губоцветные), Зонтичные и Орхидные. Исследования свидетельствуют о проявлении выделенными веществами (алкалоидами, дитерпенами, сесквитерпенами, флавоноидами и рядом других соединений) высокой активности против лекарственно-устойчивых штаммов *M. tuberculosis*. Некоторые изученные статьи не содержали информацию не о конкретных веществах, оказывающих противотуберкулезное действие, а об активности суммарных экстрактов (спиртовых, гексановых, хлороформных и других извлечений с использованием органических растворителей разной полярности). Антимикобактериальная активность отмечена для метаболитов представителей семеств *Acanthaceae, Alangiaceae, Amaranthaceae, Annonaceae, Apiaceae, Geraniaceae, Apocynaceae, Arecaceae, Asteraceae, Alliaceae, Asphodelaceae,Dilleniaceae, Basellaceae, Buddlejaceae, Calophyllaceae, Commelinaceae, Combretaceae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Meliaceae, Menisper-*

maceae, Moraceae, Myrtaceae, Metteniusaceae, Ochnaceae, Orchidaceae, Piperaceae, Polygonaceae, Rhamnaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Santalaceae, Solanaceae, Siparunaceae, Urticaceae, Verbenaceae, Zingiberaceae, Zygophyllaceae, Ericaceae, а также бурых морских водорослей.

Значительно меньше оказалось научных статей, в которых приведены исследования метаболитов лишайников (были публикации по метаболитам родов *Usnea*, *Psoroma*, *Alectoria*), а также веществ животного происхождения (биологически активных веществ морских губок, дефензинов человека).

Следует отметить, что новых соединений микробного происхождения с противотуберкулезной активностью было также описано относительно немного, однако среди них есть и новые антибиотики (иламицин F морской актинобактерии *Streptomyces atratus*, дефероксамин-B *Streptomyces pilosus*, нуклеозидный антибиотик капурамицин *S. griseus*, дистамицин *S. netropsis*, мадурастатин B3 *Nocardiopsis sp.*, пептиды *Amycolatopsis sp.*, метаболиты *Nonomuraea sp.* и ряд других). Описано подавление жизнедеятельности возбудителя туберкулеза индол-3-пропионовой кислотой, синтезируемой представителями нормобиоты кишечника человека, а также бактериоцинами *Enterococcus faecalis* и *Pediococcus acidilactici*. Противотуберкулезное действие было показано и для ряда биологически активных соединений, продуцируемых грибами – дитерпеноидов, цитохалазина, поликетидов *Diaporthe longicolla*, глиотоксина, 12,13-дигидрокси-фумитреморгина C и гевольевой кислоты *Aspergillus sp.*, энниатина A1 *Fusarium sp.*, фенольных соединений *Pleurotus ostereatus*, тритерпеноида ланостана *Macrolepiota procera*, гисполона *Phellinus linteus* и *P. igniarius*, метаболитов *Penicillium citrinum*, *Pseudorobillarda sp.*, *Xylomelasma sp.* и др.

Соотношение числа научных публикаций о противотуберкулезных соединениях различного происхождения, включенных в наше исследование, представлено на рисунке 3.

Рисунок 3. Происхождение новых соединений с антимикобактериальным действием, исследованных с 2016 по 2022 г.

Заключение

Проведенное краткое библиометрическое исследование оригинальных научных статей, посвященных поиску и исследованию новых противотуберкулезных средств в 2016-2022 годах, показывает, что это направление является крайне актуальным, а сами новые вещества – очень востребованными. Показано, что научная кооперация между исследовательскими центрами внутри государства, а также международная кооперация приводит к получению результатов, которые могут внести вклад в решение проблемы борьбы с резистентными штаммами возбудителя туберкулеза. При этом направления проведимых исследований в этой области достаточно разнообразны – это и химический синтез новых соединений различной природы, и выделение веществ из объектов живой природы. Наиболее перспективен поиск новых противотуберкулезных агентов среди гетероциклических соединений, содержащие как минимум один атом азота в кольце. Интерес представляют и биологически активные вещества растений, особенно из семейств *Asteraceae*, *Zingiberaceae*, *Rutaceae*, *Lamiaceae*, *Apiaceae* и *Orchidaceae* (алкалоиды и компоненты эфирных масел), некоторые из которых проявляли активность в отношении лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий. Есть перспективы и для поиска активных метаболитов грибов и бактерий, особенно актинобактерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO. Global tuberculosis report 2018. Geneva: World Health Organization, 2018. [Internet] URL :https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/9789240013131 (дата обращения 03.03.2022).

2. Наумов А.Г., Павлунин А.В. Механизмы развития лекарственной устойчивости Mycobacterium tuberculosis: есть ли шанс победить? // Пульмонология. 2021. Т. 31. N 1. С.100-108. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-1-100-108.

SUMMARY

SEARCH FOR NEW COMPOUNDS WITH ANTITUBERCULAR ACTION: A BRIEF BIBLIOMETRIC ANALYSIS (2016-2022)

Akhmetchanova A.V., 2nd year student, **Zamkina M.A.**, 2nd year student
Academic advice: **Tikhomirova O.M.**, PhD, assistant professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: anastasiya.ahmetchanova@spcpu.ru

We conducted a bibliometric analysis of world research from 2016 to 2022 in the field of searching for new substances that are active against Mycobacterium tuberculosis. We analyzed scientific reports in the Scopus database, in the electronic library eLibrary, localized on the platform of electronic journals J-STAGE and journals of the American Society for Microbiology. A total of 1099 original articles containing experimental data confirming the in vitro or in vivo activity of the studied compounds against Mycobacterium tuberculosis were analyzed. It is shown that the most intensive search for new anti-tuberculosis substances is carried out in Asian countries, primarily in India (43,49% of articles) and China (10,37% of articles). 42,15% of the research were carried out with international cooperation. 73.0% of the articles was about substances obtained by chemical synthesis, 17,4% – plant metabolites, 3,2% – metabolites of microorganisms, 6.4% – substances of other natural origin.

Keywords: *antitubercular activity, antimycobacterial activity, Mycobacterium tuberculosis, bibliometric review, international research, current trend.*

REFERENCES

1. WHO. Global tuberculosis report 2018. Geneva: World Health Organization, 2018. [Internet] URL :https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/9789240013131 (дата обращения 03.03.2022).
2. Naumov A.G., Pavlunin A.V. Mechanisms of development of medicine stability Mycobacterium tuberculosis: is there a chance to win? // Pulmonologia 2021. Vol. 31(1). P.100-108. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-1-100-108 [in Russian].

УДК 57:579.6

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММА АКТИНОМИЦЕТА *STREPTOMYCES SPP.* 5б

Бабичева А.В., студ. 4 курса
Руководители: **Ананьева Е.П.**, канд. биол. наук, доцент, зав. каф. микробиологии,
Антонова И.А., ведущий инженер ФГБНУ ВИЗР
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: alena.babicheva@spcpu.ru

Проведен скрининг антагонистической активности нескольких штаммов высших актинобактерий рода *Streptomyces*. Выполнен поддерживающий отбор штамма-продуцента биологически активных веществ, изучена его макро- и микроморфология. Проанализирована антифунгальная активность исходного штамма и его вариантов в отношении ряда фитопатогенных грибов. По результатам исследований отобрано 3 наиболее активных варианта.

Ключевые слова: *актиномицеты, высшие актинобактерии, микроорганизмы, моноклоны, фитопатогенные грибы, антифунгальная активность, антагонистическая активность, поддерживающий отбор.*

Высшие актинобактерии (актиномицеты) обладают спектром свойств, из которых главным для их практического применения является антагонистическая активность, связанная с образованием биологически активных веществ, в том числе антибиотиков, широко использующихся в медицинской практике. Данные бактерии имеют хорошо развитый мицелий, похожий на мицелий грибов, но с более тонкими гифами. Однако данные микроорганизмы являются прокариотами, так как они не имеют оформленного ядра и обладают всеми характеристиками бактериальной клетки.

Развитие резистентности различных микроорганизмов к антимикробным препаратам уже не первый год вызывает опасение и признается серьезной проблемой, требующей принятия действенных мер, начиная с информирования населения об опасности бесконтрольного применения антибиотиков, заканчивая поиском новых продуцентов антимикробных соединений. Поэтому поиск и изучение новых штаммов микроорганизмов-продуцентов биологически активных веществ с антимикробным действием является актуальным на сегодняшний день. Большинство антибиотиков синтезируется именно актиномицетами, в особенности, из рода *Streptomyces* [1]. Объектом данной работы является штамм *Streptomyces spp.* 5б, предоставленный ФГБНУ ВИЗР, длительно хранившийся в лаборатории микробиологической за-

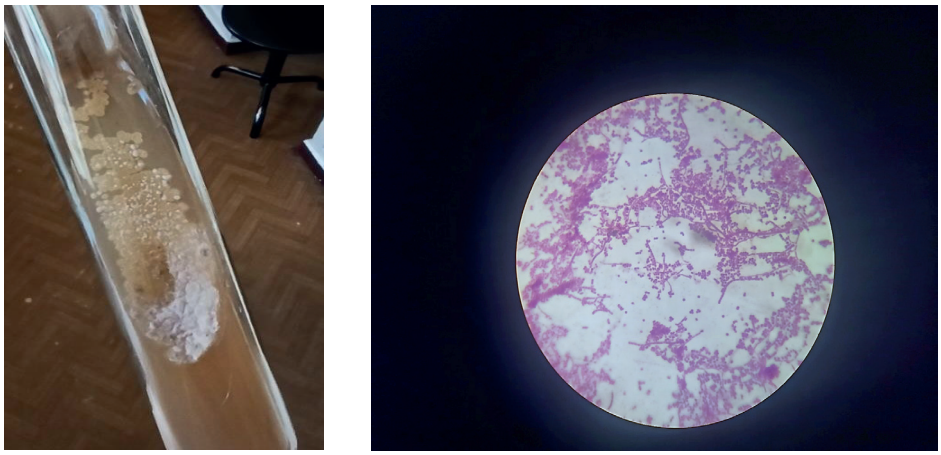
щиты растений. Первоначально было доказано, что данный штамм проявлял антифунгальную активность в отношении фитопатогенных грибов. По этой причине, его вторичные метаболиты могут быть использованы для биологической защиты растений. В то же время, не исключается вероятность действия синтезируемых актиномицетом антимикробных веществ на микроорганизмы, способные вызывать заболевания человека.

Целью работы является изучение нового штамма-продуцента биологически активных веществ с антагонистической активностью. Поскольку длительное хранение культуры без поддерживающего отбора может привести к потере активности, главными задачами работы является выявление активности культуры после долгосрочного хранения в лиофилизированном состоянии и последующий поддерживающий отбор штамма-продуцента *Streptomyces spp.* 5б.

Материалы и методы

Первоначально в работе использовали 6 штаммов актиномицетов, которые были выделены из почвы: 1, 2, 3, 4, 5а, 5б. Для восстановления культуры из лиофилизированного состояния были произведены пересевы на плотную питательную среду. В работе использовали специальную среду 19/6 для выращивания актиномицетов, содержащую крахмал, кукурузный экстракт, $CaCO_3$, $(NH_4)_2SO_4$, NaCl и агар-агар.

Были изучены особенности макроморфологии штаммов 1, 2, 3, 4, 5а, 5б. Они отличаются цветом колоний, интенсивностью образования воздушного мицелия, поверхностью колоний, характером краев колоний. Так, например, штаммы 1 и 3 не образуют воздушного мицелия, причем один имеет светло бежевый субстратный мицелий, а другой отличается белым цветом. Штамм 5б, представленный ниже на рисунке, образует мощный белый воздушный мицелий, субстратный мицелий имеет бежевый цвет, колонии выпуклые, шероховатые, с неровными краями.



а) б)

Рисунок 1. Штамм 5б: а) на плотной питательной среде; б) микроскопия

Для первичного определения антифунгальной активности применяли метод дисков. В качестве тест-объектов использовали 9 фитопатогенных грибов: *Fusarium redolens, Sclerotinia sclerotiorum, Fusarium graminearum, Alternaria solani, Fusarium oxysporum, Fusarium sporotrichioides, Rhizoctonia solani, Spheropsis malorum, Fusarium culmorum.* Диски с культурой актиномицета, диаметром 5-6 мм, вырезали из чашек Петри с плотной питательной средой, на которой данная культура была выращена в течение 4 суток при 30 °С. Для роста фитопатогенных грибов использовали среду Чапека. На чашку Петри со средой Чапека, предварительно разделенную на несколько зон, наносили суспензию гриба и распределяли ее шпателем. Затем вырезанный диск накладывали на поверхность питательной среды культурой вниз. Чашки оставляли при комнатной температуре на 7 суток и затем отмечали размер зон задержки роста тест-объектов.

Одним из этапов поддерживающего отбора штамма-продуцента является моноклоновый рассев с целью получения изолированных колоний. Необходимость данной операции обусловлена вероятностью потери активности культуры при длительном хранении и многократных пересевах [2]. Это происходит из-за того, что при росте на богатых искусственных питательных средах у микроорганизма нет необходимости синтезировать вторичные метаболиты, определяющие его выживание в естественных условиях. Изолированные колонии (моноклоны) получаются путем посева истощающим штрихом на плотную питательную среду. На рисунке ниже представлена одна из вариаций выполнения данного посева, в результате которого отдельные споры (клетки) актиномицета разбрасываются вдоль горизонтальных штрихов с последующим образованием изолированных моноклонов. Для дальнейшего опыта отбирали 20 моноклонов.

Рисунок 2. Получение изолированных моноклонов *Streptomyces spp.* 5б

В процессе исследования использовали моноклоны, которые образовали выраженный воздушный мицелий при росте в течение 4 суток при 30 °С. Для определения антифунгальной активности моноклоновых изолятов применяли метод наложения петли, который в отличие от метода дисков позволяет минимизировать вероятность контаминации, уменьшить время проведения опыта и расход питательных сред. На заранее подготовленные чашки Петри со средой Чапека наносили суспензию грибов и распределяли шпателем. Далее микробиологической петлей отбирали небольшое количество моноклоновой культуры и накладывали на соответствующий участок в чашке Петри. Посевы культивировали в течение 7 суток при комнатной температуре.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты первичного определения антифунгальной активности с использованием метода дисков наглядно изображены на рисунке.

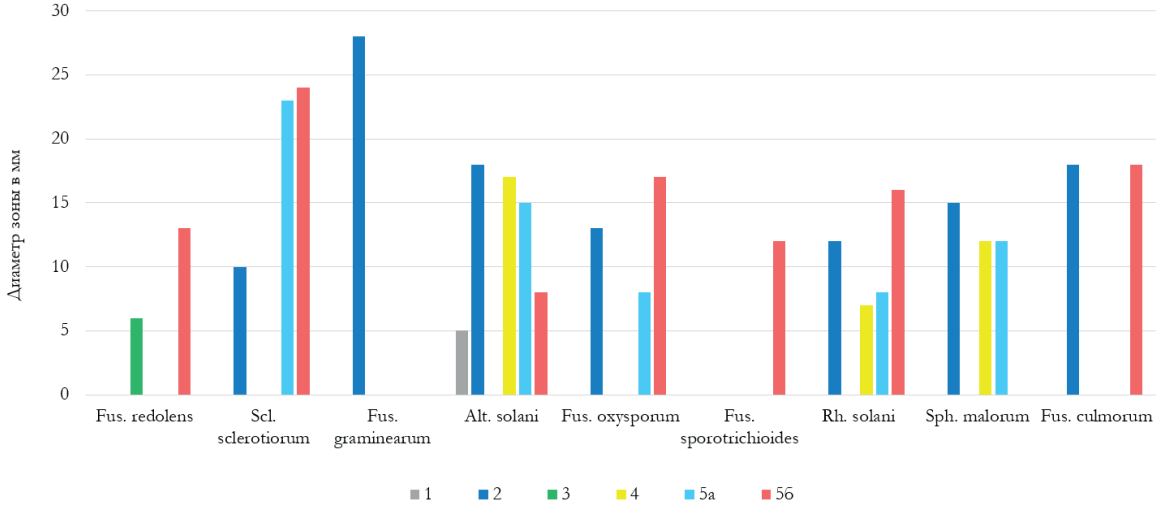


Рисунок 3. Противогрибковая активность исследуемых штаммов актиномицетов

Данная диаграмма отражает уровень активности исследуемых штаммов. Штаммы 1 и 3 проявили активность только в отношении 1 гриба, что указывает на узкий спектр их антифунгального действия. Наиболее активными оказались штаммы 2 и 5б, ингибирующие рост 78% грибов.

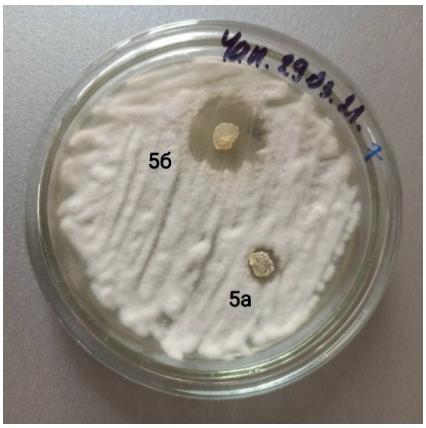


Рисунок 4. Антифунгальная активность штамма 5б по сравнению со штаммом 5а в отношении *Rhizoctonia solani*

В результате первичного скрининга на основании размеров зон подавления роста тест-объектов был выявлен наиболее активный штамм 5б, обладающий широким спектром противогрибкового действия. Из него были получены изолированные моноклоны.

Представленные в таблице 14 вариантов прошли проверку на антифунгальную активность с использованием метода наложения петли. В качестве тест-объектов были выбраны грибы с различной степенью чувствительности к изучаемой культуре: *Alternaria solani, Fusarium oxysporum, Fusarium culmorum, Fusarium graminearum* (рис. 3). Итог данного исследования представлен в таблице.

Таблица – Противогрибковая активность моноклоновых изолятов *Streptomyces spp.* 5б

№ клона	Fus. graminearum	Fus. culmorum	Fus.oxysporum	Alt. solani
1	-	+	-	10
3	+	-	+	-
4	+	-	+	3
5	-	+	-	-
8	-	+	+	7
9	+	+	-	10
10	+	+	-	-
11	-	+	-	4
13	+	-	+	4
14	+	-	+	8
15	+	+	-	+
16	-	+	-	-
18	-	+	+	4
20	-	+	+	3

Примечание: цифрой указан размер зоны подавления роста гриба, мм;
«+» – подавление образования воздушного мицелия;
«-» – отсутствие активности.

Проведенный опыт позволяет наглядно увидеть различия в активности среди популяции клеток. В основном, наблюдалась тенденция подавления воздушного мицелия актиномицетом. Однако, некоторые моноклоновые культуры подавляли рост гриба *Alternaria solani* с образованием выраженных зон лизиса. Это подтверждает результаты предварительных экспериментов о том, что данный тест-объект является самым чувствительным из представленных. Следует отметить появление активности у 50% моноклоновых культур по отношению к грибу *Fusarium graminearum*, при том, что исходный штамм 5б не проявлял антифунгального действия в отношении данного гриба. Для последующего изучения были отобраны 3 моноклоновые культуры: 8, 9, 14.

Заключение

Таким образом, в данной работе была произведена оценка активности штаммов, находящихся в лиофилизированном состоянии в процессе длительного хранения. В результате поддерживающего отбора были выделены варианты с широким спектром антифунгальной активности, которые будут использоваться для получения экстракта вторичных метаболитов с выраженной активностью в отношении фитопатогенных грибов.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.09.39 Микроорганизмы-продуценты для биотехнологического производств
68.03.07 Сельскохозяйственная микробиология

ЛИТЕРАТУРА

1. Поляк Ю.М., Сухаревич В.И. Выделение почвенных стрептомицетов – продуцентов комплексных антибиотиков // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. 2017. Т.13. N 1. С. 18-24.

2. Утепешева А.А Подбор методов длительного хранения коллекционных штаммов микромицетов и дрожжей // Экобиотех. 2019. Т.2. N 4. С. 494-498.

SUMMARY

ANTIFUNGAL ACTIVITY RESEARCH OF THE *STREPTOMYCES SPP.* STRAIN 5 B

Babicheva A.V., 4th year student
Academic advisors: **Ananyeva E.P.**, candidate of biological sciences, senior lecturer, head of the department of microbiology,
Antonova I.A., leading engineer of FGBNU VIZR
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: alena.babicheva@spcpu.ru

Screening of antagonistic activity of several strains of higher actinobacteria of the genus *Streptomyces* was carried out. Supportive selection of the strain-producer of biologically active substances was carried out, its macro- and micromorphology was studied. The antifungal activity of the original strain and its variants against a number of phytopathogenic fungi was analyzed. Based on the research results, 3 most active options were selected.

Keywords: *actinomycetes, higher actinobacteria, microorganisms, monoclones, phytopathogenic fungi, antifungal activity, antagonistic activity, maintenance selection*

REFERENCES

1. Polyak Y.M., Sukharevich V.I. Isolation of soil streptomycetes producing complex antibiotics // Y.A. Ovchinnikov bulletin of biotechnology and physical and chemical biology. 2017. Vol. 13(1). P. 18-24.
2. Utepesheva A.A. Selection of methods for long-term storage of collection strains of micromycetes and yeasts // Ecobiotech. 2019. Vol. 2(4). P. 494-498.

УДК 57:577

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА БЕЛКА И РОСТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ *CICHORIUM ENDIVIA*

Боровиков Д.Н., студ. 2 курса, **Федоренко М.Д.**, студ. 1 курса
Руководитель: **Орехова И.А.**, канд.биол.наук, доцент кафедры биохимии
(ResearcherID: I-5507-2018 ORCCID ID 0000-0003-4078-7023)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: dmitrij.borovikov@spcpu.ru

В данной работе проведён сбор и анализ литературных данных по следующим направлениям: методы работы с культурой ткани; метод определения активности фермента каталазы; функционирование антиоксидантной системы растений.

Проведены исследования активности фермента каталазы, изучена белок-синтезирующая активность клеточной культуры цикория обыкновенного на разных этапах роста, изучена ростовая активность каллусной культуры в процессе культивирования.

Изучены некоторые характеристики основного метаболизма для последующего определения их взаимосвязи с обменом вторичных метаболитов.

Ключевые слова: *антиоксидантная активность, культура клеток растений, каллусная культура, активность фермента каталаза, определение концентрации белка, цикорий обыкновенный, Cichorium endivia, параметры роста каллуса.*

Комплексное воздействие на организм человека и безопасность при использовании лекарственных средств растительного происхождения в целях лечения и профилактики обширного круга заболеваний обусловили увеличение интереса населения к растительным лекарственным препаратам. Наметившийся в последние десятилетия растущий спрос на природные растительные компоненты стал движущей силой процессов поиска и разностороннего исследования новых источников получения биологически активных веществ. Одним из таких перспективных источников являются культивируемые ткани растений.

В промышленной технологии лекарственных средств используют клеточные культуры, как источники вторичных метаболитов. Объектом данного исследования была выбрана культура ткани *Cichorium endivia*.

Цикорий – многолетнее травянистое растение, распространённое в Европейской части России, на Кавказе и в Сибири. Растение давно выращивают в культуре и используют в качестве сырья в современной медицине для создания фитопрепаратов. Цикорий обладает вяжущим, желчегонным действием, усиливает перистальтику кишечника, регулирует липидный обмен. Замечены так же полезные свойства экстракта цикория, как антибактериального средства. Цикорий имеет потенциал в качестве сырья для производства лекарственных средств, обладающих гепатопротекторным эффектом. [1]

В народной медицине используется трава и корни растения. Из цикория изготавливают суррогат кофе и тонизирующие напитки.

Цикорий традиционно используется в качестве пищевой добавки в связи с высоким содержанием таких вторичных метаболитов, как инулин, рутин, фенолкарбоновые кислоты, а именно: кофейная, цикориевая, глицирризиновая, хинная и др.

В работе планируется исследование зависимости накопления вторичных метаболитов от показателей основного белкового обмена на разных стадиях роста и развития клеточной культуры, а также активности ферментов антиоксидантной системы супероксиддизмутазы (СОД) и каталазы, которая отражает жизнеспособность и стабильность каллусной ткани в процессе культивирования.

Целью работы является определение общей белоксинтезирующей активности, анализ активности каталазы и исследование скорости накопления биомассы в каллусной культуре *Cichorium endivia.*

В соответствии с целью, были поставлены задачи:

1. Определить активность фермента каталазы, на разных этапах роста культуры *Cichorium endivia*
2. Получить динамику изменения белоксинтезирующей активности культуры *Cichorium endivia.*
3. Изучить скорость роста каллусной культуры *Cichorium endivia*, в процессе культивирования

Исследования проводились на кафедре биохимии совместно с лабораторией культуры ткани Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета.

Материалы и методы

Исследование проводилось с использованием каллусной ткани *Cichorium endivia*, полученной в лаборатории культуры ткани (кафедра промышленной технологии лекарственных препаратов СПХФУ). Семена проращивали на питательной среде, затем проростки черенковали и выращивали на среде, содержащей 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту, получали первичный каллус, затем проводили пересадки на среде Мурасиге-Скуга (МС). Каллусная культура *Cichorium endivia* выращивается при температуре 27±1 ^{0}С и относительной влажности воздуха 60-70% в темноте. Цикл культивирования составляет 30±2 суток. [2]

В ходе подготовки проводили гомогенизацию навески растительной культуры *Cichorium endivia* в ступке с добавлением 0,1 М калий-фосфатного буфера с pH 7,4 в соотношении 2:1. Для определения содержания белка и активности каталазы использовали супернатант, который получали центрифугированием в течение 40 минут при температуре +4°С на 30 130 g в центрифуге Eppendorf 5430R.

Определение активности фермента каталазы. Способ определения активности каталазы основан на перекись-разрушающих способностях этого фермента. При реакции перекиси водорода с молибдатом аммония образуются пероксимолибдаты, окрашенные в жёлтый цвет. При определении активности используется супернатант *Cichorium endivia.* Для определения активности каталазы в опытные кюветы вносят 2 мл H_2O_2 и 0,1 мл супернатанта цикория, разведённого в 10 раз в калий-фосфатном буфере с pH=7,4. В контрольную пробу вносят 2 мл H_2O и супернатант цикория, разведённый в 10 раз в калий-фосфатном буфере с pH=7,4. В холостую пробу вносится 2 мл H_2O_2. Через 10 минут во все кюветы вносят 1 мл 4% раствора молибдата аммония, что придаёт раствору перекиси жёлтую окраску, и измеряют интенсивность окраски раствора на спектрометре LEKI ss 1207. Перед замером в холостую пробу добавляют 0,1 мл супернатанта. Активность каталазы высчитывается по разнице окраски в холостой и в опытной пробах. [3]

Активность фермента каталазы (мкМ H_2O_2 / л*мин) рассчитывается по формуле:

$$A = \frac{(E_k - E_o) \cdot 3{,}1 \cdot 1 \cdot 10^6}{22{,}2 \cdot 10^6 \cdot 10}, \text{ где}$$

А – активность фермента в мкМ H_2O_2 / л*мин;
E_k – оптическая плотность холостой пробы,
E_o – оптическая плотность опытной пробы;
3,1 – конечный объём пробы;
1 – фактор разведения,
10^6 – коэффициент пересчёта Моль в мкМоль (в числителе);
$22{,}2 \times 10^6$ – коэффициент молярной экстинкции H_2O_2;
10 – время инкубации в минутах.

Определение концентрации белка в супернатанте клеточной культуры. Определение концентрации белка осуществляется по методу Лоури. Метод основан на образовании окрашенных продуктов ароматических аминокислот с реактивом Фолина в сочетании с биуретовой реакцией на пептидные связи. Метод характеризуется высокой чувствительностью (10-100 мкг белка в пробе). Подготовительным этапом является составление калибровочного графика с использование растворов с известными концентрациями белка. Для того, чтобы значения оптической плотности проб не выходили за пределы существующего калибровочного графика используется 3 параллели с разведением в 50 раз. Реактив С готовится путём смешивания 25 мл реактива А (2 % раствора углекислого натрия в 0,1 М едком натрии) с 0,5 мл реактива В (1 мл 2 % виннокислого натрия и 1 мл 1 % сернокислой меди). К 1 мл каждой из разбавленных задач добавляется 5 мл реактива С, и через 10 мин добавляется 0,5 мл реактива Фолина. (Контроль – 1мл H_2O, 5 мл реактива С, 0,5 мл реактива Фолина). Ещё через 30 минут измеряется оптическая плотность полученных растворов (750 нм). Используя калибровочный график определяется концентрация белка в растворе (мкг/мл). [4]

Определение показателей роста биомассы каллусной культуры. Для исследования характеристик роста культуры измерялись значения прироста сырой и сухой биомассы на протяжении всего цикла культивирования.

Результаты и обсуждение

Ферменты антиоксидантной системы защищают растение от окислительного стресса. Повышение активности антиоксидантных ферментов может свидетельствовать об увеличении количества активных форм кислорода (АФК). АФК образуются в процессе метаболизма, повышение активности антиоксидантных ферментов – это признак ускорения процессов метаболизма или реакции на внешнее воздействие. [5]

Измерение активности фермента каталазы проводилось с 5 по 30 сутки каждые 5 суток. Для оценки динамики активности, определяли дифференциалы полученных величин, и первое значение на графике условно приведено к нулю. Ниже представлен график зависимости скорости изменения активности фермента каталазы от возраста культивируемых клеток (рис. 1).

Рисунок 1. Динамика изменения активности каталазы в процессе культивирования ткани *Cichorium endivia*

С 5 по 15 сутки наблюдали увеличение активности каталазы, что свидетельствует о повышении количества АФК, возможно, связанных с высокой интенсивностью процессов метаболизма в культивируемых клетках растения. С 20 по 25 сутки наблюдается существенное снижение активности фермента, после чего процесс снижения замедляется. С 25 по 30 сутки изменение активности незначительно.

Результаты измерения содержания белка в культуре и исследования белоксинтезирующей активности представлены на графике зависимости скорости изменения концентрации общего белка от возраста каллусной ткани (рис. 2).

На начальном этапе культивирования наблюдается значительное увеличение концентрации общего белка в клетках каллуса. После 5 суток концентрация белка постепенно линейно снижается. С 20 по 25 сутки снижение концентрации замедляется, значение параметра переходит в стационарную фазу. Предполагается, что в этот период все процессы метаболизма замедляются.

Рисунок 2. Зависимость скорости изменения концентрации белка от возраста культивируемой ткани *Cichorium endivia*

Увеличение массы каллуса происходило в соответствии с закономерностями, выявленными для культивируемых клеток растений, но характеризовалось специфическими временными особенностями. Для оценки ростовых характеристик более показательным является параметр накопления биомассы, изменяющийся в зависимости от стадии роста культуры в пределах тридцатидневного цикла. Ниже представлен график зависимости скорости роста от возраста каллусной ткани (рис. 3).

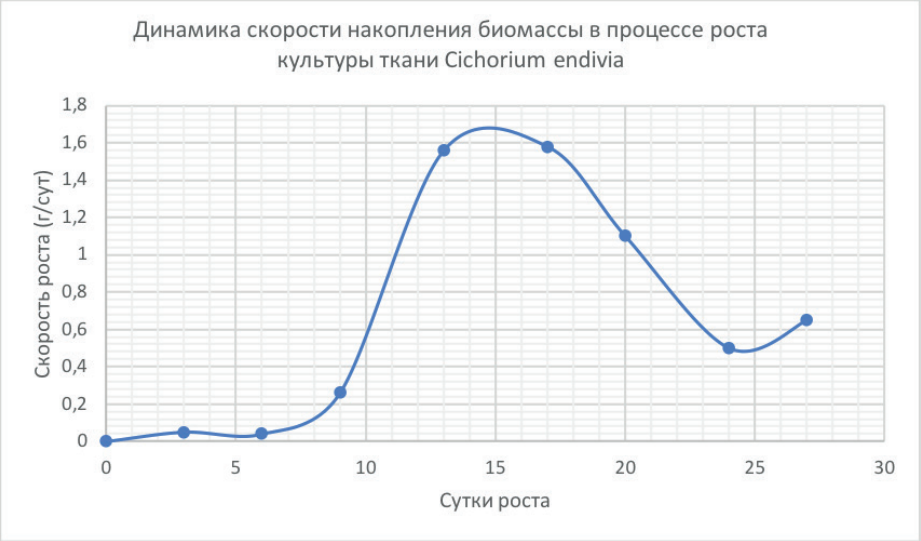


Рисунок 3. Зависимость скорости роста сырой биомассы от суток роста

С 1 по 6 сутки наблюдалась лаг-фаза, после чего скорость роста культуры заметно увеличивалась. Наибольшая скорость роста наблюдался с 9 по 17 сутки (стадия линейного роста). С 20 по 27 сутки скорость роста значительно снижалась, культура находилась в фазе замедленного роста.

Выявлена очевидная корреляция динамики активности каталазы и накопления биомассы. Как уже говорилось ранее, активность антиоксидантных ферментов является показателем скорости метаболизма. Рост активности каталазы наблюдается с 5 по 20 сутки, а максимальная скорость увеличения биомассы с 9 по 20 сутки. В этот период происходит активное деление клеток и наблюдаются максимальные значения биохимических показателей отражающие статус и жизнеспособность культуры.

После 20 суток активность каталазы снижается, рост биомассы в этот период замедляется. Каллусная культура переходит в стационарную фазу.

Оценка содержания белка показала отсутствие корреляции между его накоплением и приростом биомассы. Рост концентрации белка наблюдался только в лаг-фазе. Такая динамика может быть связана с изменением ультраструктуры клетки в течении цикла роста. В лаг-фазе наблюдается утолщение клеточной стенки, рост активности аппарата Гольджи, появляются хорошо развитые каналы гранулярного эндоплазматического ретикулума и увеличивается количество рибосом. Все эти изменения свидетельствуют об активном синтезе конституционного белка. [6]

Заключение

В результате проведенной экспериментальной работы был выявлен ряд закономерностей, характеризующих функционирование клеток каллусной ткани *Cichorium endivia* в процессе культивирования. Были проведены исследования белоксинтезирующей активности, накопления сырой биомассы и активности фермента каталазы в процессе культивирования. Максимальные значения ростовых характеристик выявлены в возрасте с 10 по 20 сутки культивирования. В дальнейшем планируется проведение качественного и количественного анализа накопления вторичных метаболитов и оценка взаимосвязи между первичным и вторичным метаболизмом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hepatoprotective Activity of Cichorium endivia L. Extract and Its Chemical Constituents/ Chen C-J. [et al.] // Molecules. 2011. Vol. 16(11). P. 9049–66. doi: 10.3390/molecules16119049.

2. Некрасова Д.А., Пивоварова Н.С., Повыдыш М.Н. Перспективы использования технологии микроклонального размножения для введения в культуру цикория обыкновенного (Cichorium intybus L.) // Природные соединения и здоровье человека : сборник научных статей Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. Иркутск. 12.2020. С. 107-112.

3. Величка А.К., Соловьев В.Б., Генгин М.Т. Методы лабораторного определения общей перекись разрушающей активности ферментов растений // Известия пензенского ГПУ им. В.Г. Белинского. 2009. N 14(18). С. 44-48.

4. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193(1). P. 265-275

5 Signal role of reactive oxygen species during stress in plants. / V. D. Kreslavsky [et al.] // Plant physiology. 2012. Vol. 59(2). P. 163-178

6. Сальдимирова О.А., Круглова Н.Н. Особенности начальных этапов эмбриогенеза in vitrов каллусах пшеницы различного происхождения // Извесия РАН. Уфа. 2013. N 5. С. 565-573.

SUMMARY

FEATURES OF PROTEIN METABOLISM AND GROWTH PARAMETERS OF CICHORIUM ENDIVIA CALLUS CULTURE

Borovikov D.N., 2th year student, **Fedorenko M.D**., 1th year student.
Academic advise: **Orekhova I.A.**, candidate of biological sciences, docent
(ResearcherID: I-5507-2018 ORCCID ID 0000-0003-4078-7023)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: dmitrij.borovikov@spcpu.ru

Literature data was collected and analyzed in the following areas: methods of working with cultural tissue; method of enzyme catalase activity determination; antioxidant system functioning.

The dynamics of enzyme catalase activity and protein accumulation in the process of Cichorium endivia tissue culture growth has been investigated. The growth activity of the callus culture during cultivation was studied.

Some characteristics of the main metabolism have been studied for the subsequent determination of their relationship with the exchange of secondary metabolites.

Keywords: *antioxidant activity, plant cell culture, callus culture, catalase enzyme activity determination, protein accumulation determination, Cichorium endivia, callus growth parameters.*

REFERENCES

1. Hepatoprotective Activity of Cichorium endivia L. Extract and Its Chemical Constituents/ Chen C-J. [et al.]// Molecules. 2011. Vol. 16(11). P. 9049–66. doi: 10.3390/molecules16119049.

2. Nekrasova D.A., Pivovarova N.S., Povydysh M.N. Prospects of use technologies of microclonal reproduction for introduction in culture (Cichorium intybus L.) // Prirodnye soedinenija i zdorov'e cheloveka : sbornik nauchnyh statej Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii studentov i molodyh uchenyh s mezhdunarodnym uchastiem. Irkutsk. 12.2020. P. 107-112. (In Russian)

3. Velichko A.K., Solovev V.B., Gengin M.T. Methods of laboratory definition of the common peroxide of destroy- ing activity of enzymes of plants // Izv. Penz. gos. pedagog. univ. im.i v.G. Belinskogo. 2009. N 14(18). P. 44-48. (In Russian)

4. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193(1). P.265-275

5. Signal role of reactive oxygen species during stress in plants. / V. D. Kreslavsky [et al] // Plant physiology. 2012. Vol. 59(2). P. 163-178

6. Sal'dimirova O.A., Kruglova N.N. Properties of the Initial Stages of Embryoidogenesis in vitro in Wheat Calli of Various Origin // Izvesija RAN. Ufa. 2013. N 5. P. 565-573. (In Russian)

УДК 577.151.4

ДИЗАЙН, ПОЛУЧЕНИЕ И *IN VITRO* ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МАЛЫХ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ РНК (siRNA)

Бублик А.А., магистрант 2 года обучения[1]
Руководители: **Гершович П.М.**, канд. биол. наук. доц.[1], директор департамента разработки генотерапевтических препаратов[2]; **Надолинский А.А.**, директор департамента вычислительной биологии[2];
Маркова В.А.., канд. биол. наук., руководитель группы биоаналитики генотерапевтических препаратов[2];
Власова Е.В., научный сотрудник группы молекулярно-генетической инженерии[2]
[1]Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
[2] «БИОКАД» 198515, Санкт-Петербург, п. Стрельна, ул. Связи, д. 34 лит. а, Российская Федерация
E-mail: bublikaa@biocad.ru

Цель данного исследования заключается в разработке алгоритма подбора малых интерферирующих РНК (small interfering RNA, siRNA) для снижения экспрессии генов-мишеней. В ходе работы на основе разработанного алгоритма был осуществлен подбор siRNA для снижения экспрессии гена зеленого флуоресцентного белка (enhanced green fluorescent protein, EGFP). Подобранные последовательности siRNA были получены с химическими модификациями с целью снижения нецелевых эффектов РНК-интерференции. Была проведена оценка эффективности siRNA *in vitro* на полученной моноклональной клеточной линии mCHO-K1-S_EGFP+, конститутивно экспрессирующей EGFP.

Ключевые слова: *малая интерферирующая РНК, РНК-интерференция, нецелевые эффекты, трансфекция, проточная цитометрия, количественная ПЦР с обратной транскрипцией, моноклональность.*

Термин «малые интерферирующие РНК» (small interfering RNAs, siRNAs) был впервые введен Эльбашир (Elbashir SM) и соавторами в 2001 году для обозначения двуцепочечных некодирующих белок РНК длиной ~ 21–23 пар нуклеотидов с двумя-тремя неспаренными выступающими нуклеотидами на 3'-концах [1].

Малые интерферирующие РНК являются компонентами естественной для эукариот системы РНК-интерференции. Процесс РНК-интерференции заключается в посттранскрипционном сайленсинге генов, и основан на специфическом взаимодействии малых молекул РНК с матричной РНК целевого гена.

Механизм РНК-интерференции может быть использован за счет создания специфических синтетических малых интерферирующих РНК (siRNA) с целью регуляции экспрессии различных генов. Например, в лабораторной практике siRNA широко используются для исследования функций отдельных генов, оценки индивидуального вклада генов в различные процессы (например, цитокинез, апоптоз и дифференцировку клеток).

С момента открытия РНК-интерференции на практике были обнаружена и изучена взаимосвязь между структурой siRNA и эффективностью вызванного ими снижения экспрессии гена-мишени. Также было замечено, что не все последовательности, комплементарные участку мРНК гена-мишени, вызывают желаемый эффект РНК-интерференции. Подобные явления называют «нецелевыми эффектами» (off-target effects) и подразумевают образование стабильных пар оснований направляющей цепи siRNA с нецелевыми транскриптами мРНК.

В зависимости от целей использования siRNA возможны различные решения проблемы нецелевых взаимодействий: дизайн последовательности, снижение концентрации siRNA, использование пула siRNA с целью снижения выраженного эффекта от одного вида siRNA, химические модификации обеих цепей, усовершенствование систем доставки в целевые клетки [2].

Основным направлением в минимизации нецелевых эффектов является дизайн последовательности. Дизайн siRNA основан на определенных эмпирических правилах и предполагает подбор последовательности siRNA, которая будет обладать высокой специфичностью к определенному сайту мРНК гена-мишени, вызывая желаемый эффект РНК-интерференции, и с определенной вероятностью гарантировать отсутствие нецелевых взаимодействий с другими мРНК.

Актуальность разработки усовершенствованных алгоритмов подбора эффективных siRNA заключается в возможности использования siRNA как в лабораторной практике, так и в терапии различных заболеваний, таких как гепатит, метаболические и генетические нарушения из-за неправильного функционирования генов и их нерегулируемой экспрессии, различные виды злокачественных опухолей.

Наличие инструментов и алгоритма подбора специфических siRNA позволяет вносить любые изменения и получать новые последовательности siRNA по мере необходимости. В дальнейшем, на основе полученных последовательностей могут быть синтезированы siRNA для использования в лабораторной практике в том числе в разработке инновационных биологических лекарственных препаратов.

Целью данного исследования является разработка алгоритма подбора siRNA для эффективного снижения уровня экспрессии генов-мишеней.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Осуществить программную реализацию алгоритма подбора siRNA на языке Python с использованием редактора исходного кода Visual studio code;
2. Подобрать нуклеотидную последовательность, на основе которой будут синтезированы siRNA с химическими модификациями против гена EGFP;
3. Получить моноклональную клеточную линию на основе клеток CHO-K1-S, конститутивно экспрессирующую EGFP;
4. Провести оценку эффективности подобранных siRNA *in vitro*.

Материалы и методы

Клеточная культура. CHO-K1-S – это клеточная линия CHO-K1 (ATCC® CCL-61™), которая была адаптирована для возможности суспензионного роста. Культивирование проводили в адгезионном формате в культуральных флаконах для адгезии T-75 (Eppendorf, Германия) при +37 °C в атмосфере 5% CO_2. Состав полной питательной среды: ДМЕМ F12 (ПанЭко, Россия) 5% Fetal Bovine Serum (Thermo Fisher Scientific, США), Antibiotic-Antimycotic (100X) (Thermo Fisher Scientific, США), 2mM GlutaMAX™ Supplement (Thermo Fisher Scientific, США).

Основные работы с культурами проводились в боксе биологической безопасности класс II тип А2 БМБ-II-«Ламинарс-С»-1,2 (Neoteric Lamsystems, Россия). Пересев производили при достижении конфлюэнтности 80–90%. Для диссоциации использовали TripLe Express Enzyme 1X (Thermo Fisher Scientific, США). Для подсчета количества и оценки жизнеспособности клеток аликвоту полученной суспензии смешивали с 0,1 % раствором Trypan Blue (Thermo Fisher Scientific, США) в соотношении 1:1 и далее использовали счетчик-анализатор Countess II FL Automated Cell Counter (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции производителя. Посевные концентрации были в пределах 7000–10000 кл/см^2.

Трансфекция адгезионной клеточной культуры. За 24 часа производили посев клеток CHO-K1-S в культуральные 6-луночные адгезивный планшеты (TC treated) (Eppendorf, Германия) плотностью 20000 клеток/см^2. Трансфекцию клеток плазмидной ДНК проводили с помощью набора Lipofectamine 3000 Transfection kit (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции производителя. При трансфекции siRNA непосредственно после добавления трансфецирующей смеси клетки ставили в термошейкер +37 °C, 260 rpm, 10 минут.

Оценка экспрессии гена EGFP методом проточной цитометрии. Для проведения проточной цитометрии клетки CHO-K1-S снимали с культуральной поверхности как при пересеве, используя раствор Хенкса без фенолового красного (ПанЭко, Россия) для отмывки и получения суспензии клеток.

Клетки окрашивали йодидом пропидия (Propidium Iodide, PI) для оценки жизнеспособности клеток и гейтирования популяции живых клеток при анализе методом проточной цитометрии. Для этого добавляли 1 мкл водного раствора PI 1,0 мг/мл (Thermo Fisher Scientific, США) на 100 мкл суспензии с содержанием не более 3 x 10^6 клеток.

Исследование осуществляли на NovoCyte Advanteon Flow Cytometer V6B5R3 (Aglient Technologies, США) с использованием программного обеспечения NovoExpress®.

Измерение флуоресценции EGFP осуществлялось на определенной популяции клеток, для этого проводили соответствующее гейтирование: клетки должны быть нормального размера и гранулярности, одиночными и жизнеспособными. Гейт для детекции EGFP был выставлен с учетом аутофлуоресценции клеток CHO-K1-S неокрашенных и окрашенных PI.

При измерении флуоресценции EGFP и PI были установлены параметры согласно таблице 1.

Таблица 1 – Параметры для анализа методом проточной цитометрии

Excitation Laser	Detector		Fluorochrome	Height	Area
488 нм	Forward Scatter (FSC)	488/10	-	+	+
	Side Scatter (SSC)	488/10	-	+	+
	B530	530/30	EGFP	+	+
	B667	667/30	PI	+	+

Ставили следующие контроли клеток без экспрессии EGFP:

• клетки CHO-K1-S неокрашенные красителем PI (контроль аутофлуоресценции в каналах детекции и контроль количества событий в контрольной популяции клеток);

• клетки CHO-K1-S окрашенные красителем PI (контроль жизнеспособности).

При анализе результатов трансфекции линеаризованной плазмидной ДНК в качестве изотопического контроля использовались клетки CHO-K1-S трансфецированные линеаризованной плазмидой с EGFP окрашенные и неокрашенные PI (контроль проведения трансфекции и жизнеспособности клеток после трансфекции).

Обработка результатов была осуществлена с помощью Excel 2016.

Флуоресцентный сортинг клеток (FACS). Для получения моноклональной клеточной линии CHO-K1-S, стабильно экспрессирующей репортерный белок EGFP, использовали метод FACS (fluorescence-activated cell sorting/флуоресцентный сортинг клеток) на приборе SH800 Cell Sorter (Sony, Япония).

Культура клеток CHO-K1-S подвергалась трипсинизации с целью отделения от поверхности культурального пластика. Суспензия клеток объёмом 2 мл с концентрацией ~ 5 x 10^5 кл/мл переносилась в пробирки объемом 5 мл (Corning Inc., США) и загружалась в FACS сортер. В связи с тем, что в процессе FACS сортинга сохраняется достаточно высокий риск контаминации, в раствор Хенкса без фенолового красного и селективной питательной среды с пуромицином (10 мкг/мл) был добавлен трехкратный объем Antibiotic-Antimycotic (100X). Клетки были отсортированы в 96-луночные планшеты: по 1 клетке в 95 лунок, а в H12 – 100 клеток. В каждой лунке было по 200 мкл селективной питательной среды. Через 48 часов после FACS сортинга проводилась замена среды с содержанием 1xAntibiotic-Antimycotic (100X).

Количественная ПЦР с обратной транскрипцией (RT-qPCR). Для проведения RT-qPCR клеточную суспензию центрифугировали для получения клеточных осадков. Выделение РНК из осадка клеток производилось с помощью набора RNeasy plus mini kit (QIAGEN, США) согласно инструкции производителя. Далее осуществляли обработку РНК образцов ферментом DNase I (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции производителя. Измерение концентрации РНК в образцах с использованием спектрофотометра Nanodrop 8000 (Thermo Fisher Scientific, США).

Постановка RT-qPCR проводилась в 2 этапа с предварительным получением комплементарной ДНК (кДНК) с помощью реакции обратной транскрипции. Получение кДНК осуществляли с помощью набора SuperScript™ IV VILO™ Master Mix (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции производителя. В дальнейшем растворы плазмид для калибровочных кривых, растворы праймеров и необходимые реакционные смеси с использованием qPCRmix-HS HighROX (Евроген, Россия) переносились в 96 луночные планшеты. Анализ методом RT-qPCR проводился с использованием амплификатора Applied Biosystems StepOnePlus (Thermo Fisher Scientific, США). Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью Excel 2016.

Программная реализация алгоритма подбора siRNA. Для создания инструмента подбора последовательности siRNA использовалось следующее программное обеспечение: Python 3.9 и редактор исходного кода, написанного на Python (Visual studio code).

Результаты и обсуждение

На языке программирования Python был реализован алгоритм подбора siRNA, основанный на эмпирических правилах Ui-Tei [3], Reynolds [4] и Amarzguioui [5]. Также для минимизации нецелевых эффектов учитывается сайт связывания мРНК-мишени и температуру плавления дуплекса затравочной области siRNA (2–8 нуклеотид антисмысловой цепи) и мРНК-мишени. Разработанный алгоритм позволяет выдавать все возможные последовательности siRNA и их эффективность (0–100%) как показатель соответствия установленным критериям. Дополнительно к этому выводится последовательность гена для конструирования систем экспрессии малой шпилечной РНК (Short hairpin RNA, shRNA) – предшественника siRNA. Преимуществом систем экспрессии shRNA является возможность получения более выраженного и длительного снижения экспрессии генов.

С помощью разработанного алгоритма были подобраны последовательности siRNA против EGFP: siRNA1, siRNA2, siRNA3. На основе подобранных последовательностей были получены химически модифицированные siRNA. На смысловой цепи два концевых нуклеотида на 3'-конце представляют собой бициклическое производное аденина (Locked nucleic acid). На антисмысловой цепи на 5'-конце введена фосфатная группа.

В качестве *in vitro* модели для проверки эффективности siRNA была получена моноклональная линия на основе клеток CHO-K1-S, конститутивно экспрессирующая белок EGFP – mCHO-K1-S_EGFP+. Клетки CHO-K1-S трансфецировались линейным фрагментом плазмидной ДНК, содержащим ген устойчивости к пуромицину (PuroR) и ген, кодирующий EGFP. На 3 день был проведен анализ уровня экспрессии EGFP трансфекции методом проточной цитометрии, после чего клетки культивировали 7 дней с использованием селективной среды с гидрохлоридом пуромицина 10 мг/мл (Thermo Fisher Scientific, США).

После того как в культуре клеток было детектировано значительное увеличение клеток, экспрессирующих белок EGFP, был проведен **FACS сортинг**. Полученные моноклональные линии далее культивировали на селективной среде и периодически проверяли методом проточной цитометрии для подтверждения однородности популяции и стабильной экспрессии EGFP.

Оценка эффективности siRNA *in vitro* проводилась путем анализа уровня экспрессии белка EGFP на третий день после трансфекции моноклональной клеточной линии mCHO-K1-S_EGFP+ полученными siRNA1, siRNA2, siRNA3, а также положительным контролем siRNA+. Эксперимент был поставлен в трипликатах (три биологических повтора на трансфекцию каждой siRNA) Анализ экспрессии белка EGFP был проведен методом проточной цитометрии и количественной ПЦР с обратной транскрипцией (RT-qPCR).

С каждой лунки планшета был получен 1 мл суспензии клеток: 300 мкл на проточную цитометрию и 700 мкл на RT-qPCR.

Результат анализа экспрессии белка EGFP методом проточной цитометрии приведен в виде диаграммы количества клеток, экспрессирующих EGFP (рис. 1) и диаграммы с данными средней интенсивности флуоресценции, представленных в виде процента от средней интенсивности флуоресценции моноклональной линии (рис. 2).

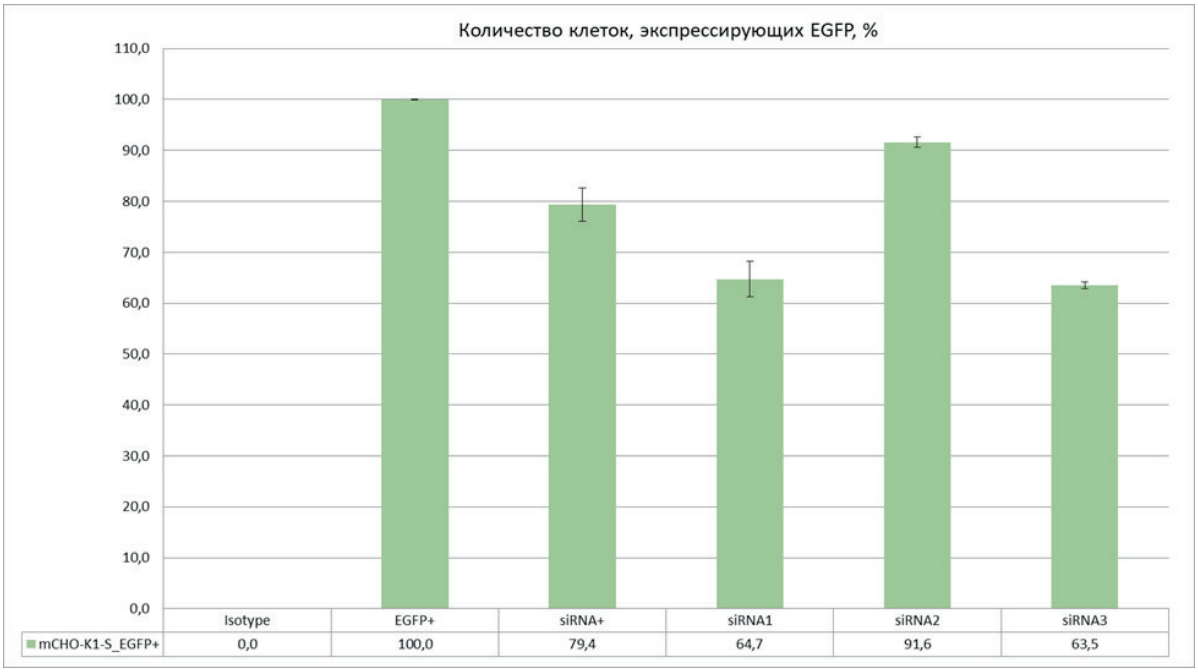


Рисунок 1. Количество клеток, экспрессирующих EGFP, в исследуемых популяциях CHO-K1-S (Isotype), mCHO-K1-S_EGFP+ (EGFP+) и при трансфекции mCHO-K1-S_EGFP+ различными siRNA (siRNA+, siRNA1, siRNA2, siRNA3)

При анализе методом RT-qPCR уровень экспрессии белка EGFP выражается через количество копий мРНК EGFP нормированное по глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназе (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH). Результат анализа экспрессии белка EGFP методом RT-qPCR представлен на рисунке 3 в виде процента от соответствующих значений моноклональной линии.

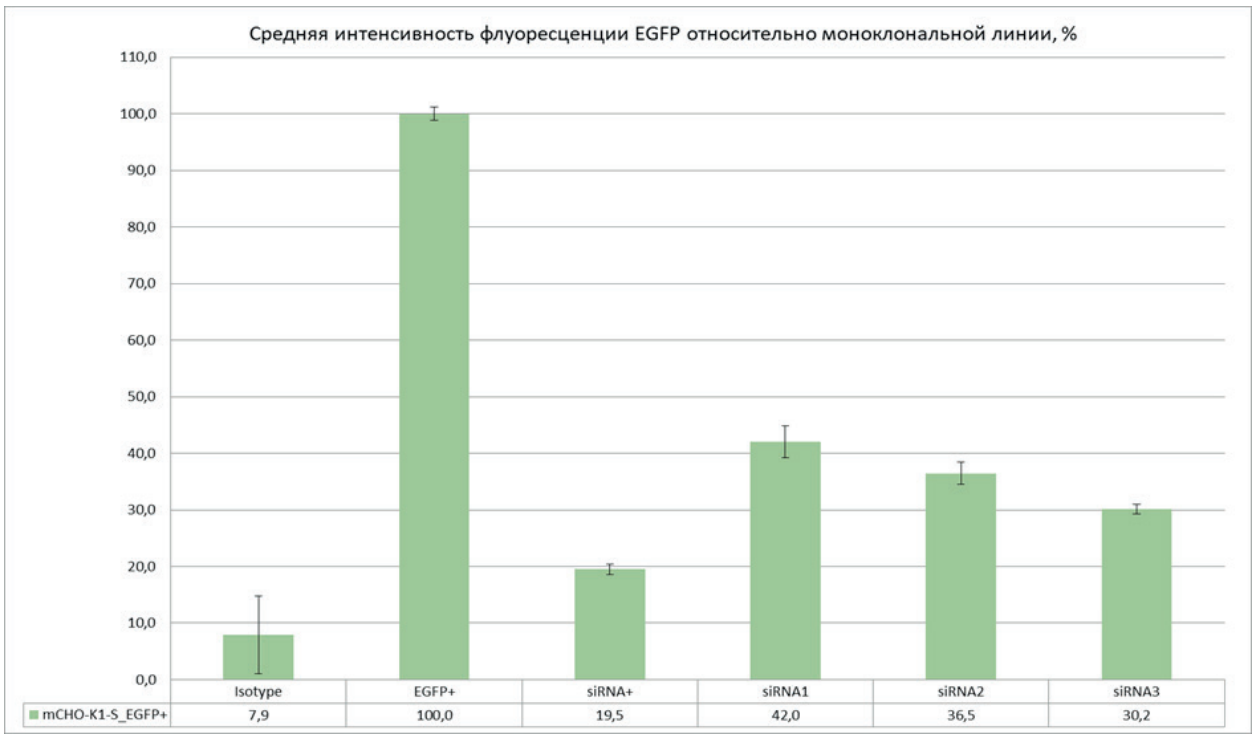


Рисунок 2. Средняя интенсивность флуоресценции EGFP относительно моноклональной линий mCHO-K1-S_EGFP+ в исследуемых популяциях CHO-K1-S (Isotype), mCHO-K1-S_EGFP+ (EGFP+) и при трансфекции mCHO-K1-S_EGFP+ различными siRNA (siRNA+, siRNA1, siRNA2, siRNA3)

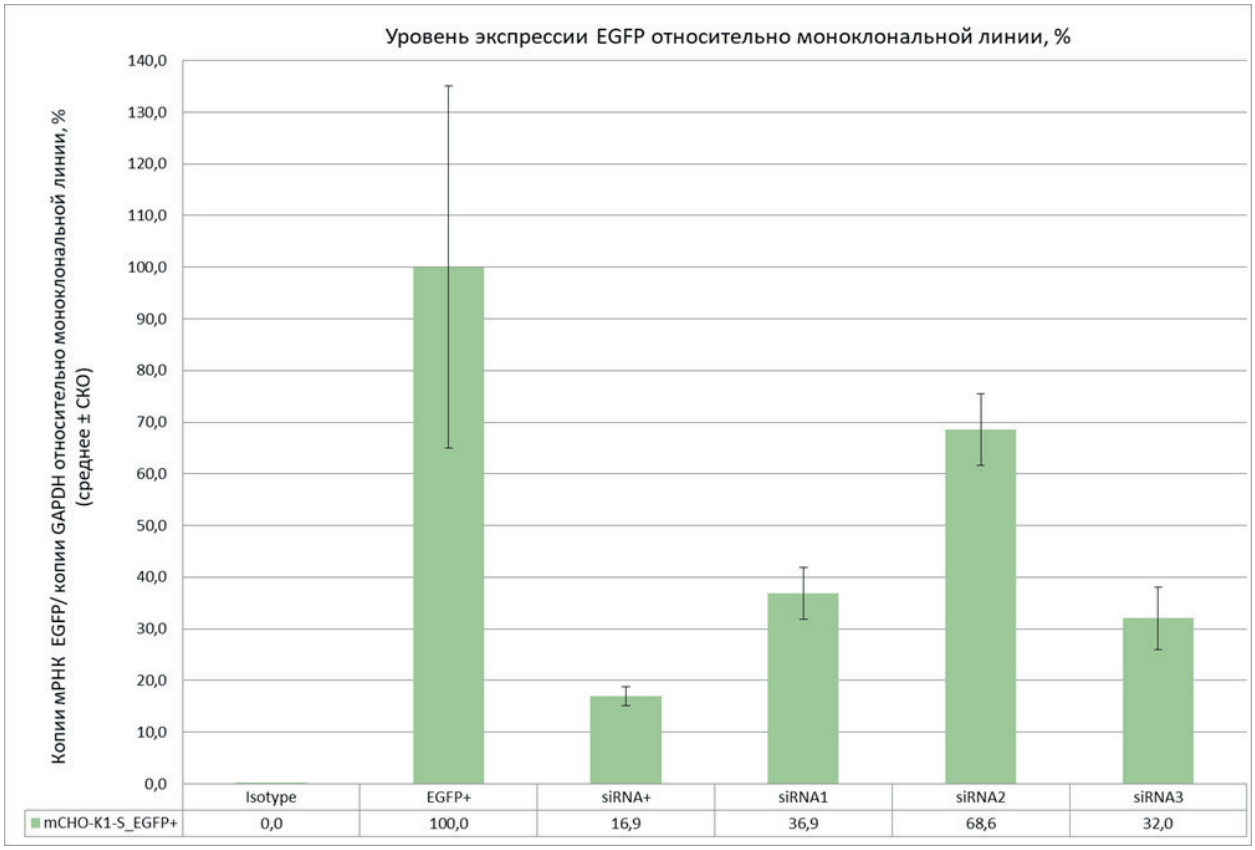


Рисунок 3. Уровень экспрессии EGFP относительно моноклональной линии mCHO-K1-S_EGFP+ в исследуемых популяциях CHO-K1-S (Isotype), mCHO-K1-S_EGFP+ (EGFP+) и при трансфекции mCHO-K1-S_EGFP+ различными siRNA (siRNA+, siRNA1, siRNA2, siRNA3)

Данные, полученные методом проточной цитометрии RT-qPCR, согласуются между собой. Контрольная siRNA+ по средней интенсивности флуоресценции (рис. 2) и уровню экспрессии (рис. 3) EGFP наиболее эффективна по сравнению с подобранными siRNA1–3. Однако более выраженное снижение количества клеток, экспрессирующих EGFP, в

исследуемой популяции имеют siRNA1 и siRNA3. Эффективность siRNA1 и siRNA3 соответствует расчётным значениям алгоритма (60–80 %).

При трансфекции клеток siRNA2 наблюдалось снижение жизнеспособности и менее выраженное снижение экспрессии EGFP. Чтобы оценить цитотоксический эффект siRNA2 на клетки–мишени была проведена трансфекция CHO-K1-S, в результате чего наблюдалось значительное уменьшение количества жизнеспособных клеток. Следовательно, у siRNA2 наблюдалось неспецифическое действие, вызывающее клеточную гибель, что исключает её дальнейшее использование в экспериментах.

Заключение

В рамках данной работы был разработан и программно реализован алгоритм подбора siRNA, с помощью которого были подобраны siRNA против гена EGFP: siRNA1, siRNA2, siRNA3. На основе литературных данных обе цепи подобранных siRNA были химически модифицированы для уменьшения нецелевых эффектов. Также была получена моноклональная клеточная линия mCHO-K1-S_EGFP+, конститутивно экспрессирующая белок EGFP.

Была проведена оценка эффективности siRNA *in vitro,* которая заключалась в анализе уровня экспрессии белка EGFP на третий день после трансфекции моноклональной клеточной линии mCHO-K1-S_EGFP+ полученными siRNA1, siRNA2, siRNA3, а также положительным контролем siRNA+. Анализ экспрессии белка EGFP проводился методом проточной цитометрии и количественной ПЦР с обратной транскрипцией (RT-qPCR). Контрольная siRNA+ по средней интенсивности флуоресценции и уровню экспрессии EGFP несколько более эффективна по сравнению с подобранными siRNA1–3. Тем не менее более выраженное снижение количества клеток, экспрессирующих EGFP, в исследуемой популяции по сравнению с контрольной имеют siRNA1 и siRNA3.

Эффективность siRNA1 и siRNA3 соответствует расчётным значениям алгоритма (60–80 %). Но siRNA2 токсична для данной клеточной линии и не вызывает ожидаемое снижение экспрессии EGFP. С помощью разработанного алгоритма удалось подобрать как минимум 2 эффективные молекулы siRNA, таким образом, цель исследования была достигнута. Разработанный алгоритм возможно использовать для подбора последовательностей и получения на их основе siRNA с целью снижения экспрессии генов-мишеней в лабораторных условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Elbashir S, Lendeckel W, Tuschl T. RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs // Genes & Development. 2001. Vol. 15(2). P.188-200. doi: 10.1101/gad.862301.

2. Petri S, Meister G. siRNA Design Principles and Off-Target Effects // Target Identification and Validation in Drug Discovery. 2013. Vol. 986. P. 59-71. doi: 10.1007/978-1-62703-311-4_4.

3. Ui-Tei K. Guidelines for the selection of highly effective siRNA sequences for mammalian and chick RNA interference // Nucleic Acids Research. 2004. Vol.32(3). P. 936-948. doi: 10.1093/nar/gkh247.

4. Rational siRNA design for RNA interference /A. Reynolds [et al.] // Nature Biotechnology. 2004. Vol. 22(3). P. 326-330. doi: 10.1038/nbt936.

5. Amarzguioui M., Prydz H. An algorithm for selection of functional siRNA sequences // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2004. Vol.316(4). P.1050-1058. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.02.157.

SUMMARY

DESIGN, PRODUCTION, AND *IN VITRO* EVALUATION THE EFFICIENCY OF SMALL INTERFERING RNA (siRNA)

Bublik A.A., 2nd year MS student[1]

Academic adviser: **Gershovich P.M.**., candidate of biological sciences, docent[1], head of gene therapy development department[2]; **Nadolinskii A.A.**, Head of the computational biology Department[2];

Markova V.A., candidate of biological sciences, head of the bioanalytics of gene therapy unit[2];

Vlasova E.V., Research Associate of the Molecular and Genetic Engineering Unit[2]

[1]St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University 197376, St. Petersburg, Prof. Popov St., Russian Federation;

[2] «BIOCAD» 198515, St. Petersburg, settlement Strelna, Svyazi St., 34, litera a, Russian Federation

E-mail: bublikaa@biocad.ru

The aim of the study is to develop an algorithm for the selection of small interfering RNAs (siRNAs) to downregulate the expression of target genes. In the course of the work, based on the developed algorithm, a selection of siRNAs was carried out for downregulation the expression of the enhanced green fluorescent protein (EGFP). Selected siRNA sequences were produced with chemical modifications to reduce the off-target effects of RNA interference. The efficiency of siRNA was evaluated *in vitro* on the generated monoclonal cell line mCHO-K1-S_EGFP+ constitutively expressing the EGFP.

Keywords: *small interfering RNA, siRNA, RNA interference, off-target effect, EGFP, transfection, flow cytometry, RT-PCR, monoclonality.*

REFERENCES

1. Elbashir S, Lendeckel W, Tuschl T. RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs // Genes & Development. 2001. Vol. 15(2). P.188-200. doi: 10.1101/gad.862301.

2. Petri S, Meister G. siRNA Design Principles and Off-Target Effects // Target Identification and Validation in Drug Discovery. 2013. Vol. 986. P. 59-71. doi: 10.1007/978-1-62703-311-4_4.

3. Ui-Tei K. Guidelines for the selection of highly effective siRNA sequences for mammalian and chick RNA interference // Nucleic Acids Research. 2004. Vol.32(3). P. 936-948. doi: 10.1093/nar/gkh247.

4. Rational siRNA design for RNA interference /A. Reynolds [et al.] // Nature Biotechnology. 2004. Vol. 22(3). P. 326-330. doi: 10.1038/nbt936.

5. Amarzguioui M., Prydz H. An algorithm for selection of functional siRNA sequences // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2004. Vol.316(4). P.1050-1058. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.02.157.

УДК 579.66

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ БЕЛКОВ В *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ TPI ПРОМОТОРА

Буслаева Е.А.[1], маг. 1 года обучения
Научный руководитель: **Хасаншина З.Р.**[2], руководитель лаборатории
Научный консультант: **Латыпов В.Ф.**[2], главный научный сотрудник
[1]Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
[2]ЗАО «Фарм-Холдинг», 198515, Санкт-Петербург, пос. Стрельна, ул. Связи, д. 34 литера А, Российская Федерация
E-mail: buslaeva.evgeniya@spcpu.ru

Одной из задач при разработке дрожжевой системы экспресси рекомбинантных белков является выбор промотора и получение штамма-продуцента со структурно и сегрегационно стабильной плазмидой. Стабильность плазмиды во многих работах обеспечивается с помощью делеции гена триозофосфатизомеразы (TPI) в геноме штамма-хозяина *Saccharomyces cerevisiae* и вставкой гена TPI из *Schizosaccharomyces pombe* вставлен в плазмиду. Промотор гена TPI является одним из сильных конститувных промоторов, позволяющим стабильно экспрессировать целевой белок. [1, 4, 5]

Таким образом, цель данной работы разработать штамм-продуцент *S. cerevisiae* рекомбинантного проинсулина человека.

В работе были получены дрожжевые штаммы, в которых экспрессия рекомбинантного проинсулина человека находится под контролем TPI промотора. Содержание рекомбинантного проинсулина человека на 42 час культивирования в колбах составило 8,97±1,44 мг\л для штамма YS3\pF1145.

Ключевые слова: *Saccharomyces cerevisiae, дрожжи, экспрессия белков, TPI, промотор.*

Пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются привлекательными клетками-хозяевами для получения рекомбинантных белков для терапевтического применения. Инсулин и его аналоги, глюкагон, интерферон, вакцинные препараты производятся в промышленных масштабах с использованием штамма-продуцента *S. cerevisiae.*

Преимущество *S. cerevisiae* как системы экспрессии рекомбинантных белков заключаются в следующем:

• секреция белков в культуральную жидкость;

• дрожжи сочетают в себе простоту одноклеточного организма, имеющую более низкие потребности в питании по сравнению с линиями клеток насекомых и млекопитающих;

• способны реализовывать фолдинг и большинство посттрансляционных модификаций, необходимых для биологически активного рекомбинантного белка;

• пекарские дрожжи относятся к безопасным для человека микроорганизмам;

• не производят эндотоксинов и устойчивы к бактериофагам

Однако *S. Cerevisiae* имеют свои недостатки:

• эффект Кребтри, то есть содержание глюкозы в среде является важным фактором, который может влиять как на рост клеток, так и на биосинтез;

• биосинтез вторичных метаболитов, в том числе этанола: при содержании этанола в среде выше 1,2 % происходит снижение удельной скорости роста дрожжей;

• дрожжевые клетки легко теряют плазмиды, несущие гены интереса.

При разработке дрожжевого штамма-продуцента рекомбинантного белка, который секретируется в культуральную среду преимущество имеют конститутивные промоторы. [1, 3]

Обычно используются такие конститутивные промоторы как *TEF1*, *TDH3*, *PGK1*, *TPI1*, *CCW12* и *ENO2*. Промотор *TPI1* показал хорошие результаты как в различных исследованиях, так и в получении рекомбинантных белков в промышленных масштабах. В частности, компания Novo Nordisk использует TPI промотор в генетических конструкциях для экспрессии рекомбинантных пептидов. После оптимизации процесса ферментации с использованием штамма-продуцента рекомбинантного белка с TPI промотором продуктивность составила 80 мг/л. [2]

Штаммы дрожжей довольно быстро теряют плазмиды, поэтому в плазмиду вносят селективные маркеры. Один из предпочтительных способов получить стабильное наследование плазмиды состоит в том, чтобы удалить важный хромо-

сомный ген и вставить в плазмиду тот же самый ген другого вида дрожжей. Для этого в исходном дрожжевом штамме мы делетировали ген хромосомной триозофосфатизомеразы (TPI) в *S. cerevisiae*, а полный ген TPI из *Schizosaccharomyces pombe* (так называемый ген pombe TPI или POT) вставили в плазмиду. [1, 4, 5]

Для обеспечения секреции был выбран синтетический лидерный пептид La19 [3]

Цель данной работы: разработать штамм-продуцент *S. cerevisiae* рекомбинантного проинсулина человека.

Для решения данной цели необходимо решить задачи:

1. Получить генетические конструкции, в которых экспрессия рекомбинантного проинсулина человека находилась под контролем промотора TPI.
2. Провести трансформацию клеток *S. cerevisiae*, функционирование гена TPI в которых нарушено.
3. Оценить экспрессию полученных штаммов на среде YPD.

Материалы и методы

Штаммы

В работе использовали штаммы YS3. Диплоидный штамм *S. cerevisiae* YS3 был получен путем слияния гаплоидных клеток *S. cerevisiae* YS1 и *S. cerevisiae* YS2. Штамм *S. cerevisiae* YS1 (*MATalpha pep4::HIS3 prb1-delta1.6R his3-delta200 ura3-52 gal2 can1 tpi::URA3*) происходит из *S. cerevisiae* ATCC® 208280 (ATCC, США). Штамм *S. cerevisiae* YS2 (*MATa ura3-52 trp1 lys2-801 leu2-delta1 his3-delta200 pep4::HIS3 prb1-delta1.6R can1 GAL tpi::KanR*) происходит из *S. cerevisiae* ATCC® 208285 (ATCC, США).

Плазмиды

Основой для экспрессионных плазмид служила челночная плазмида pRS425 (ATCC, США). Плазмида от ATUM (США) содержит ген устойчивости к ампициллину, ориджины репликации pUC и 2-µm. Промотор и терминатор гена TPI получены из геномной ДНК *S. cerevisiae*, функциональная копия гена POT получена из геномной ДНК *S. pombe*.

Сигнальная последовательность и последовательность La19, соединенные с последовательностью рекомбинантного проинсулина человека, имеет синтетическое происхождение (ATUM, США). Обобщенная карта плазмид представлена на рисунке 1.

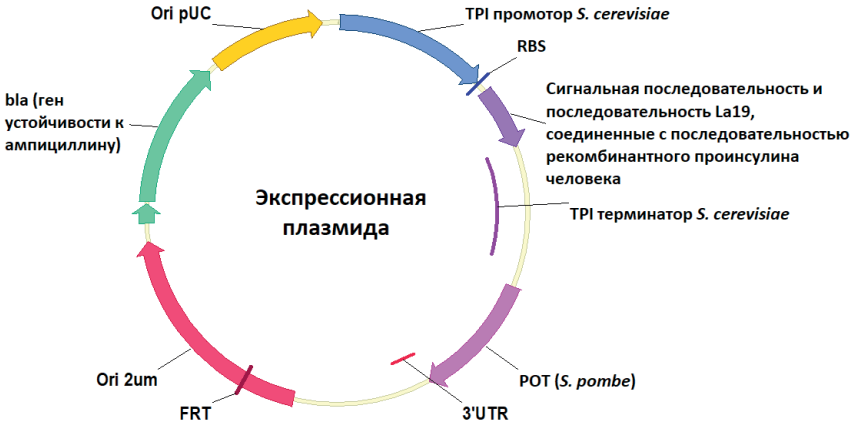


Рисунок 1. Плазмидная карта экспрессионной конструкции

Получение генетических конструкций

Конструкция pF1145 была получена путем последовательных клонирований с использованием промежуточных конструкций. В исходную плазмиду pRS425 по сайтам SacI/XhoI был клонирован ген POT, полученный из геномной ДНК *S. pombe*. Последовательность промотора и терминатора TPI, препро-α-фактора *S. cerevisiae* имеют происхождение из геномной ДНК *S. cerevisiae* и были клонированы по сайтам SacI/BamHI. Плазмида, содержащая последовательность Yap3-La19-пронисулин, была синтезирована ATUM, США. Последовательность была клонирована в экспрессионный вектор по сайтам SalI/SpeI.

Получение и анализ подлинность штаммов-продуцентов

Трансформацию штамма-хозяина YS3 плазмидами проводили с помощью электропорации.

Отбор трансформантов проводили в два этапа на среде YPD, где глюкоза является селективным маркером. Исходные клетки YS3 использовали в качестве отрицательного контроля.

Подлинность штаммов подтверждали с помощью ПЦР и секвенирования (Евроген). Для выделения тотальной ДНК из дрожжевых клеток использовали литий-ацетатный метод.

Питательные среды и условия роста

В работе использовалась стандартная жидкая среда YPD (состав YP 20 г/л пептона, 10 г/л дрожжевого экстракта), содержащая 1% глюкозы (далее указывается как YPD1). Для выращивания посевного материала на чашках Петри использовали агаризованная среда YP (15 г/л агара), содержащую 2% глюкозы (далее указывается как YPD2).

Культуры растили на агаризованной YPD1 при температуре 30 °C в термостате 3 суток. Смыв с чашек средой YP использовали в качестве посевного материала.

Смыв стерильно переносили в стерильные колбы на 100 мл, содержащие 15 мл среды YPD1. Клетки растили на YPD1 в течение 42-х часов при 30 °C и перемешивании 210 rpm.

На 18, 42, 48 час культивирования отбирали пробы на измерения оптической плотности культуры, содержания белка, этилового спирта в культуральной жидкости. Также измеряли концентрацию глюкозы с помощью глюкометра и доводили в колбе до конечной концентрации 1%.

Для определения массы влажного осадка 2 мл суспензии клеток переносили в предварительно взвешенные микропробирки, центрифугировали в течение 5 минут при 15 000 об/мин на Eppendorf 5424. Супернатнат переносили в новые пробирки и использовали для определения концентрации рекомбинантного белка и этанола. Центрифугирование повторяли, супернатант удаляли с помощью аспиратора.

Количественное определение рекомбинантного белка в культуральной жидкости проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Образцы анализировали на приборе Acquity UPLC (Waters) с диодноматричным детектором при длине волны 214 нм и используя колонку SunFireTM Waters C18, 5,0µm 150×4,6 мм (Waters США).

Определение содержания этилового спирта в культуральной жидкости проводили на газовом хроматографе Agilent Technologies 7890A с пламенно-ионизационным детектором, парофазным пробоотборником Agilent Technologies 7694E и капиллярной колонкой Agilent Technologies HP FFAP (длина 50 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина фазы 0,50 мкм).

Результаты и обсуждение

На рисунке 2 представлена электрофореграмма фрагментов вектора и вставки после рестрикции SalI\SpeI. Целевые фрагменты были вырезаны из геля и слигированы с помощью Т4-ДНК-лигазы. Подлинность полученной конструкции была подтверждена сначала ПЦР, потом секвенированием.

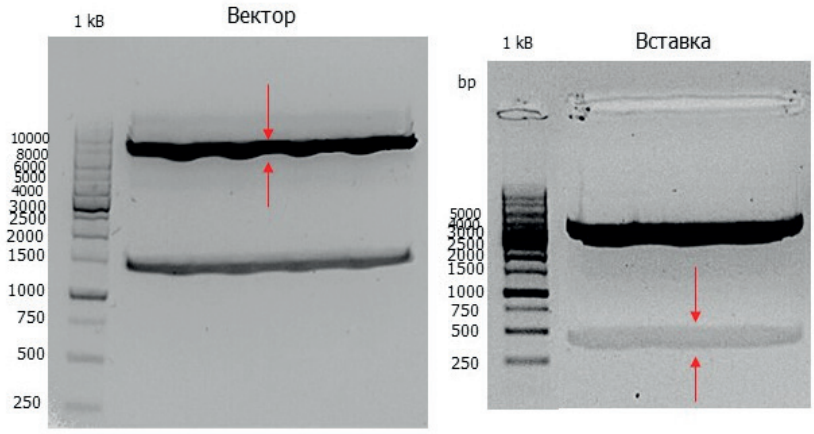


Рисунок 2. Электрофореграмма рестрицированных смесей, 1% агарозный гель в буфере ТАЕ. Красными стрелками отмечены целевые фрагменты

Подлинность полученного штамма подтверждалась с использованием ПЦР. Ожидаемый размер фрагмента – 1204 bp. Электрофореграмма, отображающая результаты ПЦР, представлена на Рис. 3. Секвенирование полученных ПЦР фрагментов подтвердило подлинность конструкции.

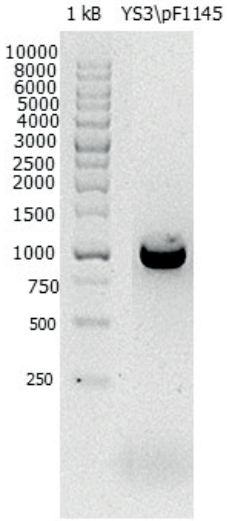


Рисунок 3. Подтверждение подлинности штамма-продуцента YS3\pF11 45 методом ПЦР. Электрофореграмма ПЦР смеси в 1% агарозном геле в буфере ТАЕ

На рисунке 4 показано накопление биомассы исследованным штаммом-продуцентом в течение 42 часов культивирования.

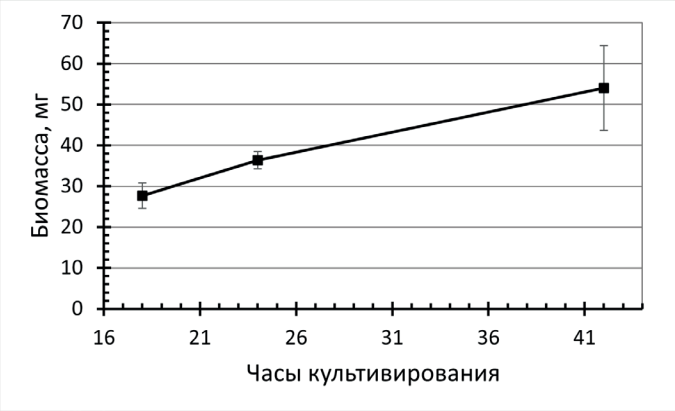


Рисунок 4. Накоплением биомассы штаммом-продуцентом YS3\pF1145 в течение 42 часов культивирования
Данные представлены в виде среднеарифметического значения ± стандартное отклонение (n=3)

Как показано на рис. 4 культура на 42 час культивирования не вышла в стационарную фазу роста.

На рисунке 5 показано накопление этанола исследованным штаммом-продуцентом в течение процесса культивирования.

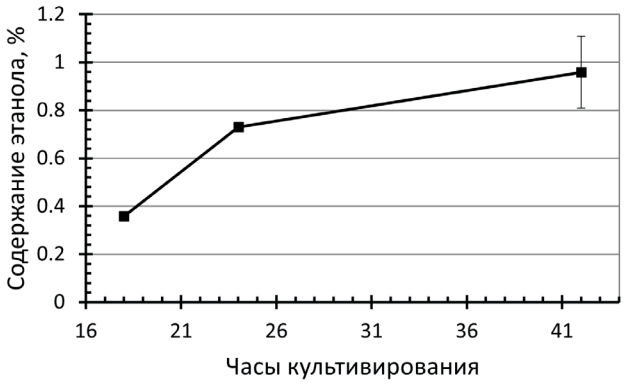


Рисунок 5. Накопление этанола штамма-продуцентами в YS3\pF1145 в течение 42 часов культивирования
Данные представлены в виде среднеарифметического значения ± стандартное отклонение (n=3)

Как показано на рис. 5, для штамма-продуцента YS3\pF1145 наблюдается увеличение содержания этанолового спирта. На 42 час содержания этилового спирта составила 0,96±0,15%. Накопление спирта связано с эффектом Кребтри, который может влиять как на рост культуры, так и на биосинтез ряда рекомбинантных белков. В колбах невозможна контролируемая подача содержания глюкозы среды. Для определения допустимой концентрации глюкозы для достижения равновесия между биосинтезом и эффектом Кребтри необходимо проведение дополнительных исследований в лабораторных биореакторах.

На рисунке 6 показано кинетика накопления гибридного белка штаммом-продуцентом.

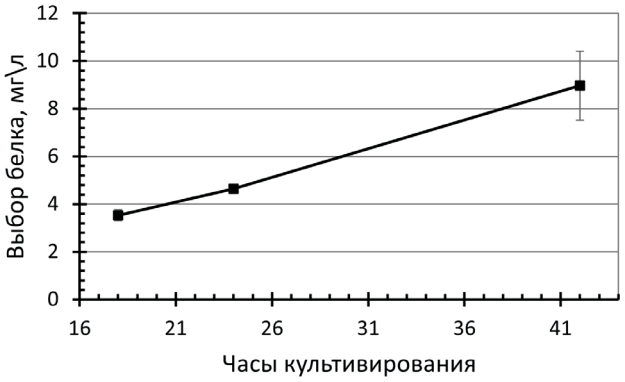


Рисунок 6. Накопление гибридного белка YS3\pF1145 в течение 42 часов культивирования
Данные представлены в виде среднеарифметического значения ± стандартное отклонение (n=3)

Как показано на рис. 6 в течение всего процесса культивирования наблюдается накопление целевого белка. На 42 час культивирования продуктивность составила 8,97±1,44 для YS3\pF1145. Данное значения продуктивности является допустимой для экспериментов в колбах.

Для исследования возможности использования полученного штамма-продуцента в промышленных масштабах необходима разработка процесса культивирования в лабораторных биореакторах.

Заключение

Таким образом, в ходе выполнения данной работы была получена генетическая конструкция, в которой экспрессия рекомбинантного проинсулина человека находилась под контролем промотора TPI.

Содержание рекомбинантного проинсулина человека на 42 час культивирования в колбах составляло 8,97±1,44 мг\л для штамма YS3\pF1145.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yeast fermentation processes for insulin production. / I.V. Diers [et al.] // Bioprocess Technol. 1991 Vol. 13 P. 166-76. PMID: 1367289.

2. Nielsen J. Production of biopharmaceutical proteins by yeast: advances through metabolic engineering // Bioengineered. 2013 Vol. 4(4) P. 207-211. doi:10.4161/bioe.22856

3. Expression of Insulin in Yeast: The Importance of Molecular Adaptation for Secretion and Conversion / T. Kjeldsen [et al.] // Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 2001 18(1) P. 89-121. DOI: 10.1080/02648725.2001.10648010

4. INSULIN PRECURSORS AND A PROCESS FOR THEIR PREPARATION : WO2002079250 USA International Application No. PCT/DK2002/000190. International Filing Date 21.03.2002. Publication Date 10.10.2002.

5. METHOD OF MAKING PROTEINS IN TRANSFORMED YEAST CELLS : US6358705B1 USA International Filing Date 06.07.1999. Publication Date 19.03.2002.

6. Scott E.W., Allison H.E., Baker H.V. Characterization of TPI gene expression in isogeneic wild-type and gcr1-deletion mutant strains of Saccharomyces cerevisiae // Nucleic acids research 1990 Vol. 18(23). P. 7099-107. doi:10.1093/nar/18.23.7099

7. Alterations of the glucose metabolism in a triose phosphate isomerase-negative Saccharomyces cerevisiae mutant / C. Compagno [et al.] // Yeast. 2001. Vol. 18(7) P. 663–670. doi:10.1002/yea.715

SUMMARY

ANALYSIS OF THE EXPRESSION OF HETEROLOGOUS PROTEINS IN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* USING THE TPI PROMOTER

Buslaeva E.A.[1], 1st year master's student
Scientific adviser: **Khasanshina Z.R.**[2], Head of the Laboratory
Scientific consultant: **Latypov V.F.**[2], Chief Researcher
[1]Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation
[2]Pharm-Holding, 198515, St. Petersburg, pos. Strelna, st. Svjazi, 34 letter A, Russian Federation
E-mail: buslaeva.evgeniya@spcpu.ru

One of the problem in developing a yeast system for the expression of recombinant proteins is to select a promoter and obtain a producer strain with a structurally and segregationally stable plasmid. Plasmid stability is ensured by deletion of the triose phosphate isomerase (TPI) gene in the genome of the host strain Saccharomyces cerevisiae. Next, the TPI gene from *Schizosaccharomyces pombe* is inserted into the plasmid. The promoter of the TPI gene is one of the strong constitutive promoters that allows stable expression of the target protein. [1, 4, 5]

Thus, the purpose of this work is to develop a strain of S. cerevisiae that produced recombinant human proinsulin.

Yeast strains were obtained in which the expression of recombinant human proinsulin is controlled by the TPI promoter. The productivity of the strain YS3\pF1145 was 8.97±1.44 mg / l for 42 hours of cultivation in flasks.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae, yeast, protein expression, TPI, promoter.*

REFERENCES

1. Yeast fermentation processes for insulin production. / I.V. Diers [et al.] // Bioprocess Technol. 1991 Vol. 13 P. 166-76. PMID: 1367289.

2. Nielsen J. Production of biopharmaceutical proteins by yeast: advances through metabolic engineering // Bioengineered. 2013 Vol. 4(4) P. 207-211. doi:10.4161/bioe.22856

3. Expression of Insulin in Yeast: The Importance of Molecular Adaptation for Secretion and Conversion / T. Kjeldsen [et al.] // Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 2001 18(1) P. 89-121. DOI: 10.1080/02648725.2001.10648010

4. INSULIN PRECURSORS AND A PROCESS FOR THEIR PREPARATION : WO2002079250 USA International Application No. PCT/DK2002/000190. International Filing Date 21.03.2002. Publication Date 10.10.2002.

5. METHOD OF MAKING PROTEINS IN TRANSFORMED YEAST CELLS : US6358705B1 USA International Filing Date 06.07.1999. Publication Date 19.03.2002.

6. Scott E.W., Allison H.E., Baker H.V. Characterization of TPI gene expression in isogeneic wild-type and gcr1-deletion mutant strains of Saccharomyces cerevisiae // Nucleic acids research 1990 Vol. 18(23). P. 7099-107. doi:10.1093/nar/18.23.7099

7. Alterations of the glucose metabolism in a triose phosphate isomerase-negative Saccharomyces cerevisiae mutant / C. Compagno [et al.] // Yeast. 2001. Vol. 18(7) P. 663–670. doi:10.1002/yea.715

УДК 57.04

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ТУБЕРКУЛЁЗА, ВЛИЯНИЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА ДИНАМИКУ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ

Валова Е.В., Гришина А.В., студ. 2 курса фармацевтического факультета
Руководитель: **Богданова О.Ю.**, канд. биол. наук, доц. кафедры микробиологии (ResearcherID (IRID): 350661810)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ekaterina.valova@spcpu.ru

Целью нашей работы является анализ метеоэлементов климата г. Санкт-Петербург как факторов, влияющих на экспрессию генов *Mycobacterium tuberculosis* и на распространение заболевания. Доказано, что во всех городах, независимо от климатического пояса, ведущими метеоэлементами как для здоровья человека, так и для *M. tuberculosis* являются: температура воздуха, атмосферное давление, содержание кислорода, влажность и уровень солнечной радиации. Определённые сочетания некоторых метеоэлементов климата создают «гипоксический тип» погоды, неблагоприятно влияющий на состояние здоровья человека. В нашей работе мы подробно рассмотрели влияние каждого климатического фактора на статистку по заболеваемости туберкулезом в городе Санкт-Петербург. Во время изучения данного вопроса мы опирались на знания о генетических особенностях данной бактерии. Во время работы над статьей мы увидели, что климат является важнейшим звеном связи *Mycobacterium tuberculosis* → человек. В ходе данного исследования изучена динамика заболеваемости туберкулезом, его диагностика для выявления зависимости влияния климатических факторов на распространение данного заболевания. Мы акцентируем на этом внимание, чтобы данный фактор учитывали в раннем выявлении диагностики туберкулёза и его лечении.

Ключевые слова: *туберкулез, заболеваемость, устойчивость микобактерий, климато-географические особенности, адаптивная изменчивость.*

Статья посвящена наиболее актуальным вопросам эпидемиологии и диагностики туберкулеза. Несмотря на предпринимаемые меры, число новых случаев заболевания снижается незначительно, так же как и смертность от заболевания.

Туберкулез (ТБ) (от лат. tuberculum – бугорок) – первично-хроническое заболевание человека и животных, при котором поражаются органы дыхания, лимфатические узлы, кишечник, кости и суставы, почки, ЦНС. Основной механизм заражения – аэрогенный, реже контактный и алиментарный. Возбудители относятся к семейству *Mycobacteriaceae*, роду *Mycobacterium*. У человека возбудителем является *Mycobacterium tuberculosis* – микобактерия туберкулеза (МБТ) – длинная тонкая грамположительная палочка, неподвижная, спор не образует, имеет микрокапсулу.

Цель нашей работы – рассмотреть влияние климата на распространение заболевания, изучить гены МБТ, отвечающие за их адаптацию к неблагоприятным условиям среды.

Для достижения поставленной цели сформулировали следующие задачи:

1. Выявить, какая группа населения наиболее подвержена риску заболевания ТБ
2. Оценить статистику заболеваемости в г. Санкт-Петербург
3. Установить основные климатические факторы, влияющие на заболеваемость ТБ
4. Определить гены МБТ, ответственные за устойчивость к факторам внешней среды

Актуальность исследования обусловлена тем, что порядка одной четверти населения мира инфицированы МБТ. Это означает, что люди являются носителями МБТ, но (пока еще) не больны и не могут его передавать. Вероятность того, что люди, инфицированные МБТ, заболеют им на протяжении своей жизни, составляет 5-15%.

При развитии у человека активной формы ТБ, симптомы (кашель, лихорадка, ночной пот или потеря веса) могут оставаться умеренными на протяжении многих месяцев. Это может приводить к запоздалому обращению за медицинской помощью и передаче бактерий другим людям. За год человек с активной формой ТБ может инфицировать 5-15 человек, с которыми он имеет тесные контакты [1].

ТБ поражает преимущественно взрослых людей в их самые продуктивные годы. Однако риску подвергаются все возрастные группы: чувствительны к ТБ дети первого года жизни, дети 8-14 лет. Уязвимой группой являются мужчины. По данным ученых Медицинского университета имени Пирогова, мужчинам диагноз «ТБ органов дыхания» ставят примерно в 3-4 раза чаще, чем женщинам. Особой группой риска являются ВИЧ-инфицированные лица, у которых вероятность развития активной формы ТБ возрастает в 18 раз. Более высокому риску развития активной формы ТБ подвергаются также люди, страдающие от других нарушений здоровья, ослабляющих иммунную систему. Так, в 2019 г. во всем мире было зарегистрировано 2,2 млн новых случаев заболевания ТБ, которые были связаны с недоеданием. Таким образом, основными хорошо изученными факторами риска являются пол, возраст, сопутствующие заболевания [2]. Однако, мало исследователей связывают заболеваемость ТБ с климатогеографическими условиями жизни населения.

Также известно, что у *Mycobacterium tuberculosis* может развиваться устойчивость к противомикробным препаратам, используемым для лечения болезни. Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) МБТ – это устойчивость возбудителя к таким противотуберкулезным препаратам, как изониазиду и рифампицину. Основные причины МЛУ: неправильное назначение лекарственных препаратов или их низкое качество; перерывы в лечении; незавершенный курс лечения. Широкая лекарственная устойчивость (ШЛУ) МБТ – это вид МЛУ, который сочетает в себе более широкую устойчивость к изониазиду, рифампицину, а также к фторхинолону и канамицину и/или амикацину и/или капреомицину. Этот тип МБТ наиболее сложен для лечения [3].

В Российской Федерации (РФ) заболеваемость ТБ в последние годы снижается [4]. На рис. 1 отражена динамика заболеваемости среди населения РФ в течение 10 лет.

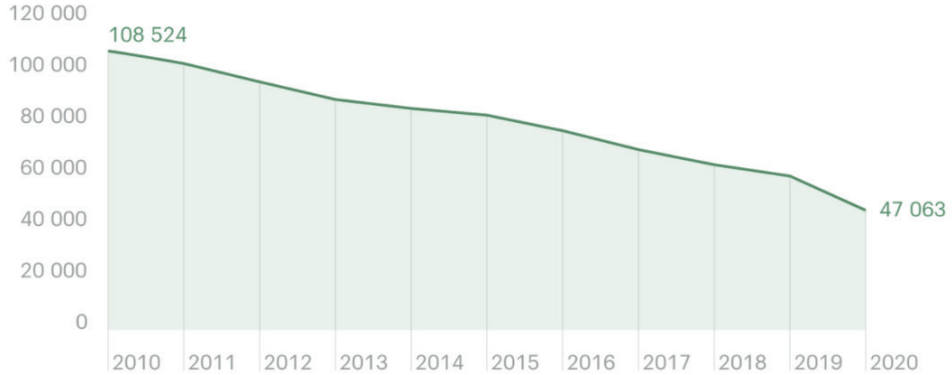


Рисунок 1. Заболеваемость ТБ по России в 2010-2020 гг.

Средний показатель заболеваемости снижается примерно на 1-2% в год, однако около 1/4 населения страны имеет «латентный» (скрытый) ТБ [5]. Это люди, зараженные МБТ, но еще не больные и не могут его передать. Люди с «латентным» ТБ – скрытый потенциал для распространения инфекции. Эта та группа людей, с которой необходимо работать профилактически. Вследствие пандемии COVID-19 ожидался рост заболеваемости ТБ, при этом в связи с введением карантинных мероприятий произошло снижение охвата населения профилактическими осмотрами на ТБ по сравнению с прошлым годом (82,1 % за 2020 по сравнению с 83,2% за. 2019 г.). Однако заболеваемость ТБ в РФ снижается, что, возможно, связано с тем, что во время пандемии число контактов между людьми снизилось, а применение средств индивидуальной защиты увеличилось.

В г. Санкт-Петербург заболеваемость ТБ составляет 32,2 (территориальный показатель 37,3 на 100 тыс. населения), что в 2,2 раза ниже, чем по РФ, где данный показатель составляет 83,0 на 100 тыс. населения. За последние 3 года заболеваемость по г. Санкт-Петербургу также уменьшилась. Тем самым, на 2020 г. Санкт-Петербург по пораженности постоянного населения ТБ занимает 12 место среди 85 субъектов Российской Федерации (в сравнении – в 2018 г. занимал 10 место) и 4-5 место среди 11 субъектов Северо-Западного Федерального округа [6]. В 2020 году зарегистрировано более 1200 случаев впервые выявленного активного ТБ. Эпидемиологическая ситуация по заболеваемости ТБ в Санкт-Петербурге, как и в целом по РФ, несмотря на наметившуюся стабилизацию, остается сложной. Наметившаяся тенденция положительной динамики снижения заболеваемости в г. Санкт-Петербурге осложнена многими факторами: большим населением, уровнем миграции, вредными привычками населения. Мы считаем, что огромное влияние оказывает один из самых недооцененных факторов – климатический.

Климат – глобальный фактор, который может привести к эволюции микроорганизмов на всех таксономических уровнях. Климат может являться фактором обострения болезни и смертности от нее. Исследования эпидемиологии и климатопатологии ТБ доказывают, что есть взаимосвязь между климатом и заболеваемостью [7;8]. Наблюдения за сезонностью инфекционных заболеваний приводят к предположению, что риск передачи *Mycobacterium tuberculosis* самый высокий в зимние и весенние месяцы [9;10]. Наибольшее число впервые выявленных больных ТБ с положительной бактериоскопией отмечается в апреле 9,4%, а минимальное – в сентябре 7,6%. Мы обнаружили некий спад заболеваемости в январе, что, возможно, связано с уменьшением профилактических осмотров в период новогодних праздников.

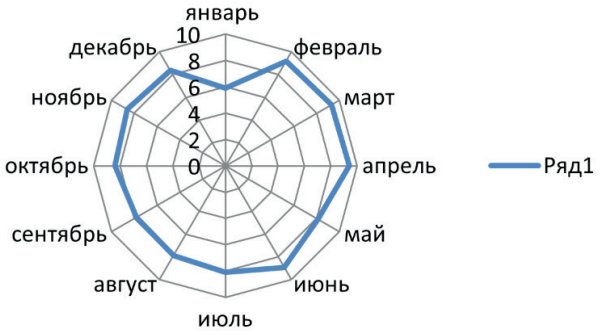


Рисунок 2. Сезонная динамика заболевания ТБ (СПБ)

При рассмотрении климатических условий г. Санкт-Петербурга обратили внимание на отдельные метеоэлементы, так как они предопределяют особенности течения нормальных и болезненных физиологических реакций организма человека и характер клинических расстройств. Ведущими факторами, оказывающими влияние на состояние человека, являются температура и содержание кислорода в воздухе, влажность, уровень солнечной радиации (табл.1). В нашей работе решили рассмотреть и такой фактор, как скорость ветра, т.к. он может усилить влияние на распространение заболевания других метеофакторов. В зимние месяцы в Санкт-Петербурге для человека с ослабленным иммунитетом вероятность заражения ТБ будет выше.

Таблица 1 – Среднемесячные климатические показатели в г. Санкт – Петербург

Город	Температура воздуха (°С)	Относительная влажность (%)	Скорость ветра (м/с)	Атмосферное давление (мм рт. ст.)	Уровень солнечной радиации (инсоляция) кВТ*ч/м^2	Парциальная плотность кислорода (pO_2) г/м^3
Зимний период	-7,9°С	83-88%	6-8 м/с	743-737 мм рт. ст.	1,63 кВТ*ч/м^2	301
Летний период	20,5°С	46%	5 м/с.	758-764 мм рт.ст.	15,7кВТ*ч/м^2	306

Температура и влажность. Доказано, что *M. tuberculosis* малочувствительны к низким температурам [10]. При температуре -6°С…-10°С бактерии сохраняют жизнеспособность в течение нескольких недель. Зимой в Санкт-Петербурге температура в среднем достигает 7,9°С, данный температурный режим позволяет бактериям сохранять свою жизнеспособность, активно распространяться. Повышенная влажность воздуха характерна для г. Санкт-Петербурга, как в летний, так и в зимний период (88%), что может вызвать негативные изменения в органах дыхания и со временем привести к усилению восприимчивости ТБ. Для человека сочетание этих двух факторов очень неблагоприятно, что ярко отражает статистика заболевания.

Атмосферное давление в г. Санкт-Петербурге зимой в среднем ниже нормы (734-737 мм. рт. ст), это приводит к снижению парциального давления во вдыхаемом воздухе до 301 г/м^3, все это отражается на самочувствии человека [11]. У людей с заболеваниями органов дыхания, курильщиков даже незначительные колебания содержания кислорода могут усугубить патологические процессы, приводящие к нарушению газообмена в легких, недостаточному транспорту кислорода к органам или к нарушению его утилизации тканями. Возникшая эндогенная гипоксия может быть хорошей внутренней средой для *M. tuberculosis*. Летом атмосферное давление становится выше, парциальная плотность воздуха увеличивается, создавая неблагоприятные условия для жизнедеятельности *M. tuberculosis*.

Уровень солнечной радиации также вносит определенный вклад в эпидемиологию возбудителей ТБ. Летом наблюдается спад заболеваемости, а уровень солнечной радиации увеличивается приблизительно в 10 раз с 1,63 кВТ*ч/м^2 до 15,7кВТ*ч/м^2. По-видимому, это взаимосвязано, т.к. солнечный свет задерживает рост и развитие туберкулезных палочек. При воздействии ультрафиолетового излучения (УФИ) типа С, за счет более высокой энергии фотонов, бактерии, в зависимости от толщины слоя мокроты, погибают в течение нескольких часов. Также, показано, что чем выше уровень витамина D в плазме крови, тем ниже риск заболеть ТБ [12]. Активные метаболиты(25-(OH)) витамина могут подавлять рост *M. tuberculosis* за счет индукции продукции оксида азота макрофагами [13]. Следовательно, жители Санкт-Петербурга, живущие в условиях недостатка количества солнечных дней в году, получают меньший уровень солнечной радиации, в их крови содержится меньше витамина D, что значительно повышает риск заражения.

Скорость ветра. Заболеваемость ТБ в значительной мере связана с загрязнением атмосферного воздуха пылью [14]. Формирование повышенного уровня загрязнения воздуха происходит при слабых ветрах за счет скопления примесей в приземном слое атмосферы. Установлено, что при характерной для Санкт-Петербурга скорости – 4-6 м/с, концентрации пыли повышаются на 30-40%.

В эволюции микроорганизмов движущая «сила» климата проявляется в появлении форм бактерий с высокой вирулентностью и адаптивной изменчивостью. По научным данным *M. tuberculosis* содержит 4173 гена, из них примерно 80 генов, экспрессия которых под влиянием климата может привести к изменению их вирулентности и адаптивной изменчивости [15]. Под действием климатических факторов эти гены могут экспрессироваться. Учитывая слабую устойчивость МБТ к УФИ, мы допускаем, что бактерия может содержать гены, чувствительные к солнечной радиации.

Бактерии становятся резистентными из-за хромосомных мутаций, происходящих в независимых генах. Это может быть обусловлено усилением функций в условиях гипоксии у МБТ регуляторного белка Rv3133/DosR, который активирует около 47 генов, отвечающих за адаптацию к условиям, а также работой генов WhiB3 и anti-sigmafactorRsrA, которые контролируют изменения окислительно-восстановительного баланса внутриклеточной среды клетки хозяина и синхронизацию метаболических путей бактерии с организмом человека[16;17]. Устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* к лекарственным препаратам в климатический условиях Санкт-Петербурга может осложнять лечение, что нужно обязательно учитывать, проводить профилактически осмотры населения чаще, а профилактический охват флюорографическими исследованиями должен быть шире.

Заключение

В работе показано, что заболеваемость ТБ по г. Санкт-Петербургу ниже среднероссийских показателей. Наиболее уязвимыми группами населения по отношению к ТБ являются взрослые мужчины, дети, а также лица, имеющие со-

путствующие заболевания, снижающие иммунитет. Наиболее важными климатическими факторами, оказывающими влияние на заболеваемость ТБ следует указать высокую влажность воздуха, значительную среднегодовую скорость ветра, пониженное количество солнечных лучей. Показано, что МБТ обладают регуляторным белом Rv3133/DosR, который активирует 47 генов, ответственных за их адаптацию к климатическим условиям.

В результате проведенной работы мы еще раз убедились, что такое опасное заболевание как ТБ – одна из самых актуальных проблем в мире и в наши дни. Исследовательские работы по изучению особенностей данного заболевания не прекращаются и по сегодняшний день, многие нюансы еще не изучены. Эта работы была очень важной для нас, как для студентов фармацевтического факультета, мы задумались о том, что при подборе терапии и разработке новых лекарственных препаратов также важно учитывать климатическое расположение городов. Мы еще раз хотим акцентировать внимание на необходимости расширения охвата профилактическими осмотрами, особенно для людей, живущих в климате, благоприятствующем распространению данного заболевания.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.01.73 Медицинская статистика

76.01.00 Общие вопросы медицины и здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Туберкулез сегодня: основные направления исследований по профилактике, диагностике и лечению / Ю.С. Зинченко [и др.] // Russian biomedical research. 2018. Т. 3 N 4 С. 24-34

2. В. И. Петренко, В. Ф. Москаленко, Ю. И. Фещенко, Н. Н. Савула, С. С. Солдатченко. Распространение туберкулеза.

3. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. М., Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2016. 72 с.

4. Здравоохранение в России. 2021: стат. сб. / Росстат. М., 2021. 170 с.

5. Rv3133c/dosR is a transcription factor that mediates the hypoxic response of Mycobacterium tuberculosis / Heui-Dong Park // Molecular Microbiology. 2003. Vol. 48 (3). P. 833-843 doi: 10.1046/j.1365-2958.2003.03474.x.

6. О.Б. Нечаева. Руководитель Федерального Центра мониторинга противодействия распространению туберкулеза в Российской Федерации ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава России, докт.мед.наук, профессор. Эпидемическая ситуация по туберкулезу. 2020.

7. Влияние сезонных факторов на частоту досрочного прекращения лечения больных туберкулёзом / И.М. Сон [и др.] // Туберкулёз и болезни лёгких. 2018. N 12. С. 20-25.

8. Auda Fares. Seasonality of Tuberculosis // Journal of global infectious diseases. 2011. Vol. 3(1). P. 46-55. DOI: 10.4103/0974-777X.77296.

9. Казыкина Т.Н., Стерликов С.А., Гордина А.В. Роль сезонных факторов при выявлении туберкулёза у детей // Тезисы VI Всероссийской междисциплинарной научнопрактической конференции с международным участием «Актуальные вопросы профилактики, диагностики и лечения туберкулеза у детей и подростков». URL: http://www.humanhealth.ru/images/conference/29-31_03_2018_Sochi/Tezisy/5.pdf (дата обращения 10.02.2019).

10. Seasonal variations in notification of active tuberculosis cases in China, 2005–2012 / X.X. Li [et al.] // PLoS One. 2013. Vol. 8(7) P. e68102 DOI:10.1371/journal.pone.0068102

11. The emerging role of gasotransmitters in the pathogenesis of tuberculosis / C. Krisha [et al.] // Nitric. Oxide. 2016. Vol. 59. P. 28-41. DOI: 10.1016/j.niox.2016.06.009.

12. Latent tuberculosis infection, tuberculin skin test and vitamin D status in contacts of tuberculosis patients: a cross-sectional and case-control study / Alberto Arnedo-Pena [et al.] //BMC Infectious Diseases. 2011. Vol.11. P. 349. DOI: 10.1186/1471-2334-11-349.

13. The seasonality of tuberculosis, sunlight, vitamin D, and household crowding / T. Wingfield // The Journal of infectious diseases. 2017. Vol. 210(5). P. 774-783. DOI: 10.1093/infdis/jiu121.

14. Глумная Т.В. Влияние сезонных и экологических факторов на заболеваемость туберкулёзом. Автореф. дисс. … канд. мед. наук. М., 2002. 38 с.

15. Штакк Е.А., Беляева А.В., Молоканова Ю.П. Климат как эпигенетический фактор вирулентности и адаптивной изменчивости mycobacterium tuberculosis h38rv // Современные проблемы науки и образования. 2019. N 2.

16. Sabine E., Schnappinger D., Mycobacterial survival strategies in the phagosome: defense against host stresses // Cellular Microbiology. Vol. 11(8). P. 1170-1178. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2009.01335.x.

17. Individual Mycobacterium tuberculosis universal stress protein homologues are dispensable in vitro / S.M. Hingley-Wilson [et al.] // Tuberculosis (Eniburgh). 2010. Vol. 90 (4). P. 236-244. DOI: 10.1016/j.tube.

SUMMARY

HE SPREAD OF TUBERCULOSIS, THE INFLUENCE OF CLIMATIC CONDITIONS ON THE DYNAMICS OF MORBIDITY

Valova E.V., student 2nd year, **Grishina A.V.**, student 2 courses
Academic advisor: **Bogdanova O. Yu**., PhD. biol. sciences, assoc. (ResearcherID (IRID): 350661810)
Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popova, 14, Russian Federation.
E-mail: ekaterina.valova@spcpu.ru

Abstract: The purpose of our work is to analyze the influence of meteorological elements of the climate of St. Petersburg on the expression of Mycobacterium tuberculosis genes and on the spread of the disease. It is proved that in all cities, regardless of the climatic zone, the leading meteorological elements for both human health and M. tuberculosis are: air temperature, atmospheric pressure, oxygen content, humidity and solar radiation level. Certain combinations of certain weather elements of the climate create a "hypoxic type" of weather that adversely affects human health. In our work, we examined in detail the influence of each climatic factor on the statistics on the incidence of tuberculosis in the city of St. Petersburg. During the study of this issue, we relied on knowledge about the genetic characteristics of this bacterium. While working on the article, we saw that climate is the most important link between Mycobacterium tuberculosis → man. In the course of this study, the dynamics of the incidence of tuberculosis and its diagnosis were studied to identify the dependence of the influence of climatic factors on the spread of this disease. We focus on this so that this factor is taken into account in the early detection of tuberculosis diagnosis and its treatment.

Keywords: *tuberculosis, morbidity, mycobacterium resistance, climatic and geographical features, adaptive variability.*

REFERENCES

1. Tuberculosis today: the main directions of research on prevention, diagnosis and treatment / Yu.S. Zinchenko // Russian biomedical research. 2018. Vol. 3(4). P. 24-34(In Russian)

2. V. I. Petrenko, B. F. Moskalenko, Yu. I. Feshchenko, N. N. Savula, C. S. Soldatchenko. The spread of tuberculosis. (In Russian)

3. Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of tuberculosis of the respiratory system with multiple and broad drug resistance of the pathogen. M.,Tver: LLC «Publishing House «Triada», 2016. 72 p. (In Russian)

4. Healthcare in Russia. 2021: stat. sat. / Rosstat. M., 2021. 170 p.(In Russian)

5. Rv3133c/dosR is a transcription factor that mediates the hypoxic response of Mycobacterium tuberculosis / Heui-Dong Park // Molecular Microbiology. 2003. Vol. 48 (3). P. 833-843 doi: 10.1046/j.1365-2958.2003.03474.

6. O.B. Nechaeva. Head of the Federal Center for Monitoring the Spread of Tuberculosis in the Russian Federation FSBI «TSNIIOIZ» of the Ministry of Health of Russia, Doctor of Medical Sciences, Professor. The epidemic situation of tuberculosis. 2020. (In Russian)

7. The influence of seasonal factors on the frequency of early termination of treatment of tuberculosis patients / I.M. Son [et al.] // Tuberculosis and lung diseases 2018. Vol. 12. P. 20-25. (In Russian)

8. Auda Fares. Seasonality of Tuberculosis // Journal of global infectious diseases. 2011. Vol. 3(1). P. 46-55. DOI: 10.4103/0974-777X.77296.

9. Kazykina T.N., Sterlikov S.A., Gordina A.V. The role of seasonal factors in the detection of tuberculosis in children. Abstracts of the VI All-Russian Interdisciplinary Scientific and Practical conference with international participation «Topical issues of prevention, diagnosis and treatment of tuberculosis in children and adolescents» URL: http://www.humanhealth.ru/images/conference/29-31_03_2018_Sochi/Tezisy/5.pdf (accessed 10 February 2019). (In Russian)

10. Seasonal variations in notification of active tuberculosis cases in China, 2005–2012 / X.X. Li [et al.] // PLoS One. 2013. Vol. 8(7) P. e68102 DOI:10.1371/journal.pone.0068102

11. The emerging role of gasotransmitters in the pathogenesis of tuberculosis / C. Krisha [et al.] // Nitric. Oxide. 2016. Vol. 59. P. 28-41. DOI: 10.1016/j.niox.2016.06.009.

12. Latent tuberculosis infection, tuberculin skin test and vitamin D status in contacts of tuberculosis patients: a cross-sectional and case-control study / Alberto Arnedo-Pena [et al.] //BMC Infectious Diseases. 2011. Vol.11. P. 349. DOI: 10.1186/1471-2334-11-349.

13. The seasonality of tuberculosis, sunlight, vitamin D, and household crowding / T. Wingfield // The Journal of infectious diseases. 2017. Vol. 210(5). P. 774-783. DOI: 10.1093/infdis/jiu121.

14. Glumnaya T.V. The influence of seasonal and environmental factors on the incidence of tuberculosis. Autoref. diss. ... candidate of medical Sciences. Moscow. 2002. 38 p. (In Russian)

15. Shtakk E.A., Belyaeva A.V., Molokanova Yu.P. Climate as an epigenetic factor of virulence and adaptive variability of mycobacterium tuberculosis h38rv // Modern problems of science and education. 2019. N 2(In Russian)

16. Sabine E., Schnappinger D., Mycobacterial survival strategies in the phagosome: defense against host stresses // Cellular Microbiology. Vol. 11(8). P. 1170-1178. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2009.01335.x.

17. Individual Mycobacterium tuberculosis universal stress protein homologues are dispensable in vitro / S.M. Hingley-Wilson [et al.] // Tuberculosis (Eniburgh). 2010. Vol. 90 (4). P. 236-244. DOI: 10.1016/j.tube.

УДК 60:615.3

ОПТИМИЗАЦИ ПРОЦЕССА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРОДУЦЕНТА ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗЫ В БИОРЕАКТОРЕ EVIO-LAB

Веселова С.Р., студ. 4 курса ФПТЛ
Руководитель: **Колодязная В.А.**, канд. биол. наук, доцент, зав. кафедры биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: sofya.veselova@spcpu.ru

Приводятся сведения об оптимизации процесса культивирования продуцента фермента холестеролоксидазы *Streptomyces lavendulae* в лабораторном биореакторе. Указываются экспериментальные данные о способах хранения активной споровой культуры продуцента и влиянии возраста споровой культуры на накопление фермента в условиях лабораторного биореактора, а также результаты экспериментов о влиянии количества посевного материала, который следует передавать в биореактор для максимального накопления целевого продукта.

Ключевые слова: *холестеролоксидаза, посевной материал, Streptomyces lavendulae, биореактор Evio-lab.*

Атеросклероз является одним из самых распространенных хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы человека. При атеросклерозе в кровеносных сосудах образуются бляшки, в следствие чего ухудшается кровоснабжение тканей и органов.

Существуют так называемые факторы риска, которые повышают вероятность заболевания атеросклерозом в любом возрасте. Одним из таких факторов является повышенный уровень холестерина в крови. Доказано, что если уменьшить уровень холестерина, то вероятность развития атеросклероза существенно снизится. Холестерин находится в крови в виде комплексов – липопротеидов. Липопротеиды низкой плотности переносятся с кровью из печени к периферическим тканям. Если в организме нарушен распад липопротеидов или их накапливается слишком много, происходит образование атеросклеротический бляшки, которая и затрудняет ток крови [1].

Важнейшей задачей является выявление атеросклероза на ранних стадиях заболевания. Для определения повышенного содержания холестерина в крови разработаны специальные тест-системы, в состав которых входит холестеролоксидаза – ФАД-зависимый фермент бактериального происхождения, относящийся к классу оксидоредуктаз. Этот фермент катализирует окисление холестерина до 4-холестен-3-она. Холестеролоксидаза имеет большое практическое значение, и помимо ее использования в лабораторной практике для диагностики атеросклероза фермент также применяется в биосинтезе полиеновых антибиотиков и стероидов, используется при лечении некоторых бактериальных и вирусных инфекций.

В настоящее время в России отсутствует производство холестеролоксидазы. Для создания диагностических систем фирмы закупают данный фермент у японского производителя Toyobo Enzymes через сеть дистрибьюторов во Франции и Германии.

Холестеролоксидазу получают микробиологическим синтезом с помощью ряда микроорганизмов, наиболее значимыми из которых являются актиномицеты (*Streptomyces sp., Nocardia sp., Rhodococcus sp.*). В данном исследовании процесс биосинтеза фермента осуществлялся с помощью культуры микроорганизма *Streptomyces lavendulae*., хранящейся и поддерживающейся в активном состоянии на кафедре биотехнологии СПХФУ.

На кафедре биотехнологии СПХФУ многие годы ведутся работы с продуцентом холестеролоксидазы. Изучаются особенности культивирования продуцента [2].

Процесс культивирования продуцента холестеролоксидазы является стадийным. Одна из основных стадий – выращивание вегетативного посевного материала. Посевным материалом называют «чистую» культуру продуцента, размноженную до объема, необходимого для засева аппарата для культивирования – ферментатора. Качество посевного материала непосредственно влияет на образование конечного продукта. В частности, показатели выхода целевого продукта зависят от особенностей микроорганизма-продуцента, возраста посевной культуры, состава посевной среды и количества посевного материала, поданного на стадию ферментации. Так как эти показатели индивидуальны для каждого микроорганизма и зависят от особенностей культуры, то предварительно в лабораторных условиях изучаются условия выращивания вегетативного посевного материала, способные обеспечить максимальный выход целевого продукта на стадии ферментации. На стадии выращивания посевного материала контролируют следующие показатели: структура клеток продуцента, их микроскопическое развитие, количество биомассы, значение pH в пробе вегетативного мицелия и стерильность (отсутствие посторонних микроорганизмов).

Так как качество посевного материала предопределяет выход целевого продукта на стадии ферментации, необходимо определить готовность посевного материала с целью передачи его на следующую стадию в тот момент, когда он находится в наиболее активном состоянии. Критерием готовности посевного материала принято считать окислительно-восстановительную (дегидрогеназную) активность культуры, характеризующую интенсивность дыхания мицелия. Для ее определения исследуют время обесцвечивания раствора метиленового синего вегетативным мицелием, которое находится в обратной зависимости от дегидрогеназной активности. Ранее, в ходе проведенных исследований процессов культивирования продуцента холестеролоксидазы микроорганизма *Streptomyces lavendulae* было доказано, что наибольшая активность фермента наблюдалась при засеве ферментационной питательной среды посевным материалом в возрасте 21 час.

В многочисленных исследованиях и экспериментах в течение ряда лет был разработан метод получения фермента в лабораторных условиях, который предполагает культивирование биообъекта в колбах Эрленмейера на качалочных платформах в течение 24 часов. Однако данный метод имеет существенные недостатки: отсутствие возможности подачи воздуха в нужных оптимальных условиях, отведения углекислого газа, невозможность регулирования частоты оборотов при вращении качалочной платформы. Выход целевого продукта при использовании колб достаточно низкий.

В связи с этим было проведено масштабирование – перенос процесса ферментации из качалочных колб в лабораторный биореактор. В ходе проведения эксперимента параллельно в биореакторе и на колбах было установлено, что выход целевого продукта при использовании лабораторного ферментера оказался значительно выше по сравнению с аналогичным экспериментом на колбах.

Целью данного исследования является установление зависимости выхода фермента холестеролоксидазы и его активности от качества и количества посевного материала, подаваемого на стадию ферментации.

Материалы и методы

Объектом исследования в данной работе является продуцент холестеролоксидазы – культура *Streptomyces lavendulae.*

Первый этап – выращивание посевного материала. Состав питательной среды для выращивания посевного материала: глюкоза – 1%; NH4NO3 – 0,2%; CaCO3 – 0,2%; дрожжи хлебопекарные – 2,6%. Компоненты среды растворяют в водопроводной воде и доводят объем до 150 мл, после чего переносят весь объем среды в качалочную колбу объемом 750 мл и стерилизуют при давлении 0,7 атм в течение 45 мин. В колбу со стерильной питательной средой вносят споровый материал из пробирки (1 см^2). Выращивание проводят на качалочной платформе с частотой оборотов 200-220 об/мин при температуре 28±1°С в течение 24 часов.

Второй этап – ферментация. Готовится питательная среда аналогичного состава. Для приготовления 1 л среды все компоненты, кроме хлебопекарных дрожжей, растворяются в необходимом количестве водопроводной воды, объем доводится до 750 мл. Дрожжи растворяются в 250 мл водопроводной воды в отдельной емкости.

Хлебопекарные дрожжи, которые в составе питательной среды служат источником органического азота, содержат живые клетки культуры *Saccharomyces cerevisiae.* Было доказано экспериментально, что при автоклавировании дрожжей хлебопекарных в составе среды вместе с лабораторным биореактором их клетки не погибают полностью. В связи с этим была предложена методика, в ходе которой отдельно готовятся суспензия хлебопекарных дрожжей в воде и раствор оставшихся компонентов среды. Раствор автоклавируется вместе с биореактором отдельно от суспензии дрожжей, затем стерильная суспензия асептично передается в биореактор с полноценной питательной средой с помощью перистальтического насоса.

Перед началом ферментации на лабораторном биореакторе устанавливаютсся следующие параметры: температура 27±1°С; число оборотов мешалки – 600 об/мин; аэрация – 5-6 л/мин. Температура в биореакторе регулируется с помощью подачи холодной воды в рубашку аппарата.

После того, как в аппарате установится нужная температура, производится засев биореактора посевным материалом с помощью перистальтического насоса в асептических условиях (из ламинара). Время ферментации составляет 24 ч.

По окончании ферментации проводилось определение уровня активности холестеролоксидазы по методу Ричмонда. Данный ферментативный метод является достаточно точным, основан на действии холестеролоксидазы, полученной из культуральной жидкости после ферментации, на холестерин. В результате реакции образуется перекись водорода и холестенон, который определяют спектрофотометрически по изменению светопоглощения при длине волны 240 нм [3].

Результаты и обсуждение

После каждой ферментации измерялась активность образовавшегося фермента в мицелии, а также в нативном растворе, полученном после фильтрации культуральной жидкости.

Было установлено, что выход целевого фермента при культивировании в биореакторе в результате всех экспериментов оказывался выше, чем при аналогичном процессе на колбах.

Важное условие – выбрать для засева активный споровый материал. При проведении исследований, на первом этапе основной задачей исследования стояло выявление выживаемости клеток культуры продуцента S. *lavendulae.* в посевных партиях и сохранение активности получаемого нами фермента на заданном уровне. Хранение посевных партий проводили в холодильных камерах при температуре + 4 ºС. Было установлено, что уже через полгода хранения посевного материала показатели активности фермента и биомассы продуцента начинают падать в среднем на 4-5 % по отношению к контрольному варианту. Спустя ещё 2 месяца, активность падает уже на 15 % (по отношению к контрольному варианту), а спустя год снижается до 15 %. Такие партии являются нестабильными по уровню холестеролоксидазной активности. Соответственно, каждые 4-6 месяцев следует проводить поддерживающие отборы (монорассевы) культуры, отбирая активные клоны для приготовления производственных партий [4].

Для установления зависимости выхода целевого продукта от возраста культуры были проведены ферментации. В ряде опытов посевной материал для засева биореактора готовился из споровой культуры, которая хранилась при температуре +4^{0}С 9 месяцев, а в последующих экспериментах – из свежевыращенной споровой культуры (не более 4 месяцев хранения). Количество питательной среды и количество посевного материала в обоих экспериментах были идентичны. Выход по биомассе в эксперименте со свежей культурой, а также активность холесетролоксидазы в биомассе оказались значительно выше, чем в опыте со старой культурой. Для сравнения результатов параллельно с биореактором в качестве контроля запускался аналогичный процесс в качалочных колбах.

В таблице 1 приведены сведения о накоплении фермента при использовании посевных партий различного возраста.

Таблица 1 – Зависимость накопления биомассы и активности холестеролоксидазы от возраста споровой посевной культуры продуцента

Возраст спорового посевного материала	Биомасса, г/л	Активность в биомассе % к контролю	Активность в нативном растворе, % к контролю
4 месяца	35,9±0,5	105±0,5	100±0,3
6 месяцев	35,1±0,5	98±0,5	97±0,3
7 месяцев	35,9±0,5	85±0,5	82±0,3
9 месяцев	28,25±0,5	58±0,5	64±0,2

Эксперименты подтвердили, что при засеве биореактора вегетативным посевным материалом, полученным из споровой культуры, хранящейся более 6 месяцев, активность фермента и в биомассе, и в нативном растворе значительно снижается по сравнению с тем, если используют в работе более свежие рабочие партии спорового посевного материла.

При приготовлении питательных субстратов следует использовать стандартные компоненты четко определенного состава, полученные от надежных поставщиков. В ранее проведенных исследованиях было показано, что для ферментации продуцента, приводящего к максимальному выходу целевого продукта, в питательные среды в качестве источника углеродного питания следует добавлять только глюкозу. Однако, в нашей промышленности используются несколько видов глюкозы – водная и безводная.

Был проведен эксперимент по установлению зависимости выхода и активности фермента холестеролоксидазы от состава питательной среды, в частности от вида глюкозы. При одинаковом соотношении питательной среды и посевного материала в процессе ферментации оказалось, что при использовании безводной глюкозы выход по биомассе и активность холестеролоксидазы в биомассе выше, чем при использовании 1-водной глюкозы. Процентное содержание компонента в средах не меняли. Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Зависимость активности холестеролоксидазы от состава среды

Источник углеродного питания в составе среды	Биомасса, г/л	Активность в биомассе, ЕД/мл	Активность в нативном растворе, ЕД/мл
Глюкоза 1-водная	35,9	1,1±0,2	0,2±0, 05
Глюкоза безводная	39,4	1,3±0,2	-

Из таблицы 2 видно, что вид глюкозы в составе питательных сред не оказывает существенного слияния на накопление биомассы и образование фермента. Однако, при использовании глюкозы безводной фермент холестеролоксидаза полностью накапливается в биомассе и в нативный раствор не выделяется, что является важным преимуществом для исключения потерь целевого продукта на стадиях его выделения.

Следующим этапом работы было определение количества вносимого в биореактор посевного материала для проведения процесса ферментации. Посевной материал выращивали в стандартных условиях в качалочных колбах, а для передачи его в биореактор использовали различное количество по отношению к объему питательной среды в биореакторе – от 6% как в качалочных колбах (контроль) до 10%. Установлено, что при передаче посевного материала в количестве, превышающем 6% от объема питательной среды, активность фермента в биомассе увеличивается примерно на 20%. В настоящее время продолжаются работы по установлению оптимального соотношения объемов питательной среды и посевного материала на стадии ферментации.

Данные приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Зависимость активности холестеролоксидазы от количества посевного материала

Количество посевного материала	Биомасса, г/л	Активность в биомассе, ЕД/мл
6%	28,7±0,3	1,3±0,2
10%	32,4±0,3	1,55±0,2

Заключение

Таким образом, в работе было установлено, что для максимального накопления фермента холестеролоксидазы в условиях лабораторного биореактора EVIO-LAB, споровый посевной материал следует хранить на скошенном агаре в условиях холодильника при температуре+4^{0}С не более 6 месяцев. На стадию ферментации нужно подавать не менее 10% вегетативного посевного материала по отношению к объему питательного субстрата в биореакторе, выращенного в качалочных колбах. Работы по оптимизации процесса культивирования продуцента холестеролоксидазы в биореакторе EVIO-LAB продолжаются.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00 Биотехнология

62.13.27 Оптимизация биотехнологических процессов

ЛИТЕРАТУРА

1. Kumari L., Kanwar S.S. Cholesterol Oxidase and Its Applications // Advances in Microbiology. 2012. Vol. 2(2). P. 49-65. DOI: 10.4236/aim.2012.22007
2. Колодязная В.А., Топкова О.В., Яковлева Е.П. Регуляция процесса биосинтеза биологически активных веществ: монография. М.: КНОРУС, 2019. 150 с.
3. Richmond W. Preparation and Properties of a Cholesterol Oxidase from Nocardia sp. and Its Application to the Enzymatic Assay of Total Cholesterol in Serum // Clinical Chemistry. 1973. Vol. 19(12). P. 1350-1356.
4. Сафиуллина К.В., Колодязная В.А. Зависимость синтеза фермента холестеролоксидазы от способа выращивания посевного материала продуцента : Сб. мат-лов V Всероссийской научно-практической конференции с междунар. участием «Инновации в здоровье нации». СПб. 2017. С. 341-344.

SUMMARY

OPTIMIZATION PROCESS OF CULTIVATION PRODUSER OF CHOLESTEROL OXIDASE ENZYME IN BIOREACTOR EVIO-LAB

Veselova S.R., 4th year undergraduate
Academic advise: **Kolodyaznaya V. A.**, Candidate of Biological Science, senior lecturer
St. Peterburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: sofya.veselova@spcpu.ru

Information is given on the optimization of the process of cultivation of the producer of the enzyme cholesterol oxidase Streptomyces lavendulae in a laboratory bioreactor. Experimental data are indicated on the methods of storing the active spore culture of the producer and the effect of the age of the spore culture on the accumulation of the enzyme in a laboratory bioreactor, as well as the results of experiments on the effect of the amount of inoculum that should be transferred to the bioreactor to maximize the accumulation of the target product.

Keywords: *cholesterol oxidase, inoculum, Streptomyces lavendulae, bioreactor Evio-lab.*

REFERENCES

1. Kumari L., Kanwar S.S. Cholesterol Oxidase and Its Applications // Advances in Microbiology. 2012. Vol. 2(2). P. 49-65. DOI: 10.4236/aim.2012.22007
2. Kolodyaznaya V.A. Topkova O.V., Yakovlev E.P. Regulation of the process of biosynthesis of biologically active substances : monograph. Moskow: KNORUS, 2019. 150 p. (In Russian)
3. Richmond W. Preparation and Properties of a Cholesterol Oxidase from Nocardia sp. and Its Application to the Enzymatic Assay of Total Cholesterol in Serum // Clinical Chemistry. 1973. Vol. 19(12). P. 1350-1356.
4. Safiullina K.V., Kolodyaznaya V.A. Dependence of the synthesis of the enzyme cholesterol oxidase on the method of growing the inoculum of the producer : Collection of materials of the V All-Russian scientific and practical conference with international participation «Innovations in the health of the nation». St. Petersburg. 2017. P. 341-344. (In Russian)

УДК 63:632.951.2

АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ШТАММА *STREPTOMYCES SP.* VIZR 18 – ПРОДУЦЕНТА НОВОГО ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНОГО БИОПРЕПАРАТА

Воронина Я.А., маг. 2 года обучения
Руководитель**: Котова Н.В**., доцент кафедры биотехнологии, к.х.н.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: yana.voronina@spcpu.ru

Впервые исследована и дана характеристика морфотипов штамма стрептомицета *Streptomyces sp.* VIZR 18 – перспективного продуцента нового полифункцинального биопрепарата. Также проведена селекция и поддерживающий отбор активных вариантов по признаку инсектоакарицидной активности. На основе штамма *Streptomyces sp.* VIZR 18 получен лабораторный образец нового полифукционального биопрепарата, эффективный в отношении сосущих вредителей сельскохозяйственных культур – тлей, паутинного клеща, трипсов.

Ключевые слова: *болезни растений, вредители, инсектоакарицидное действие, актиномицеты, антагонистическая активность, вторичные метаболиты.*

Получение качественной сельскохозяйственной продукции невозможно без защиты возделываемых культур от многочисленных вредителей и болезней.

В системах интегрированной защиты растений особое место занимает биологическая защита, одним из элементов которой является использование микроорганизмов и их вторичных метаболитов для создания эффективных, экологически безопасных биоинсектицидов с разным механизмом действия.

Существенные различия в биологии вредителей сельскохозяйственных культур, их высокая экологическая пластичность, приводящая к появлению резистентных к пестицидам форм, изменение видового разнообразия вследствие изменений климата и технологий возделывания различных культур, усиление антропогенных воздействий на агроэкосистемы в последние десятилетия и появление агрессивных инвазионных видов, определяли ранее и определяют в настоящее время необходимость постоянного совершенствования химического метода защиты растений.

В связи с этим, актуальной представляется проблема разработки новых экологически безопасных и эффективных биопрепаратов на основе микробных метаболитов с широким спектром инсектоакарицидного действия. Наиболее перспективными в этой связи представляются почвенные микроорганизмы, в частности актиномицеты. Вторичные метаболиты, полученные из актиномицетов, являются потенциальным источником многих новых соединений с антибактериальными, противоопухолевыми, противогрибковыми, противовирусными, противопаразитарными и другими свойствами. Они широко используются в медицине, ветеринарной практике, сельском хозяйстве и в промышленности.

По данным исследований распространенности и видового разнообразия актиномицетов, культуры рода *Streptomyces* составляют 80–95% от всех актиномицетов, населяющих почву, а среди известных биоактивных микробных вторичных метаболитов подавляющее большинство продуцируются актиномицетами, 70% которых относятся к роду *Streptomyces*.

Биологические инсектициды на основе стрептомицетов зарекомендовали себя, как эффективные средства борьбы с вредными членистоногими. Им присуща специфичность, низкая токсичность, простота культивирования, а также способность к деградации в естественных круговоротах веществ. Разнообразие их химической природы обуславливает низкую степень адаптации к ним вредных насекомых.

Целью настоящей работы стало обоснование использования вторичных метаболитов штамма *Streptomyces sp*. VIZR 18 для создания на их основе нового инсектоакарицидного полифункционального биопрепарата.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1) Охарактеризовать культурально-морфологические особенности и биологическую активность штамма *Streptomyces sp.* VIZR 18.

2) Обосновать перспективность использования данного штамма в фитосанитарных технологиях и, в частности, в комплексных биологических системах зашиты растений от вредителей.

3) Выявить клоны с высокой инсектоакарицидной активностью и получить на их основе лабораторные образцы биопрепаратов.

4) Оценить биологическую активность лабораторных образцов препарата в отношении сосущих вредителей сельскохозяйственных культур в лабораторных и полевых условиях.

Материалы и методы

Объектом исследования служил штамм стрептомицета, обладающий инсектоакарицидной активностью: *Streptomyces sp.* VIZR 18. На агаризованной среде 19/6 штамм образует колонии от грязно-светло-серого до грязно-зеленого цвета, с бархатистой поверхностью, ровными краями; характеризуется наличием хорошо развитого воздушного мицелия. Субстратный мицелий может быть окрашен в цвета от светло-коричневого до коричневого. При микроскопии обнаруживается, что штамм образует длинные тонкие гифы мицелия (рис. 1).

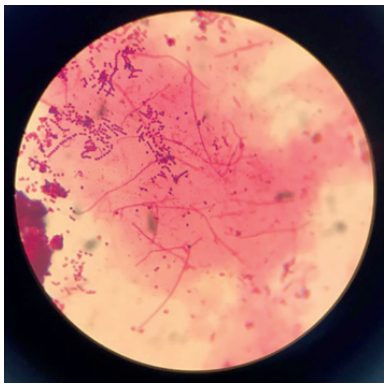


Рисунок 1. Микроскопия и окраска фуксином культуры *Streptomyces sp.* VIZR 18

Для выращивания и хранения штамма использовали полноценную агаризованную среду 19/6, для выращивания посевного материала и процесса ферментации использовали жидкую среду № 5, при скрининге антагонистической активности в отношении тест-микроорганизмов использовали агар Чапека с глюкозой.

Клоны штамма *Streptomyces sp.* VIZR 18 выращивали поверхностным и глубинным способами. Выращивание культур на агаризованных питательных средах проводили в течение 4 суток при t= 27±2°C в термостате. Глубинное культивирование в лабораторных условиях осуществляли в колбах Эрленмейера вместимостью 750 мл при t= (27±2)°C в течение 4 суток при постоянном перемешивании.

Антагонистические свойства штамма определяли методом агаровых блоков. В качестве тест-микробов использовали мицелиальные грибы полученные из Государственной коллекции микроорганизмов ВИЗР:

Fusarium solani

Alternaria solani

Fusarium redolens

Оценку инсектицидной активности штаммов в лабораторных условиях, а затем и образцов биопрепаратов при контактном способе обработки проводили на виковой тле *(Megoura viciae* Buckton).

После наработки активных моноклонов культуры *Streptomyces sp.* VIZR 18, методом наложения петли определяли их первичную антагонистическую активность по диаметру зоны лизиса тест-культур фитопатогенных грибов. Чашки помещали в термостат и инкубировали при температуре 27±2°С. Зоны лизиса измеряли через 4 суток после посева.

Самые активные варианты, отобранные после первичной оценки антагонистической активности, были исследованы далее.

Антифунгальную активность проверяли методом лунок. Суспензии фитопатогенных грибов равномерно распределяли по всей поверхности плотной питательной среды Чапека. После засева в питательном агаре буром вырезали лунки диаметром 5 мм, которые заполняли культуральной жидкостью отобранных изолятов.

Афицидную активность в лабораторных условиях определяли по методике, разработанной в лаборатории микробиологической защиты растений, которая основана на контактном взаимодействии культуральной жидкости и тест-объекта. На фильтровальную бумагу, помещенную в чашку Петри диаметром 40 мм, наносили 0,3 мл культуральной жидкости (в соответствии с номером отобранных клонов) в двух повторностях, и подсаживали 20 особей тест-насекомого (*Megoura viciae* Buckton). В качестве контроля использовали водопроводную воду и также 20 особей тест-насекомого. Учет погибших насекомых проводили через 2, 6 и 24 часа.

Заключительным этапом работы стала наработка лабораторного образца биопрепарата, её проводили по следующей схеме:

1. Выращивание культуры на жидкой соевой среде (среда №5) в колбах Эрленмейера содержащих 120 мл среды на лабораторной качалке при температуре 27±2°С в течение 4 суток. Чистота культуральной жидкости была проверена микроскопически, снимки приведены на рисунке 2.

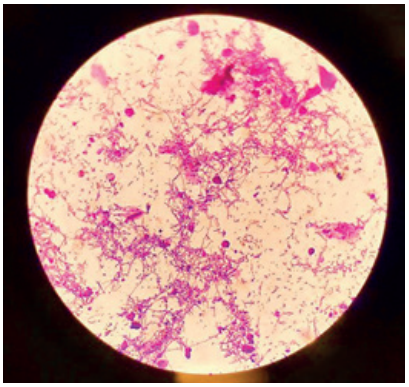


Рисунок 2. Морфологические варианты колоний штамма *Streptomyces sp.* VIZR 18

2. Отделение мицелия от нативного раствора центрифугированием (15 минут при 11000 об/мин);

3. Экстракция отделённого мицелия этанолом в соотношении 1:5 в течение 30 минут при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке;

4. Отделение экстракта биомассы под вакуумом;

5. Удаление растворителя на роторном испарителе при t=45±2°С;

5. Оставшийся после выпаривания спирта водный экстракт тонким слоем разливали в чашки Петри и помещали в сушильный шкаф на 24-48 часов при 38°С.

Результаты и обсуждение

Таким образом была оценена антифунгальная и афицидная активность 27 моноклонов. В результате, после оценки, для получения лабораторного образца биопрепарата, были отобраны 4 клона, показавшие наилучшие результаты:

Клон №1. Диаметр зоны отсутствия роста (мм) за 4 суток следующий: *Alternaria solani* (15,0 x 15,0); *Fusarium solani* (15,0 x 15,0); ***Fusarium redolens*** (12,0 x 12,0). В опыте с *Megoura viciae* Buckton клон проявил 100% афицидную активность.

Клон №2. Диаметр зоны отсутствия роста (мм) за 4 суток следующий: *Alternaria solani* (15,0 x 15,0); *Fusarium solani* (15,0 x 15,0); ***Fusarium redolens*** (12,0 x 12,0). В опыте с *Megoura viciae* Buckton клон проявил 100% афицидную активность.

Клон №15. Диаметр зоны отсутствия роста (мм) за 4 суток следующий: *Alternaria solani* (15,0 x 15,0); *Fusarium solani* (15,0 x 15,0); ***Fusarium redolens*** (15,0 x 15,0). В опыте с *Megoura viciae* Buckton клон проявил 100% афицидную активность.

Клон №27. Диаметр зоны отсутствия роста (мм) за 4 суток следующий: *Alternaria solani* (20,0 x 24,0); *Fusarium solani* (отсутствие зон лизиса); ***Fusarium redolens*** (12,0 x 12,0). В опыте с *Megoura viciae* Buckton клон проявил 100% афицидную активность.

Заключение. На основе этих 4 клонов и проводили наработку лабораторного образца препарата. Заключительным этапом работы станет проверка инсектицидных свойств полученного порошка биопрепарата в лабораторных и полевых условиях.

Таким образом, реализуя цель и данный план исследования, будет получен новый продуцент полифункционального биопрепарата для защиты растений от сосущих вредителей.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

68.37.13 Методы защиты растений от вредителей, болезней и сорняков

62.13.53 Биотехнологическое получение микробиологических удобрений

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойкова И.В. Вторичные метаболиты актиномицетов – основа для создания новых инсектицидных биопрепаратов // Вестник защиты растений. 2016. Вып. 3(89). С. 30-32.

2. Долженко Т.В., Долженко В.И. Инсектоакарициды на основе Абамектина // Агрохимия. 2017. N 4. С. 34-40.

3. Емцев В.Т. Мишустин Е.Н. Сельскохозяйственная микробиология: учебник для академического бакалавриата. М.: Юрайт. 2018. 205 с.

4. Кочкина В.А., Назарова Я.И., Широких И.Г. Изучение биосинтетического потенциала почвенных стрептомицетов // Экология родного края : проблемы и пути их решения. 2018. С. 66-69.

5. Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes / J. Solecka [et al.] // Central European Journal of Biology. 2012. Vol. 7(3). P. 373–390. DOI: 10.2478/s11535-012-0036-1

SUMMARY

ANALYSIS OF THE BIOLOGICAL FEATURES OF THE *STREPTOMYCES SP.* VIZR 18 – A PRODUCER OF A NEW POLYFUNCTIONAL BIOLOGICAL PREPARATION

Voronina Y.A., 2st year undergraduate

Academic advise: **Kotova N.V.,** associate Professor of the Department of Biotechnology, candidate of chemical sciences

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: yana.voronina@spcpu.ru

For the first time, the morphotypes of Streptomyces strain *Streptomyces sp.* VIZR 18, a promising producer of a new multifunctional biological product, were investigated and characterized. Selection and supportive selection of active variants on the basis of insecticidal activity was also carried out. Based on the strain Streptomyces sp. VIZ 18, a laboratory sample of a new multifunctional biological product was obtained, effective against sucking pests of agricultural crops – aphids, spider mites, thrips.

Keywords: *plant diseases, pests, insectoacaricidal action, actinomycetes, antagonistic activity, secondary metabolites.*

REFERENCES

1. Boikova I.V. Secondary metabolites of actinomycetes – the basis for the creation of new insecticidal biological products // Bulletin of plant protection. 2016. N 3(89). P. 30-32. (In Russian)

2. Dolzhenko T.V., Dolzhenko V.I. Insectoacaricides based on Abamectin // Agrochemistry. 2017. N 4. P. 34-40. (In Russian)

3. Emtsev V.T., Mishustin E.N. Agricultural microbiology: a textbook for academic undergraduate studies. M .: Yurayt, 2018. 205 p. (In Russian)

4. Kochkina V.A., Nazarova Ya.I., Shirokikh I.G. Study of the biosynthetic potential of soil streptomycetes // Ecology of the native land: problems and ways to solve them. 2018. P. 66-69. (In Russian)

5. Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes / J. Solecka [et al.] // Central European Journal of Biology. 2012. Vol. 7(3). P. 373–390. DOI: 10.2478/s11535-012-0036-1

УДК 577.151.4

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОЙ НУКЛЕАЗЫ PACAS9 ПРИ РЕДАКТИРОВАНИИ ГЕНОМА В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ

Гусев А.В., маг. 2 года обучения

Научный руководитель: **Мадера Д.А.**, PhD, ст. преподаватель НОЦ ТРБ

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация

E-mail: gusev.aleksandr@pharminnotech.com

В результате проведенного исследования была осуществлена оценка активности геномной нуклеазы PaCas9 в клетках U-87 MG посредством анализа частоты геномных модификаций с использованием T7 эндонуклеазы I. Показано, что в выбранных условиях исследуемая нуклеаза не обладает активностью, достаточной для выявления данным методом.

Ключевые слова: *редактирование генома, технология CRISPR/Cas9, клеточная линия, оценка эффективности таргетирования генома, T7 эндонуклеаза I, PaCas9.*

Под термином «редактирование генома» понимается целый ряд методик, подразумевающих точное и целенаправленное изменение последовательности ДНК.

Существует множество методик направленного изменения сложных эукариотических геномов, однако наиболее широко используемой в настоящее время является технология CRISPR/Cas9 [1].

Системы CRISPR/Cas представляют собой «иммунные системы» бактерий и архей, которые разрушают чужеродные геномы, используя Cas нуклеазы, направляемые с помощью коротких молекул РНК. При этом, важно отметить, что для работы системы необходимо присутствие двух молекул РНК – CRISPR РНК (crRNA), направляющей нуклеазу к целевой последовательности, и трансактивационной РНК (tracrRNA), необходимой для связывания Cas с ДНК [2].

Возможность направлять Cas нуклеазы к выбранным целевым ДНК, используя CRISPR РНК с различными последовательностями, привела в конечном счете к разработке эффективного и относительно простого в использовании инструмента геномной инженерии. Кроме того, процесс был еще более облегчен путем искусственного объединения двух РНК, необходимых для работы системы, в одну, так называемую гидовую РНК (sgRNA) [2].

Системы CRISPR/Cas у разных организмов различаются между собой с точки зрения строения эффекторных комплексов и механизмов их действия. У наиболее известных эффекторных белков Cas9, принадлежащих ко II классу систем CRISPR/Cas, функции связывания CRISPR РНК и расщепления ДНК объединены в один, хотя и довольно крупный белок, и эта простота стала причиной их обширного использования для фундаментальных научных исследований и практических задач [3].

Полученная из бактерии *Streptococcus pyogenes* эффекторная нуклеаза Cas9 (SpCas9), относящаяся к системам CRISPR-Cas типа II-A, была первой Cas нуклеазой, успешно использованной для геномной инженерии в клетках человека. В настоящее время, SpCas9 по-прежнему остается самым изученным и часто используемым ферментом своего класса благодаря его высокой эффективности и требованию к относительно короткому PAM (protospacer adjacent motif – мотив, смежный с протоспейсером) – нескольким нуклеотидам, смежным с целевым сайтом, которые необходимы для эффективного распознавания и расщепления ДНК. Несмотря на это, SpCas9 имеет и некоторые недостатки, в том числе относительно большой размер гена и ограничение по мишеням, которые должны примыкать к PAM-последовательности 'NGG' [2].

Актуальной проблемой, связанной с использованием технологии CRISPR/Cas9, является также разработка метода эффективной доставки компонентов системы в клетки млекопитающих. Аденоассоциированные вирусы рассматриваются в качестве наиболее подходящих векторов благодаря их низкой иммуногенности и цитотоксичности, низкой частоте провирусной встройки в геном, а также высокой эффективности трансдукции различных клеточных линий. Тем не менее, небольшая емкость генома этих вирусов (не более 4,7 т. п. н.) не позволяет клонировать ген, кодирующий SpCas9 (~4,2 т. п. н.) вместе с геном гидовой РНК и необходимыми экспрессионными элементами в одну вирусную частицу [3]. Одним из уже активно используемых небольших белков семейства является нуклеаза SaCas9, однако для таргетирования локусов ей требуется довольно большой PAM: NNGRRT (R = G или A) [4]. Недавно из бактериально метагенома губки *Homoeodictya palmata* была выделена ещё одна небольшая нуклеаза PaCas9, свойства и пригодность к использованию для редактирования генома которой пока не были исследованы в должном объёме.

Целью данного исследования является определение эффективности новой нуклеазы PaCas9 при редактировании генома в клеточных линиях.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

1. Получить несколько вариантов плазмид, несущих в себе гены, кодирующие нуклеазу PaCas9 и гидовые РНК, специфичные к выбранным участкам в пределах целевого гена, в составе кассет для эукариотической экспрессии.
2. Провести трансфекцию полученных плазмид в клеточную линию U-87 MG.
3. Осуществить оценку эффективности редактирования генома с помощью T7 эндонуклеазы I.

Материалы и методы

В качестве целевого гена для редактирования был выбран ген *SMN1* (ген выживаемости моторных нейронов 1), повреждение которого является причиной развития спинальной мышечной атрофии. В экзонах исследуемого гена были выбраны пять участков, примыкающих к последовательности PAM, предположительно распознаваемой нуклеазой PaCas9 в соответствии с её PAM консенсусом.

Для экспрессии нуклеазы в клетках U-87 MG были получены пять генетических конструкций, содержащих ген *PaCas9* под регуляцией промотора CMV и с сигналом терминации транскрипции поздних генов вируса SV40. К последовательности белка с N-конца был добавлен сигнал ядерной локализации. Также в плазмиды были клонированы последовательности гидовых РНК (по одной на каждый вектор), экспрессирующиеся с промотора U6.

Клонирование гидовых РНК осуществляли посредством встраивания последовательностей гидовых РНК, полученных *de novo*, в вектор, содержащий ген *PaCas9*, связанный через элемент T2A с геном e*GFP*, и остальные необходимые элементы, с помощью рестриктазно-лигазного метода. Полученные конструкции трансформировались в клетки *Escherichia coli*, после чего клетки, несущие плазмиды, отбирали по устойчивости к ампициллину, ген устойчивости к которому находился в генетических конструкциях. Правильность последовательностей полученных плазмид подтверждали секвенированием по Сэнгеру, после чего осуществляли их наработку в необходимом для трансфекции клеток U-87 MG количестве.

Для проведения трансфекции клетки U-87 MG за 6 часов до начала трансфекции засевали в 12-луночный планшет с плотностью 50 000 кл/см^2. Клетки были транзиентно трансфицированы 750 нг плазмиды с 1,5 мкл Lipofectamine 3000

и 1,75 мкл реагента P3000 на лунку. В качестве флуоресцентного маркера для оценки эффективности трансфекции методом проточной цитометрии использовали усиленный зеленый флуоресцентный белок (eGFP). Через 72 часа после трансфекции клетки собирали и осуществляли выделение геномной ДНК с помощью набора DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN) согласно инструкции производителя.

Помимо общего пула клеток после трансфекции, для увеличения количества клеток, экспрессирующих нуклеазу PaCas9, проводили обогащение клеток, экспрессирующих GFP с использованием флуоресцентно-активированной сортировки клеток (FACS) с помощью клеточного сортера. В данном случае клетки через 72 часа после трансфекции ресуспендировали в среде EMEM и сортировали, после чего из них также выделяли геномную ДНК.

Полученную геномную ДНК далее использовали в качестве матрицы для ПЦР-амплификации участков гена *SMN1*, содержащих целевые сайты нуклеазы PaCas9, в 2 этапа («гнездовая» ПЦР). Для обеспечения наибольшей точности амплификации использовали Q5 ДНК-полимеразу с технологией «горячего старта» (NEB).

Используемые праймеры:

sgRNA_v1-SMN_exon1(F1:GTGTTTAAGGATCTGCCGCC,

F2:TTAAGGATCTGCCGCCTTCC, R1:AAGTGGTTCCCCTGCTTCAC, R2:TGCTTCACCCTGGCCTAATG);

sgRNA_v2-SMN_exon5/sgRNA_v5-SMN_exon4(F1:GGCCCTACATTGCTATGACA, F2:CCTCCCGCTATTCACAACAA, R1:GGGATTACAGGCGTGAGCTA, R2:CGTCCGGCGCATTATTATAC);

sgRNA_v3-SMN_exon3/sgRNA_v4-SMN_exon3(F1:GGCCCTACATTGCTATGACA, F2:GGGCCATGAATATCAGGAAG, R1:GGGATTACAGGCGTGAGCTA, R2:GAGAAAGGCTTGGGGTCTAA);

Гомодуплексные (состоящие из двух полностью комплементарных цепей) продукты ПЦР денатурировали и регибридизировали с использованием понижающих условий отжига для получения гомо – и гетеродуплексов (образовывающихся в случае, если геномная матрица подверглась редактированию). Смесь дуплексов обрабатывали T7 эндонуклеазой I (NEB), расщепляющей только участки ДНК с некомпементарными основаниями, в течение 30 мин при +-37°C. Реакцию останавливали, используя 1,5 мкл 0,25 M ЭДТА, и продукты анализировали электрофорезом в 3% агарозном геле (90 В, 90 мин).

Активность нуклеазы по редактированию генома в конкретном сайте рассчитывалась по следующей формуле:

$$\%\ \text{gene modification} = 100 \times (1 - (1 - \text{fraction cleaved})^{1/2}),$$

где:

fraction cleaved = molar ratio 2/(molar ratio 1 + molar ratio 2),

molar ratio 1 – молярное соотношение, рассчитанное для мажорного бенда,

molar ratio 2 – молярное соотношение, рассчитанное для специфичного бенда.

Результаты и обсуждение

Для определения эффективности редактирования генома нуклеазой PaCas9 были получены 5 генетических конструкций, содержащих ген исследуемой нуклеазы и последовательности гидовых РНК, специфичных к различным участкам гена *SMN1*. Эти конструкции далее использовались для трансфекции клеток глиобластомы человека (U-87 MG). Результаты оценки эффективности трансфекции, оцениваемой по количеству содержащих GFP клеток, и жизнеспособности клеток, определяемой путем их окрашивания пропидий йодидом (способен окрашивать только мертвые клетки), представлены на рис. 1.

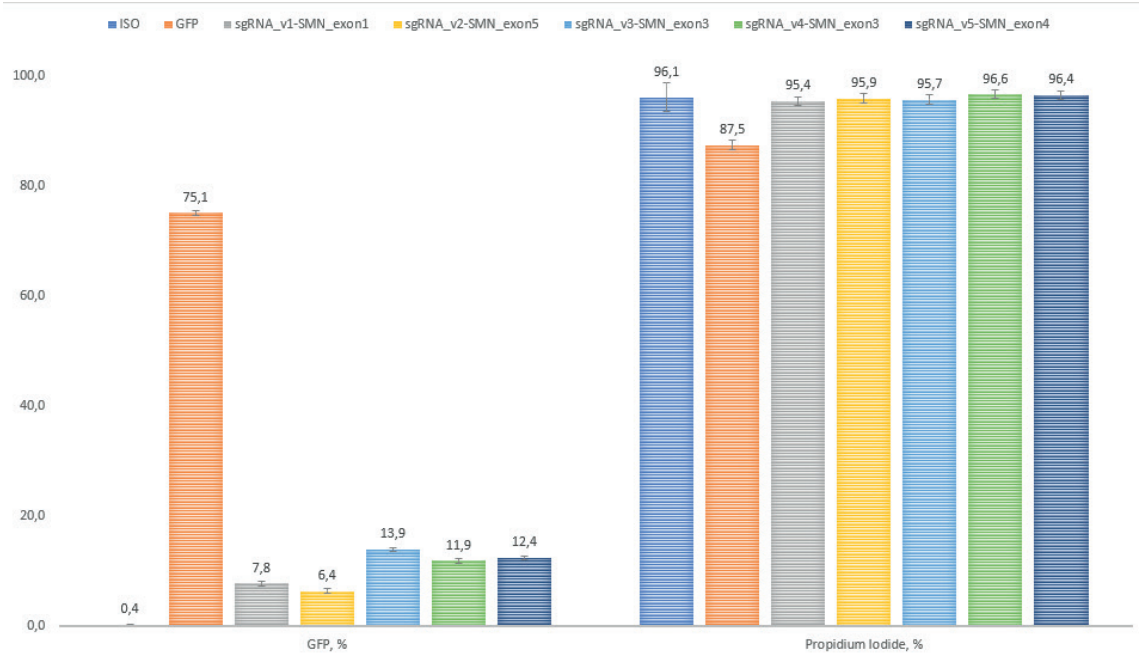


Рисунок 1. Результаты трансфекции клеток U-87 MG исследуемыми плазмидами. GFP, %: эффективность трансфекции, соответствующая проценту содержащих GFP клеток. Propidium Iodide, %: жизнеспособность трансфицированных клеток, соответствующая проценту клеток, не содержащих пропидий йодид

ISO – клетки «дикого типа», отрицательный контроль; GFP – клетки, трансфицированные плазмидой, содержащей только ген *GFP*, положительный контроль; sgRNA_v1-SMN_exon1 – клетки, трансфицированные плазмидой с sgRNA_v1; sgRNA_v2-SMN_exon5 – клетки, трансфицированные плазмидой с sgRNA_v2, sgRNA_v3-SMN_exon3 – клетки, трансфицированные плазмидой с sgRNA_v3, sgRNA_v4-SMN_exon3 – клетки, трансфицированные плазмидой с sgRNA_v4, sgRNA_v5-SMN_exon4 – клетки, трансфицированные плазмидой с sgRNA_v5.

Полученные результаты свидетельствуют об успешной трансфекции плазмиды, несущей ген GFP, в клеточную линию U-87 MG. Низкий процент GFP в клетках, трансфицированных исследуемыми плазмидами, вероятно, обусловлен большим размером конструкций, а также тем, что ген *GFP* в них через T2A связан с геном *PaCas9* и транслируется с низкой эффективностью.

Геномная ДНК, выделенная из трансфицированных клеток, далее использовалась для получения фрагментов ДНК, которые затем подвергались анализу с T7 эндонуклеазой I.

Для подтверждения активности эндонуклеазы T7EI и оценки предела чувствительности метода в качестве синтетического контроля были использованы линеаризованные фрагменты плазмид sgRNA_v3-SMN_exon3 и sgRNA_v5-SMN_exon4, отличающихся последовательностью в 20 пар нуклеотидов (sgRNA). Использовались следующие доли 1002060 в пробе, %: 0, 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50. В качестве негативных контролей выступали пробы без добавления T7E1.

После получения электрофореграммы осуществлялось денситометрическое определение интенсивности фрагментов с помощью программы ImageJ (National Institutes of Health) и производился расчет процента модификаций в соответствии с вышеприведенной формулой. Результаты исследования представлены на рис. 2.

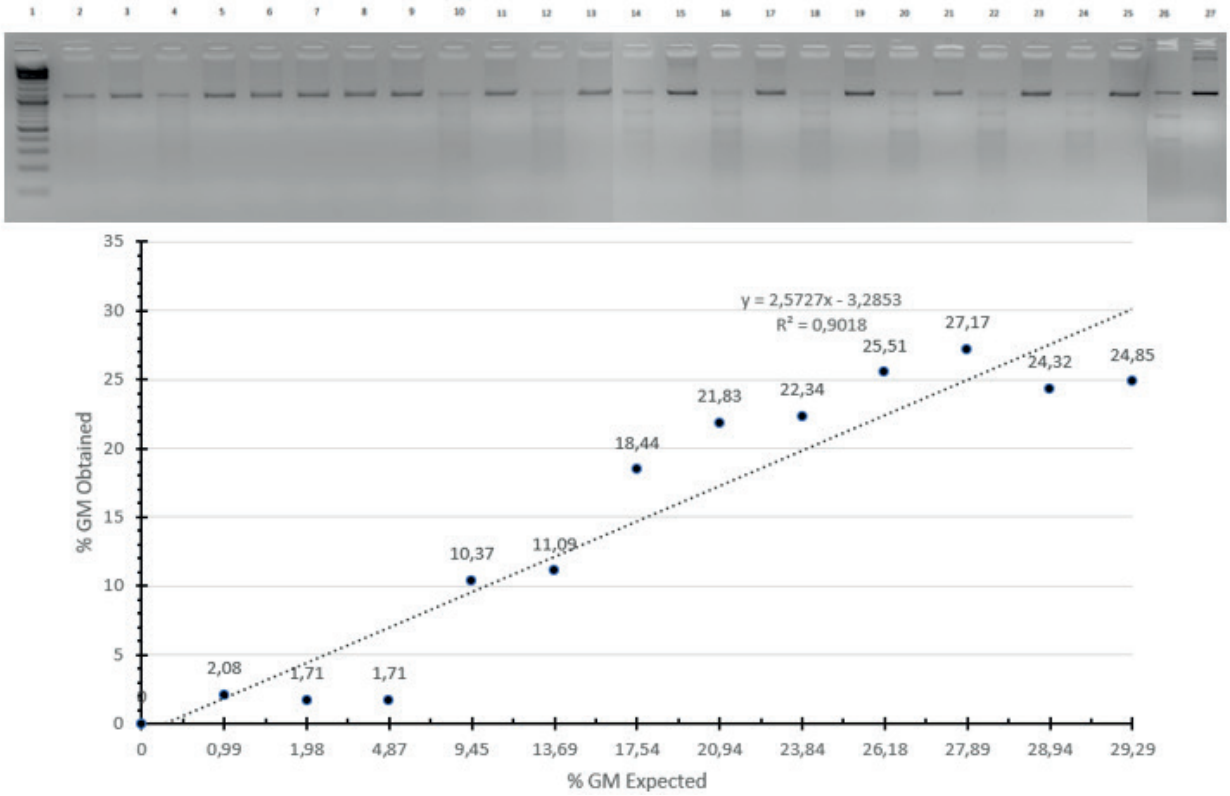


Рисунок 2. Активность T7 эндонуклеазы I в серии синтетических контролей, сверху: электрофореграмма серии синтетических контролей после обработки T7E1, снизу: график зависимости полученного процента модификаций от ожидаемого (расчетного)

1 – маркер молекулярных масс GeneRuler Mix (100-10000 bp), 2 – 0%; 3 – 0%(К-); 4 – 1%; 5 – 1%(К-); 6 – 2%; 7 – 2%(К-); 8 – 5%; 9 – 5%(К-); 10 – 10%; 11 – 10%(К-); 12 – 15%; 13 – 15%(К-); 14 – 20%; 15 – 20%(К-); 16 – 25%; 17 – 25%(К-); 18 – 30%; 19 – 30%(К-); 20 – 35%; 21 – 35%(К-); 22 – 40%; 23 – 40%(К-); 24 – 45%; 25 – 45%(К-); 26 – 50%; 27 – 50%(К-).

Для всех образцов синтетических контролей, обработанных T7 эндонуклеазой, на электрофорезе в 3% агарозном геле наблюдаются дополнительные бенды, размеры которых соответствуют предусмотренным дизайном эксперимента продуктам активности T7EI. Однако в пробах, содержащих меньше 5% плазмиды 1002060, затруднительно достоверно оценить результат анализа. Это может быть связано с погрешностью дозирования, вызванной большими разведениями образцов, а также с недостаточной чувствительностью самого метода.

Расчетные показатели доли разрезанной фракции (fraction cleaved) и относительного количества генных модификаций в синтетических контролях, обработанных T7EI, в целом схожи с полученными в ходе эксперимента данными, а

значит, данный метод можно использовать для приблизительной оценки таргетирования геномных локусов программируемыми нуклеазами.

Электрофореграмма, полученная по окончании анализа с T7 эндонуклеазой I для образцов, наработанных с геномной ДНК неотсортированных клеток, показана на рис. 3.

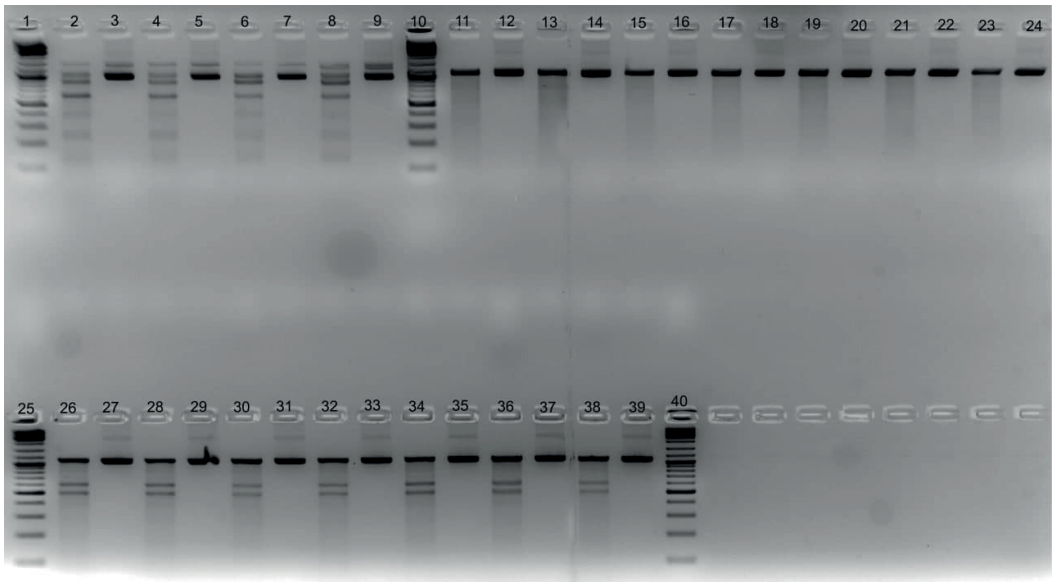


Рисунок 3. Электрофореграмма образцов из неотсортированных клеток после окончания анализа с T7 эндонуклеазой I

1, 10, 25, 40 – маркер молекулярных масс GeneRuler Mix (100-10000 bp), 2, 4, 6 – sgRNA_v1-SMN_exon1; 3, 5, 7 – sgRNA_v1-SMN_exon1(K-); 8 – ISO-SMN_exon1; 9 – ISO-SMN_exon1(K-); 11, 13, 15 – sgRNA_v2-SMN_exon5; 12, 14, 16 – sgRNA_v2-SMN_exon5(K-); 17, 19, 21 – sgRNA_v5-SMN_exon4; 18, 20, 22 – sgRNA_v5-SMN_exon4(K-); 23 – ISO-SMN_exon4-5; 24 – ISO-SMN_exon4-5(K-); 26, 28, 30 – sgRNA_v3-SMN_exon3; 27, 29, 31 – sgRNA_v3-SMN_exon3(K-); 32, 34, 36 – sgRNA_v4-SMN_exon3; 33, 35, 37 – sgRNA_v4-SMN_exon3(K-); 38 – ISO-SMN_exon3; 39 – ISO-SMN_exon3(K-).

На полученной электрофореграмме отсутствуют специфичные бенды, соответствующие фрагментам, ожидаемым после обработки T7E1. Обнаруживаемые в опытных образцах дополнительные бенды полностью соответствуют получаемым в негативных контролях и свидетельствуют, вероятно, о гетерогенности клеточной линии по генам SMN1/2, либо о сложной вторичной структуре полученных фрагментов ДНК. Данный вывод согласуется с отсутствием аналогичных бендов в контрольных образцах.

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод об отсутствии значимой нуклеазной активности PaCas9 по отношению к выбранным участкам генома. Другими словами, либо редактирования не произошло вообще, либо процент модифицированных локусов ниже предела чувствительности метода (исходя из опыта с серией синтетических контролей, он составляет примерно 5%).

В связи с возможностью недостаточной чувствительности анализа с T7E1 для определения эффективности нуклеазы в общем пуле трансфицированных клеток, была предпринята попытка повторить эксперимент для отсортированных по GFP клеток. Полученная в результате опыта электрофореграмма представлена на рис. 4.

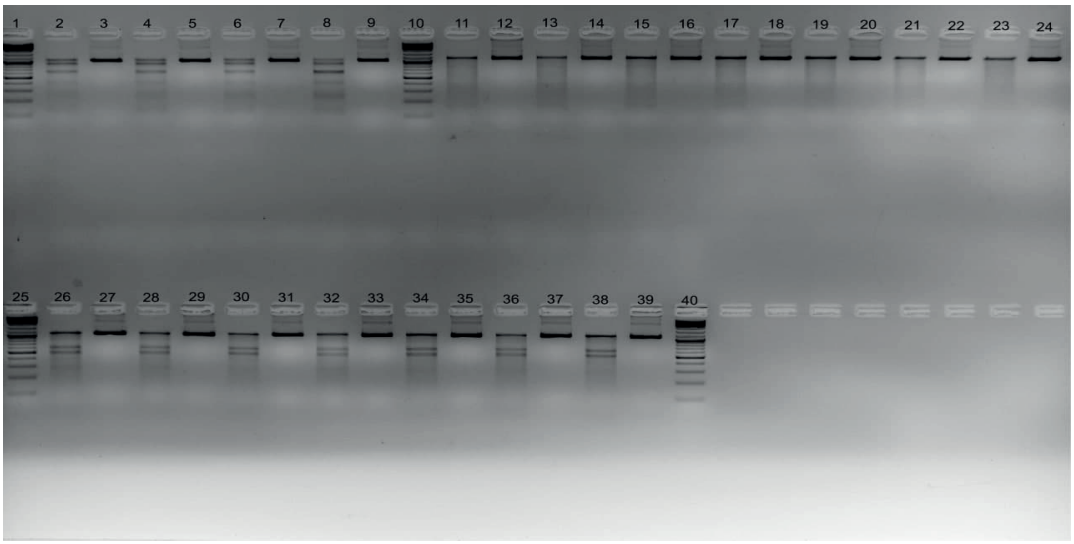


Рисунок 4. Электрофореграмма образцов из отсортированных клеток после окончания анализа с T7 эндонуклеазой I

1, 10, 25, 40 – маркер молекулярных масс GeneRuler Mix (100-10000 bp), 2, 4, 6 – sgRNA_v1-SMN_exon1; 3, 5, 7 – sgRNA_v1-SMN_exon1(K-); 8 – ISO-SMN_exon1; 9 – ISO-SMN_exon1(K-); 11, 13, 15 – sgRNA_v2-SMN_exon5; 12, 14, 16 – sgRNA_v2-SMN_exon5(K-); 17, 19, 21 – sgRNA_v5-SMN_exon4; 18, 20, 22 – sgRNA_v5-SMN_exon4(K-); 23 – ISO-SMN_exon4-5; 24 – ISO-SMN_exon4-5(K-); 26, 28, 30 – sgRNA_v3-SMN_exon3; 27, 29, 31 – sgRNA_v3-SMN_exon3(K-); 32, 34, 36 – sgRNA_v4-SMN_exon3; 33, 35, 37 – sgRNA_v4-SMN_exon3(K-); 38 – ISO-SMN_exon3; 39 – ISO-SMN_exon3(K-).

Как и в случае с неотсортированными клетками, на электрофореграмме отсутствуют специфичные бенды, соответствующие фрагментам, ожидаемым после обработки T7E1. Обнаруживаемые в опытных образцах дополнительные бенды полностью соответствуют получаемым в негативных контролях.

Заключение

Исходя из полученных в ходе экспериментов данных можно сделать вывод о том, что метод определения эффективности редактирования генома с использованием T7 эндонуклеазы I не обладает достаточной чувствительностью для установления работоспособности нуклеазы PaCas9 (если она вообще обладает активностью в выбранных условиях и с подобранными sgRNA). Для более точного и достоверного анализа требуется использование секвенирования следующего поколения (NGS).

Возможно, что полученный отрицательный результат может быть обусловлен и неверно выбранными PAM-последовательностями, вследствие чего PaCas9 не смогла распознать выбранные локусы.

Работа выполнена при финансовой поддержке ЗАО «БИОКАД».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00 Биотехнология
62.37.00 Прикладная генетическая инженерия
34.15.15 Пространственная структура и свойства биополимеров

ЛИТЕРАТУРА

1. Ребриков Д.В. Редактирование генома человека // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2016. Т. 3. С. 4-15.

2. PpCas9 from Pasteurella pneumotropica – a compact Type II-C Cas9 ortholog active in human cells / I. Fedorova [at al.] // Nucleic Acids Research. 2020. V. 48(21). P. 12297–12309. https://doi.org/10.1093/nar/gkaa998

3. Редактирование генов и геномов: Том 1 / отв. ред. С.М. Закиян [и др.] ; Рос. акад. наук, Сиб. отд-ние, ФИЦ Ин-т цитологии и генетики [и др.]. 2-е изд., расширенное и доп. Новосибирск: Издательство СО РАН. 2018. 369 с.

4. Crystal Structure of Staphylococcus aureus Cas9 / H. Nishimasu [et al.] // Cell. 2015. Vol. 162(5). P. 1113–1126. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.08.007

SUMMARY

DETERMINING GENOME TARGETING EFFICIENCY OF THE NEW PACAS9 NUCLEASE IN CELL LINES

Gusev A.V., undergraduate 2th year student
Academic advise: **Madera D.A.**, PhD, Senior Lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: gusev.aleksandr@pharminnotech.com

As a result of the study, the activity of the PaCas9 genomic nuclease in U-87 MG cells was assessed by analyzing the frequency of genomic modifications using T7 endonuclease I. It was shown that the studied nuclease does not have sufficient activity under the selected conditions to be detected by this method.

Keywords: *genome editing, CRISPR/Cas9 technology, cell line, determining genome targeting efficiency, T7 endonuclease I, PaCas9.*

REFERENCES

1. Rebrikov D.V. Redaktirovanie genoma cheloveka // Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. 2016. Vol. 3. P. 4-15. (in Russian)

2. PpCas9 from Pasteurella pneumotropica – a compact Type II-C Cas9 ortholog active in human cells / I. Fedorova [at al.] // Nucleic Acids Research. 2020. V. 48(21). P. 12297–12309. https://doi.org/10.1093/nar/gkaa998

3. Redaktirovanie genov i genomov: Tom 1 / otv. red. S. M. Zakijan [et al.]; Ros. akad. nauk, Sib. otd-nie, FIC In-t citologii i genetiki [et al.]. 2-e izd., rasshirennoe i dopolnennoe // Novosibirsk: Izdatel'stvo SO RAN. 2018. 369 p. (in Russian)

4. Crystal Structure of Staphylococcus aureus Cas9 / H. Nishimasu [et al.] // Cell. 2015. Vol. 162(5). P. 1113–1126. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.08.007

УДК 632.939

АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММА *STREPTOMYCES SP.* VIZR 52

Евстафьева В.С., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Колодязная В.А.**, к.б.н., доц., зав. кафедрой биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтического университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: veronika.evstafeva@spcpu.ru

В данной работе был проведен анализ биологической активности штамма *Streptomyces sp. VIZR 52,* с перспективой применения в качестве препарата по борьбе с вредителями сельского хозяйства. Изучены морфологические особенности. С помощью различных методов определены фунгицидные и инсектицидные свойства. Отобраны наиболее активные и стабильные моноклоновые изоляты штамма *Streptomyces sp. VIZR 52* и выделен спиртовой экстракт для дальнейшего его изучения.

Ключевые слова: *актиномицеты, стабилизирующий отбор, инсектициды, биологическая активность, фитопатогенные микроорганизмы, биопрепараты для защиты растений.*

Мировое сообщество стало уделять больше внимания проблеме потерь и порчи пищевой продукции. Потери и порча пищевой продукции означают бесцельное растрачивание ресурсов, в тот момент, когда можно и нужно сохранить большую часть потер. Ежегодно пропадает до 40 % общемирового урожая продовольственных культур из-за вредителей и болезней растений и это приводит к потерям в торговле сельскохозяйственной продукцией на сумму более 220 млрд. долларов.

Микробиологическая защита, базирующаяся на комплексном использовании различных групп микроорганизмов, а также токсичных препаративных форм микробного происхождения может рассматриваться как часть стратегии защиты сельскохозяйственных культур от вредителей представляя собой современный, экологически безопасный подход по борьбе с вредителями.

Несмотря на многовековое научное развитие, насекомые-вредители продолжают наносить высокий ущерб сельскохозяйственной отрасли и здоровью человека. По сей день часто используемые методы для борьбы в сельском хозяйстве используются – пестициды. Чрезмерное использование ядохимикатов оказывает отрицательное воздействие не только на качественное состояние растений подвергнутых обработке, а также отрицательно влияет на состояние окружающей среды, здоровье людей, финансовое положение ферм.

За счет различий в физиологии и морфологии вредителей сельскохозяйственных культур, быстрой адаптивности к новым условиям их существования, обеспечивается появление устойчивых форм к пестицидам и другим средствам, применяемым по борьбе с ними. Что определяет ранее и определяют в настоящее время необходимость постоянного совершенствования методов защиты культурных растений [2].

В связи с этим, остро стоит вопрос разработки новых или усовершенствования существующих, экологически безопасных и эффективных препаратов с широким спектром инсектицидного действия. Успешным подходом является использование биологических методов борьбы, для регулирования численности популяций вредителей. «Враг моего врага мой друг» т.е. используются живые организмы, которые могут применимы для борьбы с насекомыми.

Особое внимание ученых, занимающимися данной проблемой уделяется к актиномицетам, в особенности к стрептомицетам. Актиномицеты представляют крупнейшую таксономическую единицу [3]. Вторичные метаболиты, полученные из актиномицетов, являются потенциальным источником активных соединений, которые проявляют антибактериальные, противоопухолевые, противогрибковые, противовирусные, противопаразитарные и другие свойства. Находят применение в медицине, ветеринарной практике, сельском хозяйстве и в биотехнологической промышленности [4]. Большинство биоактивных микробных вторичных метаболитов из известных, продуцируются актиномицетами, 80 % которых относятся к роду *Streptomyces* [1].

Streptomyces sp. – род грамотрицательных бактерий, который растет в различных средах, а его форма напоминает нитевидные грибы. Метаболиты, полученные из стрептомицетов различаются по спектру активности. Полезными свойствами для сельского хозяйства является фунгицидные, бактерицидные и инсектицидные свойства. Например, на основе *Streptomyces sp.* создан ряд биопрепаратов такие как: Актинин, Акарин, Вертимек и др.

Расширение сведений о биологической активности и других характеристиках актиномицетов, увеличивают глубину представления о них, как о продуцентах специфических биологически активных веществ в отношении к вредителям и болезням растений и дает возможность их применять как эффективные, безопасные и широкого спектра действия инсектициды.

Объектом исследования, в данной работе является штамм стрептомицета *Streptomyces sp. VIZR 52,* характеризующийся наличием хорошо развитого воздушного мицелия.

Актуальность – получение безопасных и эффективных средств для борьбы с вредителями сельского хозяйства, на сегодняшний день является актуальной задачей.

Цель исследований – отбор моноклонового изолята штамма *Streptomyces sp. VIZR 52* с выраженной активностью и стабильностью, также обладающего высокой антагонистической активностью по отношению к широкому спектру фитопатогенных грибов и микроорганизмов. Изучение его активного метаболитного комплекса.

Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. Изучение характеристик и морфологических особенностей Streptomyces *sp. VIZR 52*. Получение моноклоновых изолятов и анализ штамма Streptomyces *sp. VIZR 52*. на проявление антагонистической активности в отношении тест-культур фитопатогенных грибов и микроорганизмов.

2. Отбор моноклонов с наиболее выраженной и стабильной активностью.

3. Выделение экстракта и определение его антибиотической активности в отношении тест грибов и микроорганизмов.

Материалы и методы

Streptomyces sp. VIZR 52 предоставленный из коллекции Всероссийского НИИ защиты растений, а также спиртовой экстракт, полученный из биомассы штамма, являются объектами данного исследования.

В качестве тест-микроорганизмов использовали ряд фитопатогенных грибов: *Alternaria solani, Stemphylium solani* и *Fusarium redolensis,* а также Виковая тля *(Megoura vicea)*. Полученные из «Государственной коллекции микроорганизмов, патогенных для растений и их вредителей» Всероссийского НИИ защиты растений.

Для наработки колоний исследуемого штамма, производился рассев на плотной питательной среде: 19/6. При анализе антагонистической активности в отношении тест-микроорганизмов применялась среда Чапека. Жидкая питательная среда №5 использовалась для глубинного культивирования штамма.

На базе кафедры биотехнологии СПХФУ и лаборатории микробиологической защиты растений ВИЗР проводился первичный анализ. Методом наложения петли на засеянную грибом среду Чапека. По диаметру зон отсутствия роста фитопатогенного тест-гриба *Alternaria solani* оценивалась способность моноклоновых изолятов проявлять фунгицидную активность.

Культуру гриба наносили на поверхность агаризованной среды Чапека в виде споровой суспензии и равномерно распределяли шпателем. На поверхность засеянной среды, микробиологической петлей наносили культуры моноклоновых изолята, точечным наложением. Чашки Петри термостатировали в течение 4-х суток при температуре 25-28 °С, после чего измеряли диаметры зон отсутствия роста гриба.

Перед проведением первичного анализа, из полученного штамма *Streptomyces sp.VIZR 52* были наработаны моноклоны. Методом истощающего посева так называемый «рыбий скелет» на плотную питательную среду 19/6 и инкубировали при температуре 25-28 °С в течение, 4-х суток или до образования воздушного мицелия в чашке Петри. Что изображено на рисунке 1. Затем обособленные колонии пересеивали на скошенную питательную среду 19/6 для увеличения объема мицелия. Для каждой колони проводился первичный анализ активности в три повторности.

Рисунок 1. Образование колоний Streptomyces sp. VIZR 52

Самые активные моноклоны, отобранные после первичной оценки антагонистической активности, были исследованы на более широком спектре фитопатогенных грибов – *Stemphylium solani* и *Fusarium redolensis,* методом бурения лунок.

Культуру гриба наносили на поверхность плотной питательной среды Чапека в виде споровой суспензии и равномерно распределяли шпателем. В засеянном грибом, питательном агаре, буром вырезали лунки диаметром 5 мм. Данные лунки заполняли культуральной жидкостью изолятов, полученных заранее. Изоляты культивировали в глубинных условиях на среде №5, выращенные в течение 4-х суток, при температуре 25-28 °С на круговой качалке (220 об/мин). Объем среды в колбе – 100 мл. После инкубирования измеряли диаметры отсутствия роста тест-культур. Результаты представлены в таблице 1. Чистота культуральной жидкости была проверена микроскопически.

Инсектицидная активность в отношении тест-объекта – Виковая тля *(Megoura vicea)* была проведена для 9 изолятов . Для опыта использовались чашки Петри диаметром в 3 см. На дно каждой чашки помещалась фильтровальная бумага, соответствующего диаметра. На каждую чашку приходилось по 20 особей Виковой тли. В ходе эксперимента, по 2 повторности для каждого варианта моноклонов на фильтровальную бумагу наносили по 0,3 мл культуральной жидкости изолятов. В чашки с контролем наносили воду. Проводился подсчет погибших особей через 2, 6 и 24 часа. Результаты представлены на таблице 2.

Из полученных данных при проведении анализов на фунгицидные и инсектицидные свойства были отобраны 4 наиболее активных моноклоновых изолятов штамма *Streptomyces sp.VIZR 52* и проведена экстракция их мицелия. Предвари-

тельно получив 4-х суточную культуральную жидкость моноклоновых изолятов (объемом в 5 литров). Данную жидкость оцентрифугировали (11 000 об/мин в течение 20 минут). В результате получили супернатант желтого цвета и осадок песочного цвета. Масса плотного осадка первой пары моноклонов – 149 г, масса второй пары 158 г.

Экстракцию полученных осадков проводили 70 % этиловым спиртом в соотношении 1:5. Данную смесь интенсивно перемешивали в течение 20 мин с помощью механической мешалки, получив суспензию. С помощью вакуумной фильтрации получили экстракт метаболитного комплекса. Концентрировали данный экстракт, на роторном испарителе при температуре 43 °С. Оставшийся после выпаривания спирта, экстракт тонким слоем разлили в чашки Петри и поместили в сушильный шкаф на 24-48 часов при 43^{0}С. После высушивания был получен светло-коричневая карамелеобразная масса со специфическим запахом.

Результаты и обсуждение

Образование воздушного мицелия штамма *Streptomyces sp. VIZR 52* происходит на четвертые сутки при температуре от 25°. Воздушный мицелий имеет порошковидный, бархатистый вид. Актиномицеты имеют тенденцию образовывать пигменты различного цвета. Субстратный и воздушный мицелий штамма *Streptomyces sp.VIZR 52* обладают пигментами молочного, светло-бежевого цвета. В зрелом состоянии мицелий несет цепочки из трех или более бактериальных спор. Во время микроскопии вегетативные гифы образуют разветвленный мицелий, который распадается на фрагменты, что изображено на рисунке 2. Колонии имеют обособленный, бархатистый вид.

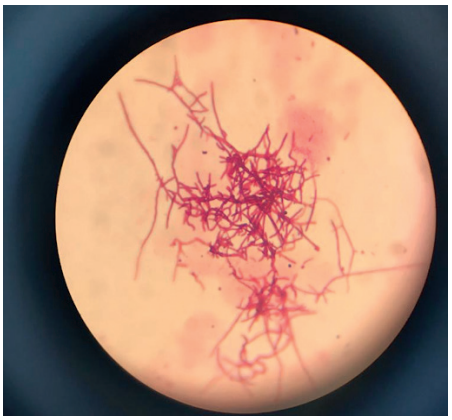


Рисунок 2. Микроскопия штамма Streptomyces sp. VIZR 52

При проведении первичного анализа активности в каждой повторности наблюдались зоны лизиса, что подтверждает наличие у моноклоновых изолятов штамма *Streptomyces sp. VIZR 52* проявлять фунгицидную активность.

Таблица 1 – Диаметры отсутствия роста тест-грибов

№	*Stemphylium solani*	*Fusarium redolensis*
	Зона лизиса, мм	**Зона лизиса, мм**
1	15x15	-
2	15x15	15x20
3	-	15x15
4	15x15	12x15
5	12x13	-
6	12x12	-
7	30x20	20x15
8	20x25	12x12
9	15x15	-

Из данных таблицы 1 следует, что не у всех моноклоновых изолятов штамма *Streptomyces sp.* VIZR 52 проявились антагонистические свойства к тестовым грибам. Так же наблюдаются варианты с выраженными антагонистическими свойствами к двум видам тест грибов.

Все изоляты, обладали инсектицидной активностью в отношении особей Виковой тли *(Megoura vicea)*. Согласно представленной таблице 2, 7 из 9 образцов показали 100% гибель.

Таблица 2 – Количество погибших особей Виковой тли (*Megoura vicea*) через 2, 6 и 24 часа

№	Повторность	Количество особей тли	Часы учета гибели особей тли, ч			% гибели
			2	6	24	
1	1	20	3	18	20	100%
	2	20	2	17	20	
2	1	20	2	13	20	100%
	2	20	2	12	20	
3	1	20	1	13	19	77,5%
	2	20	1	7	12	
4	1	20	7	17	20	100%
	2	20	4	14	20	
5	1	20	4	18	20	100%
	2	20	4	19	20	
6	1	20	4	10	18	95%
	2	20	4	17	20	
7	1	20	4	18	20	100%
	2	20	4	19	20	
8	1	20	3	15	20	100%
	2	20	5	18	20	
9	1	20	4	11	20	100%
	2	20	4	17	20	
10	Контроль 1	20	0	0	0	0%
	Контроль 2	20	0	0	0	

Заключение

В результате проведенной исследовательской работы, были изучены общие морфологические особенности штамма Streptomyces *sp. VIZR 52*. Получены моноклоновые изоляты. Проведен анализ на проявление антагонистической активности в отношении тест-культур фитопатогенных грибов и микроорганизмов. Моноклоны проявляли фунгицидную и инсектицидную активность. Из наиболее активных изолятов, был получен спиртовой экстракт. На заключительном этапе планируется оценка антибиотической активности данного экстракта в отношении тест грибов и микроорганизмов.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.39. Микроорганизмы-продуценты для биотехнологического производства

68.37.13: Методы защиты растений от вредителей, болезней и сорняков

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойкова И.В. Вторичные метаболиты актиномицетов–основа для создания новых инсектицидных биопрепаратов // Вестник защиты растений. 2016. N 3(89). С. 30-3

2. Емцев В. Т. Мишустин Е.Н. Сельскохозяйственная микробиология : учебник для академического бакалавриата / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин. М.: Юрайт, 2018. 205 с.

3. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum / M. Ventura [et al.] // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2007. Vol. 71(3). P. 495-548 doi: 10.1128/MMBR.00005-07

4. Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes / J. Solecka [et al.] // cent.eur.j.biol. 2012. Vol. 7(3). P. 373–390. https://doi.org/10.2478/s11535-012-0036-1

SUMMARY

ANALYSIS OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE STRAIN *STREPTOMYCES SP.* VIZR 52

Yevstafyeva V.S., 2nd year master student

Academic advise: **Kolodyaznaya V.A.**, Candidate of Biological Sciences, senior lecturer head Department of Biotechnology

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: veronika.evstafeva@spcpu.ru

In this study, was analyzed the biological activity of the strain Streptomyces sp. VIZR 52, with the prospect of being used as an agricultural pest control product. Morphological features, the ability to exhibit fungicidal and insecticidal activity were studied.

The most active and stable monoclonal isolates of Streptomyces sp. VIZR 52. An alcohol extract of the metabolite complex was obtained from the most active and stable monoclonal isolates of the strain.

Keywords: *actinomycetes, stabilizing selection, insecticides, biological activity, phytopathogenic microorganisms, biopreparations for plant protection.*

REFERENCES

1. Boykova I.V. Secondary metabolites of actinomycetes – the basis for the creation of new insecticidal biological products // Bulletin of plant protection. 2016. Vol. 3(89). P. 30-3 (In Russian)

2. Yemtsev, V. T. Mishustin E.N. Agricultural microbiology: a textbook for academic undergraduate studies. Moscow: Yurayt, 2018. – 205 p. (In Russian)

3. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum / M. Ventura [et al.] // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2007. Vol. 71(3). P. 495-548 doi: 10.1128/MMBR.00005-07

4. Biologically active secondary metabolites from Actinomycetes / J. Solecka [et al.] // cent.eur.j.biol. 2012. Vol. 7(3). P. 373–390. https://doi.org/10.2478/s11535-012-0036-1

УДК 615:332

ЭКСТРАКЦИОННЫЙ МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ ИМБРИЦИНА ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ *STREPTOMYCES IMBRICATUS*

Зайретдинова Д.Р., студ. 4 курса
Руководители: **Котова Н.В.**, канд. хим. наук, доц. кафедры биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: diana.zajretdinova@spcpu.ru

В статье представлены результаты исследований по разработке экстракционного метода выделения антибиотика немедицинского назначения из культуральной жидкости *Streptomyces imbricatus*. Проанализированы выбранные экстрагенты, выбран наиболее эффективный экстрагент, а также подобрано оптимальное соотношение объемов мицелия и экстрагента.

Ключевые слова: *имбрицин, антибиотики немедицинского назначения, неполиеновые макролидные антибиотики, фунгицид, биоцидное средство, фитосанитарная стабильность.*

В современном мире антибиотики занимают значительную роль в различных отраслях промышленности, ведь помимо медицины антибиотики применяются в сельскохозяйственной, пищевой промышленности. Появилось стремление к снижению использования антибиотиков, губительно влияющих на окружающую среду, а также вызывают токсические реакции на здоровье человека. С каждым годом все больше стали уделять особое внимание антибиотикам немедицинского назначения (АНН). Их использование является более эффективным, поскольку к антибиотикам, применяемых в медицине, ряд микроорганизмов вырабатывает резистентность, что является недостатком для использования таких препаратов в промышленности.

В последнее время значительное внимание уделяется группе неполиеновых противогрибковых антибиотиков, положительным свойством которых является низкая токсичность группы, которая позволяет использовать их как в пищевой промышленности, так и в сельском хозяйстве. Ряд исследователей предлагает использовать антибиотики данной группы и, в частности, имбрицин как биоцид для обеспечения фитосанитарной стабильности и повышения урожайности продуктов питания растительного и животного происхождения. [1]

Имбрицин относится к группе неполиеновых макролидных антибиотиков. Он был открыт российскими учеными в 70-х годах прошлого столетия, но в настоящее время его не используют. [2] Однако, он обладает рядом положительных свойств, которые указывают на перспективность его использования в качестве противогрибкого агента в составе биоцидных средств. Помимо его стабильности, широкого спектра действия, а также высокой биологической активности, имбрицин быстро и легко деградирует на нетоксичные соединения после его использования, что исключает экологические проблемы, связанные с его использованием. [3]

В сельском хозяйстве имбрицин может заменять химические агенты и служить фунгицидом в обработке сыров, которые в процессе созревания, хранения подвергаются плесневению.

Помимо пищевой и сельскохозяйственной промышленности, нашли применение имбрицина и в производстве бумаги. В процессе изготовления бумага может подвергаться микоповреждениям. Для предотвращения этого, на производстве применяют различные химические фунгициды, которые негативно влияют на экологию. Заменой химическим фунгицидам служит имбрицин. Он борется с микромицетами, которые поражают целлюлозосодержащие материалы, в том числе бумагу. [2]

Таким образом, рассматриваемый в данной работе антибиотик обладает множеством преимуществ, которые указывают на целесообразность его производства и возможность замены химических фунгицидов, негативно влияющих на внешнюю и внутреннюю среду.

Целью данной работы является изучение экстракционного метода выделения имбрицина из культуральной жидкости продуцента *Streptomyces imbricatus.*

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1) Наработка культуральной жидкости *Str. imbricatus;*
2) Изучение фильтрационных характеристик культуральной жидкости *Str. imbricatus;*
3) Выбор оптимальных условий проведения процесса экстрагирования имбрицина из мицелия;
4) Проведение стадий выпаривания, кристаллизации и сушки для получения субстанции имбрицина;
5) Определение удельной активности антибиотика;
6) Обработка семян и молодой рассады огурцов.

Материалы и методы

Объектом исследования является антибиотик немедицинского назначения имбрицин, продуцентом которого является актиномицет *Streptomyces imbricatus.*

Имбрицин- это неполиеновый макролидный антибиотик, для получения которого использовали штамм продуцента *Streptomyces imbricatus.* Выделение имбрицина проводили методом экстракции из культуральной жидкости продуцента с дальнейшим выпариванием, кристаллизацией и сушкой.

Процесс выращивания посевного материала *Streptomyces imbricatus* и стадия ферментации проводилась в качалочных колбах, объем которых составляет 750 мл.

В качестве посевной среды использовалась «Среда №5». В таблице №1 представлен компонентный состав посевной среды.

Таблица 1 – Компоненты посевной среды «Среда №5»

Компоненты посевной среды	Концентрация компонента, г/л
Мука соевая	10,0
Глюкоза	10,0
Хлористый натрий (NaCl)	5,0
Углекислый кальций ($CaCO_3$)	1,0

Среда растворения- вода водопроводная.

Приготовленная питательная среда разливалась в качалочные колбы объемом 750 мл по 50 мл в каждую с последующей стерилизацией в автоклаве.

После проведения стерилизации проводился засев культуры продуцента в стерильную посевную среду. Далее, качалочные колбы устанавливались на качалку в термостатируемом помещении, частота оборотов которой составляет 200-220 мин$^{-1}$, температура- 26-28°С.

Выращивание посевного материала осуществлялось 48 часов.

Для проведения процесса ферментации была приготовлена ферментационная среда с объемом 300 мл. В таблице №2 представлен компонентный состав ферментационной среды:

Таблица 2 – Компоненты ферментационной среды

Компоненты ферментационной среды	Концентрация компонента, г/л
Глюкоза	50
Соевая мука	20
Кукурузная мука	40

Средой растворения является вода водопроводная, pH должен быть в диапазоне 7,2-7,4.

Процесс ферментации осуществляется в термостатируемом помещении (при температуре 26-28^{0}С) на качалке с частотой оборотов 200-220 мин$^{-1}$ в течение 4 суток.

Количественное определение имбрицина в культуральной жидкости проводилось спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр») при длинах волн 240 и 270 нм.

К культуральной жидкости добавили 5 мл 65%-изопропилового спирта (водный раствор), после чего провели экстракцию, а затем профильтровали. Фильтрат разводился в этиловом спирте в 50 раз, а в качестве раствора сравнения использовался этиловый спирт, концентрация которого составляла 96%.

Для расчета содержания антибиотика использовали следующую формулу:

$$A = \frac{(Д_{240} - Д_{270}) \cdot 67{,}5 \cdot P_1 \cdot P_2}{n},$$

где: А – содержание антибиотика в культуральной жидкости, мкг/мл;

$Д_{240}$ – оптическая плотность спиртового раствора при длине волны 240 нм;

$Д_{270}$ – оптическая плотность спиртового раствора при длине волны 270 нм;

P_1 – разведение пробы при экстракции, равно 3,5;

P_2 – разведение экстракта этиловым спиртом;

67,5 – коэффициент пропорциональности, рассчитанный методом наименьших квадратов из зависимости между результатами спектрофотометрического и биологического анализов исследуемой пробы;

n – объем пробы, равен 2 мл.

Фильтрация культуральной жидкости осуществлялась на центрифуге Herolab UniCenMR при температуре 20^0С, частота оборотов – 12000 $мин^{-1}$.

Выделение фунгицида из мицелия проводили методом экстрагирования.

В качестве экстрагентов использовали изопропиловый спирт, этиловый спирт, ацетон и диметилформамид (ДМФА) в различных концентрациях (50,65, 80 и 100%), при соотношении объемов фаз экстрагента и мицелия 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, продолжительность процесса 15, 30, 45, 60 минут при температуре 20-22^0С. Оценка эффективности экстрагентов и выбор оптимального осуществляются по величине содержания антибиотика в экстракте. [4]

Оценка содержания имбрицина в экстракте проводилась по специальной методике. Сперва проводилась экстракция имбрицина из исследуемого материала 65% изопропиловым спиртом, а далее, определение его оптической плотности спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр») при длинах волн, равных 240 и 270 нм. В качестве раствора сравнения используется 96% этиловый спирт (технический).

Для определения содержания имбрицина в экстракте была использована следующая формула:

$$A = \frac{(Д_{240} - Д_{270}) \cdot 67{,}5 \cdot P}{n},$$

где: А – содержание антибиотика в экстракте, мкг/мл;

$Д_{240}$ – оптическая плотность спиртового раствора при длине волны 240 нм;

$Д_{270}$ – оптическая плотность спиртового раствора при длине волны 270 нм;

Р – разведение экстракта этиловым спиртом;

67,5 – коэффициент пропорциональности, рассчитанный методом наименьших квадратов из зависимости между результатами спектрофотометрического и биологического анализов исследуемой пробы;

n – объем взятого экстракта, равен 1 мл.

Концентрирование спиртового экстракта имбрицина проводится на вакуум-выпарной установке.

К вакуум-выпарной установке герметично подсоединили круглодонную колбу, помещенную в термостат при температуре 40-42°С, в которую предварительно перелили заранее измеренный объем экстракта. Далее, подключили вакуумный насос Microsart марки Sartorius, с помощью которого создавался вакуум (порядка 800 кПа), включался привод и подача холодной воды в холодильник.

Окончание процесса концентрирования осуществляется по мере прекращения образования конденсата изопропилового спирта, испарившегося из экстракта, в холодильнике.

Для определения степени концентрирования были измерены первоначальный объем экстракта и объем упаренного раствора.

Содержание имбрицина в упаренном растворе определяется в соответствии с методикой определения концентрации антибиотика в экстракте.

Процесс кристаллизации проводился с использованием специальной вакуумной установки. Упаренный спиртовой экстракт имбрицина, перелитый в химический стакан, был помещен в холодильник на 24 часа при температуре 4-5°С, после чего был отфильтрован через бумажный фильтр (марка – синяя лента) под вакуумом на установке, описанной ранее.

Полученные кристаллы имбрицина на фильтре промываются холодным ацетоном. После этого фильтр с кристаллами кладется в чашку Петри и ставится сушильный шкаф на 24 часа при температуре 22-25°С.

Определение удельной активности определялось химическим (спектрофотометрическим) методом. 3 мг порошка имбрицина были смешаны в пробирке с 3 мл водного раствора изопропилового спирта (концентрация- 65%), после чего был разведен этиловым спиртом в 250 раз. Далее, была измерена оптическая плотность при двух длинах волн: 240 и 270 нм.

В качестве раствора сравнения используется 96% этиловый спирт.

Удельная активность субстанции имбрицина рассчитывается по формуле:

$$\gamma = \frac{(Д_{240} - Д_{270}) \cdot 67{,}5 \cdot P}{n},$$

где: γ – удельная активность субстанции имбрицина, мкг/мг;

$Д_{240}$ – оптическая плотность спиртового раствора при длине волны 240 нм;

$Д_{270}$ – оптическая плотность спиртового раствора при длине волны 270 нм;

Р – разведение экстракта этиловым спиртом, равно 250;

67,5 – коэффициент пропорциональности, рассчитанный методом наименьших квадратов из зависимости между результатами спектрофотометрического и биологического анализов исследуемой пробы;

n – масса взятого порошка имбрицина, равна 3 мг.

Результаты и обсуждение

Полученные значения определения активностей культуральной жидкости представлены в таблице №3.

Таблица 3 – Активность культуральной жидкости *Str.imbricatus*

№ опыта	А, мкг/мл
1	1956,87
2	2165,08
3	1987,65
4	2375,98
5	2487,87
Среднее значение	1865,76

В качестве экстрагента были выбраны этиловый и изопропиловый спирты, а также ацетон и диметилформамид (ДМФА).

В результате подбора наиболее эффективного экстрагента, было установлено, что границы пропускания диметилформамида (ДМФА) составляют 260 нм, ацетона- 320 нм, поэтому использование ДМФА и ацетона в качестве экстрагентов является невозможным, так как определение содержания антибиотика спектрофотометрическим методом включает в себя измерение оптической плотности раствора при 240 и 270 нм. [4]

Результаты исследований представлены на рисунке 1.

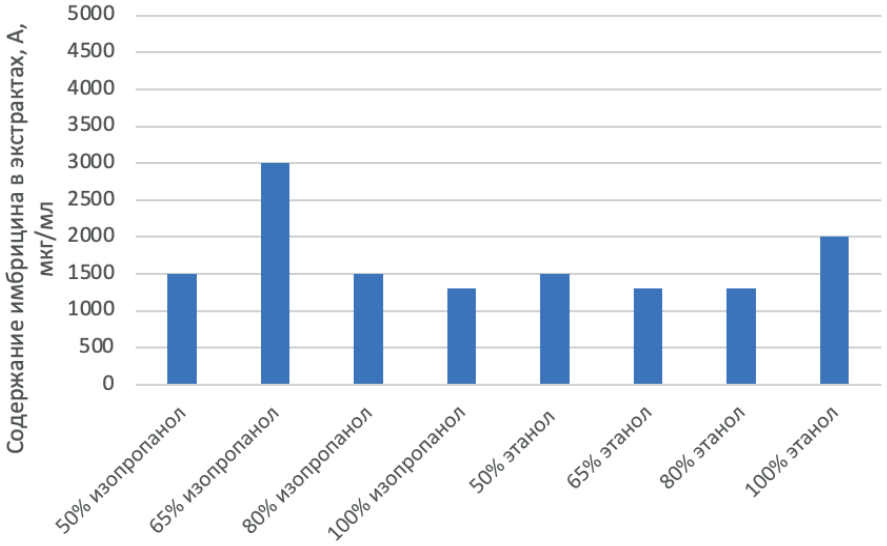


Рисунок 1. Зависимость содержания имбрицина в экстракте от используемого экстрагента

По диаграмме, представленной на рисунке 1 можно сделать заключение о том, что 65% изопропиловый спирт является наиболее эффективным экстрагентом.

Результаты исследований по подбору наиболее оптимального соотношения представлены на рисунке 2.

Рисунок 2. Зависимость содержания имбрицина в экстракте от соотношения объемов фаз

Полученные результаты исследования по подбору оптимального соотношения фаз мицелия и экстрагента указывают на то, что самым оптимальным соотношением является 1:3. При последующем увеличении соотношения объемов мицелия и экстрагента происходит разбавление целевого продукта, что ухудшает предстоящее концентрирование антибиотика.

Заключение

1. Была проведена наработка культуральной жидкости *Streptomyces imbricatus,* а также определение ее активности спектрофотометрическим методом. Среднее значение активности составляет А=1299,59 мкг/мл.

2. Были подобраны оптимальные условия для проведения экстракции антибиотика из культуральной жидкости. Так, в качестве наиболее эфективного экстрагента был выбран 65% водный раствор изопропилового спирта в оптимальном соотношении 1:3.

3. Планируется определение удельной активности, наработка субстанции имбрицина и обработка семян и молодой рассады огурцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Защита и карантин растений / И.И. Новикова [и др.] // Экологическая химия. – 2018. N 27(5). С. 233-245.

2. Противогрибковый антибиотик немедицинского назначения имбрицин: получение, фзико-химические свойства, структурные особенности и применение в промышленности в сельском хозяйстве (обзор) / В.В. Белахов [и др.] // Экологическая химия. 2017. N 26(5). С. 233-248.

3. Антибиотик немедицинского назначения имбрицин: биологическая активность, экологическая безопасность и перспективы использования для защиты растений / И.В. Бойкова [и др.] // Экологическая химия. 2018. N 27(5). С. 233-245.

4. Красовицкая И.А., Котова Н.В., Гусев А.В. Разработка технологии выделения имбрицина из культуральной жидкости Streptomyces imbricatus // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А.Овчинникова. 2021. Т. 17. N 3. С. 31-36.

SUMMARY

EXTRACTION METHOD OF IMBRICIN ISOLATION FROM THE CULTURE FLUID OF *STREPTOMYCES IMBRICATUS*

Zayretdinova D.R., 4th year student
Academic advise: **Kotova N.V.**, Candidate of chemical sciences,
Associate Professor of the Department of Biotechnology
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: diana.zajretdinova@spcpu.ru

The paper discusses the results of studies on the development of extraction method of non-medical antibiotic isolation from the culture liquid of *Streptomyces imbricatus*. The selected extractants were analyzed, the most effective extractant was selected, and the optimal ratio of mycelium and extractant volume was selected.

Keywords: *imbricin, non-medical antibiotics, non-polyene macrolide antibiotics, fungicide, biocidal agent, phytosanitary stability.*

REFERENCES

1. Plant protection and quarantine /I.I. Novikova [et al.] // Ecological Chemistry. 2018. Vol. 27(5). P. 233-245. (in Russian)

2. Antifungal antibiotic for non-medical purposes imbricin: receiving, physical and chemical properties, structural features and industrial application in agriculture (review) / V.V. Belakhov [et al.] // Ecological Chemistry. 2017. Vol. 26(5). P. 233-248. (in Russian)

3. Imbricin non-medicinal antibiotic: biological activity, environmental safety and prospects for plant protection / I.V.Boikova [et al.] // Ecological Chemistry. 2018. Vol. 27(5). P. 233-245. (in Russian)

4. Krasovitskaya I.A., Kotova N.V., Gusev A.V. Development of technology for isolation of imbricin from the culture fluid Streptomyces imbricatus // Bulletin of biotechnology and physico-chemical biology. A. Ovchinnikov. 2021. Vol. 17(3). P. 31-36. (in Russian)

УДК 60:615.3

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ПАКЛИТАКСЕЛА

Зеленцова Е.В., маг. 2 года обучения
Руководитель: **Котова Н.В.,** канд. хим. наук, доцент каф. биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: zelencova.ekaterina@pharminnotech.com

В химиотерапии рака наномедицина представляет особый интерес, поскольку биоразлагаемый наноноситель обеспечивает более направленную и безопасную доставку препарата в опухолевый очаг. Огромное количество исследований в данной области приводит к формированию неоднозначной картины результатов. По итогу проведенного анализа научной литературы удалось выделить и охарактеризовать преимущественные тенденции в разработке противоопухолевых частиц на основе хитозана и паклитаксела.

Ключевые слова: *паклитаксел, хитозан, наночастицы, конъюгирование, противоопухолевые агенты, система доставки лекарственных средств.*

Паклитаксел (PTX) является одним из ключевых представителей таксанов, обладает высокой противоопухолевой активностью в отношении различных раковых клеток. Однако этот химиотерапевтический агент имеет ряд недостатков, и, по-видимому, низкая растворимость в воде является наиболее важным. Несмотря на то, что прикладывается множество усилий для совершенствования терапии PTX, низкая биодоступность и, как следствие, минимальное накопление в опухолевом очаге все еще являются проблемами, с которыми сталкивается медицина. В связи с этим наночастицы (NP) на биополимерной основе привлекли большое внимание благодаря своим уникальным свойствам. Среди них хитозан (CS) представляет интерес благодаря своей высокой биосовместимости. Это положительно заряженный полисахарид, способный взаимодействовать с отрицательно заряженными биомолекулами. Кроме того, он может быть переработан в пленку, микро/наночастицы, скаффолд, и растворяется в слабокислом pH, характерном для микроокружения опухоли [1]. Принимая во внимание различные способы применения CS для доставки PTX, целью данного исследования является сравнительная характеристика наноносителей на основе хитозана и его производных, используемых для повышения биодоступности PTX и адресной доставки лекарственного средства в опухолевый очаг.

Задачи данного исследования:

1. Оценка преимущества наночастиц по сравнению с классической химиотерапией.
2. Систематизация и сравнение основных направлений разработки наносистем на основе хитозана для доставки паклитаксела.

В отличие от терапевтических агентов на основе малых молекул, наночастицы в лечении опухолей обладают очевидными преимуществами, такими как увеличенное время циркуляции в крови, сниженная системная токсичность, а также повышенное накопление в опухолевой ткани благодаря эффекту повышенной проницаемости и удержания (ЭПР) [2]. Последние свойство заключается в том, что клетки эндотелия кровеносных сосудов в злокачественных новообразованиях имеют большие промежутки (100-300 нм), чем в нормальных кровеносных сосудах (5-10 нм). В результате солидные опухоли проявляют избирательное пропускание и удержание наноразмерных носителей, загруженных лекарственными средствами. Кроме того, в здоровых тканях наночастицы очищаются лимфатической системой. Однако в солидных опухолях большинство лимфатических сосудов свернутые и сжатые, поэтому наноносители сохраняются внутри опухолевой ткани [3].

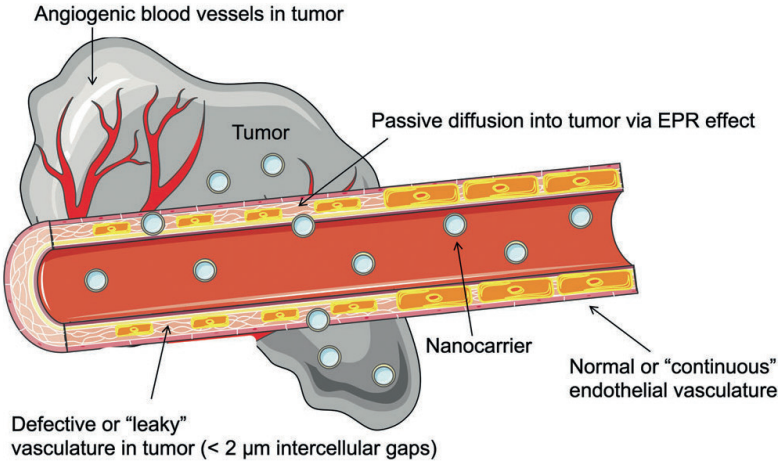


Рисунок. Роль повышенной проницаемости и эффекта ЭПР в доставке лекарственных средств наноносителями
Источник: [24]

Исследования в данной области ведутся давно, и разнообразие методов и способов получения наночастиц широко. Для удобства сравнения большого количества систем доставки таксанов, можно разделить их на 2 основные группы: (a) наночастицы на основе немодифицированного хитозана и (b) наночастицы на основе производных хитозана.

a) Получение самособирающихся наночастиц происходит в результате присоединения к аминогруппе хитозана молекул паклитаксела. Сшивание может быть выполнено либо ковалентно, например, с использованием альдегидов, либо физически с использованием полианионов [12]. Нарушение гидрофобно-гидрофильного баланса хитозана приводит к образованию гидрофобного ядра, в котором содержится противоопухолевый агент, окруженный растворимой в воде хитозановой оболочкой. Размер наночастиц контролируется концентрацией и молекулярной массой реагентов, скоростью перемешивания, продолжительностью процесса, pH и температурой [1]. В таблице 1 приведено сравнение наночастиц, полученных ковалентным конъюгированием.

Таблица 1 – Наночастицы на основе немодифицированного хитозана

№	Осн. компонент	Размер, нм	Эффективность загрузки PTX, %	Основные результаты	Источник
1	CS	170-227	8-12	Ингибирование роста клеток увеличилось на 20% по сравнению со свободным препаратом через 72 ч	[3]
2	CS	323,9-407,8	9,6	Улучшение контролируемого высвобождения и доставки PTX	[4]
3	CS	123-180	-	Снижение экспрессии генов BAX и BCL-2 в клетках, обработанных наночастицами, по сравнению с интактными клетками	[5]
4	CS	226,7 ± 0,7	11,57±0,81	Усиление апоптоза клеток (~ в 2 раза) по сравнению со свободным PTX	[6]
5	CS	223,45 ± 5,1	9,76	Усиление противоопухолевого эффекта	[7]
6	CS	-	11,57±0,81	Снижение гемолитической токсичности (~ в 4 раза)	[8]
7	CS	133-596	3,976	Увеличение скорости апоптоза раковых клеток	[9]
8	Низкомолекулярный CS (LMCS)	-	12	Меньшая токсичность, способность обходить Pgp-насосы в желудочно-кишечном тракте и CYP 450-зависимый метаболизм в кишечнике и печени	[11]
9	LMCS	121-135	4,8	Улучшение периода полураспада PTX в крови (в 6 раз) и противоопухолевой эффективности	[10]

Проанализировав данную информацию, можно сделать вывод, что даже несмотря на сравнительно небольшое содержание паклитаксела в конъюгатах, наночастицы обеспечивают прологрированное высвобождение препарата, снижая его токсичность, а также оказывают больший цитотоксический эффект по сравнению со свободным паклитакселом на исследуемые клеточные линии рака.

b) Зачастую для обеспечения лучшей самосборки в основу CS вводят гидрофобные фрагменты, чтобы обеспечить амфифильность молекулы. Таким образом, NP имеют гидрофобное ядро, которое может эффективно инкапсулировать гидрофобные препараты, такие как паклитаксел, чтобы специфически доставлять их в очаг опухоли.

Модификации наночастиц гидрофильными полимерами, такими как полиэтиленгликоль (ПЭГ), могут защитить их от опсонизации и избежать их элиминации фагоцитами. В этом смысле «камуфляж» наночастиц с пегилированием является наиболее изученной стратегией, позволяющей избежать распознавания иммунной системой. К настоящему времени было разработано множество наноразмерных пегилированных систем, некоторые из которых уже представлены на фармацевтическом рынке, что свидетельствует о важности этого типа материалов [3]. В таблице 2 приведено сравнение наночастиц, полученных с использованием химически модифицированного хитозана.

Таблица 2 – Наночастицы на основе производных хитозана

№	Осн. компонент конъюгата	Размер, нм	Эффективность загрузки	Основные результаты	Источник
1	Триметилхитозан	~100	~25%	Заметная (50-60%) остановка фазы G2/M в линиях раковых клеток	[13]
2	Гликольхитозан, модифицированный линолевой к-той	204 – 289	4,35%	Более сильные противоопухолевые эффекты	[14]
3	Триметилхитозан	170-187	10,5%	Улучшение транспорта PTX в кишечнике, мукоадгезии и увеличенеие накопления PTX в опухолевой массе	[15]
4	Гликольхитозан, покрытый альбумином	~400	-	Клетки усваивают NP путем эндоцитоза, проявляется более сильный противоопухолевый эффект	[16]
5	Хитозан-креамид	~300	12,1%	Полимерные NP могут быть использованы для пероральной доставки гидрофобных лекарственных средств	[17]

№	Осн. компонент конъюгата	Размер, нм	Эффективность загрузки	Основные результаты	Источник
6	Гликольхитозан, модифицированный 5β-холевой к-той	200-400	~10 %	Противоопухолевый эффект NP был очень похож на эффект свободного PTX, но NP были менее токсичными	[18]
7	Гликольхитозан	358 ± 21	24,2 %	Терапевтическая эффективность превзошла Абраксан®, с меньшим количеством PTX	[19]
8	α-Токоферол сукцинат и хитозан	~81,4	7,4%	Превосходный противоопухолевый эффект, меньшая токсичность	[20]
9	Гидроксиэтилхитозан, модифицированный N-дезоксихолевой к-той	156,32 ± 6,93	~30 %	NP преодолели низкую биодоступность	[21]
10	CS, модифицированный холестерином и ПЭГ	~158	11,7%	NP могут быстро высвобождать препарат при высоких уровнях глутатиона и обладают отличным противоопухолевым эффектом *in vivo*	[22]

Исходя из анализа таблицы, следует отметить, что зачастую связывание хитозана с гидрофобными агентами приводит к увеличению размера наночастиц, что может неблагоприятно сказаться на их способности к эффекту ЭПР. Однако такая модификация в ряде случаев позволяет увеличить степень загрузки паклитакселом и, как следствие, продлить время высвобождения препарата.

Полимерные наночастицы могут дополнительно конъюгироваться с таргетирующими агентами, такими как фолиевая кислота, антитела, пептиды или аптамеры [1]. Фолиевая кислота является привлекательным лигандом, используемым для доставки к сверхэкспрессированным раковым клеткам с фолатным рецептором. Фолат широко применяется для таргетирования, поскольку он недорог, нетоксичен, неиммуногеннен, легко конъюгируется с носителями, сохраняет высокое сродство к связыванию, а также стабилен при хранении [23].

Заключение

Таким образом, можно сделать вывод: наночастицы на основе паклитаксела и хитозана безусловно обладают повышенной противоопухолевой активностью, меньшей общей токсичность и более пролонгированным действием по сравнению с классическим паклитакселом. Благодаря своему размеру порядка 100-300 нм они являются пассивным средством доставки препарата в опухолевую ткань. При этом степень цитотоксичности может зависеть от размера наночастиц, модификации звеньев хитозана и наличия привитых таргетирующих агентов. Одной из наиболее существенных трудностей в разработке наночастиц хитозана является получение желаемой эффективности загрузки паклитакселом.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00. Биотехнология

62.99.00. Другие проблемы биотехнологии

ЛИТЕРАТУРА

1. Chitosan-based advanced materials for docetaxel and paclitaxel delivery: Recent advances and future directions in cancer theranostics / M. Ashrafizadeh [et al.]// International Journal of Biological Macromolecules. 2020. N 145. P. 282-300. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.145

2. Chitosan-based self-assembled nanomaterials: Their application in drug delivery / Y. Liu [et al.] // View. 2021. Vol.2(1). https://doi.org/10.1002/VIW.20200069

3. Paclitaxel: What has been done and the challenges remain ahead / E. Bernabeu [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. 2017. N 526(1-2). P. 474–495. 10.1016/j.ijpharm.2017.05.016

4. Docetaxel loaded chitosan nanoparticles: formulation, characterization and cytotoxicity studies / A. Jain [et al.] // Int. J. Biol. Macromol. 2014. N 69. P. 546–553. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.06.029

5. The preparation, characterization, and pharmacokinetic studies of chitosan nanoparticles loaded with paclitaxel/dimethyl-β-cyclodextrin inclusion complexes / Y.J. Ye [et al.] // Int. J. Nanomedicine. 2015. N 10. P.4309. 10.2147/IJN.S83508

6. Docetaxel–chitosan nanoparticles for breast cancer treatment: cell viability and gene expression study / Mirzaie Z.H. [et al.]// Chem. Biol. Drug Des. 2016. N 88(6). P.850–858. https://doi.org/10.1111/cbdd.12814

7. Enhanced apoptotic and anticancer potential of paclitaxel loaded biodegradable nanoparticles based on chitosan / U. Gupta [et al.] // Int. J. Biol. Macromol. 2017. N 98. P.810–819. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.030

8. In vivo antitumor effect of endostatin-loaded chitosan nanoparticles combined with paclitaxel on Lewis lung carcinoma / F. Xie [et al.] // Drug delivery. 2017. N 24(1). P.1410–1418. https://doi.org/10.1080/10717544.2017.1378938

9. Abouelmagd S.A., Ku Y.J., Yeo Y. Low molecular weight chitosan-coated polymeric nanoparticles for sustained and pH-sensitive delivery of paclitaxel // J. Drug Target. 2015. N 23(7–8). P.725–735. https://doi.org/10.3109/1061186X.2015.1054829

10. Design and characterization of antitumor drug paclitaxel-loaded chitosan nanoparticles by W/O emulsions / Xu J. [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. 2012. N 50(1-2). P.438-443. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.12.034

11. Preparation and therapeutic evaluation of paclitaxel-conjugated low-molecular-weight chitosan nanoparticles / K. Hyungjun [et al.] // Macromolecular Research. 2014. N 22. P. 805-808. https://doi.org/10.1007/s13233-014-2118-6

12. Rodrigues S., Costa A.M.R., Grenha A. Chitosan-carrageenan nanoparticles: effect of cross-linking with tripolyphosphate and charge ratios //Carbohydr. Polym. 2012. N 89(1). P.282–289. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.010

13. Paclitaxelloaded trimethyl chitosan-based polymeric nanoparticle for the effective treatment of gastroenteric tumors / R. F. Song [et al.]// Oncol. Rep. 2014. N 32(4). P.1481–1488. https://doi.org/10.3892/or.2014.3344

14. Self-aggregated nanoparticles of linoleic acid-modified glycol chitosan conjugate as delivery vehicles for paclitaxel: preparation, characterization and evaluation / J. Yu [et al.] // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 2015. N 26(18). P.1475–1489. https://doi.org/10.1080/09205063.2015.1101259

15. He R., Yin C. Trimethyl chitosan based conjugates for oral and intravenous delivery of paclitaxel // Acta Biomater. 2017. N53. P.355–366. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.02.012

16. Self-assembled reduced albumin and glycol chitosan nanoparticles for paclitaxel delivery / M.A. Razi [et al.] // Langmuir. N 35(7). 2019. P.2610–2618. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02809

17. Battogtokh G., Ko Y.T. Self-assembled chitosan-ceramide nanoparticle for enhanced oral delivery of paclitaxel // Pharm. Res. 2014. N 31(11). P.3019–3030. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac

18. Hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles as carriers for paclitaxel / J.H. Kim [et al.] // J Control Release. 2006. N 111(1-2). P.228-232. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16458988/

19. Enhanced drug-loading and therapeutic efficacy of hydrotropic oligomer-conjugated glycol chitosan nanoparticles for tumor-targeted paclitaxel delivery / K. Heebeom [et al.] // J Control Release. 2015. N 172(3). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24035978/

20. In vivo pharmacokinetics, biodistribution and antitumor effect of paclitaxel-loaded micelles based on α-tocopherol succinate-modified chitosan / N. Liang [et al.] // Drug delivery. 2016. N 23(8). P.2651–2660. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.030

21. N-Deoxycholic acid-N, O-hydroxyethyl chitosan with a sulfhydryl modification to enhance the oral absorptive efficiency of paclitaxel / Y. Yu [et al.] // Mol. Pharm. 2017. N 14(12). P.4539–4550. https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00662

22. Chitosan-Based Micellar System as Nanocarrier For the Delivery of Paclitaxel / H. A. Yang [et al.] // Polymers. 2020. N 12(2). P.2-16. https://doi.org/10.3390/polym12020380

23. Hydrophobically modified carboxymethyl chitosan nanoparticles targeted delivery of paclitaxel / S.K. Sahu [et al.] // Journal of Drug Targeting. 2011. N19(2). P.104-113. https://doi.org/10.3109/10611861003733987

24. Lee Y., Thompson D. Stimuli-responsive liposomes for drug delivery // Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. 2017. N 9(5). doi: 10.1002/wnan.1450

SUMMARY

ANTITUMOR NANOPARTICLES BASED ON CHITOSAN AND PACLITAXEL

Zelentsova E.V., 2nd year master student
Academic advise: **Kotova N.V.**, Candidate of chemical sciences, assistant professor of Biotechnology
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: zelencova.ekaterina@pharminnotech.com

In cancer chemotherapy, nanomedicine is of particular interest because the biodegradable nanocarrier provides a more targeted and safe delivery of the drug to the tumor site. The huge number of studies in this field leads to an ambiguous picture of the results. Based on the results of the analysis of the scientific literature we were able to identify and characterize the prevailing trends in the development of antitumor particles based on chitosan and paclitaxel.

Keywords: *paclitaxel, chitosan, nanoparticles, conjugation, antitumor agents, drug delivery system.*

REFERENCES

1. Chitosan-based advanced materials for docetaxel and paclitaxel delivery: Recent advances and future directions in cancer theranostics / M. Ashrafizadeh [et al.]// International Journal of Biological Macromolecules. 2020. N 145. P. 282-300. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.145

2. Chitosan-based self-assembled nanomaterials: Their application in drug delivery / Y. Liu [et al.] // View. 2021. Vol.2(1). https://doi.org/10.1002/VIW.20200069

3. Paclitaxel: What has been done and the challenges remain ahead / E. Bernabeu [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. 2017. N 526(1-2). P. 474–495. 10.1016/j.ijpharm.2017.05.016

4. Docetaxel loaded chitosan nanoparticles: formulation, characterization and cytotoxicity studies / A. Jain [et al.] // Int. J. Biol. Macromol. 2014. N 69. P. 546–553. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.06.029

5. The preparation, characterization, and pharmacokinetic studies of chitosan nanoparticles loaded with paclitaxel/dimethyl-β-cyclodextrin inclusion complexes / Y.J. Ye [et al.] // Int. J. Nanomedicine. 2015. N 10. P.4309. 10.2147/IJN.S83508

6. Docetaxel–chitosan nanoparticles for breast cancer treatment: cell viability and gene expression study / Mirzaie Z.H. [et al.]// Chem. Biol. Drug Des. 2016. N 88(6). P.850–858. https://doi.org/10.1111/cbdd.12814

7. Enhanced apoptotic and anticancer potential of paclitaxel loaded biodegradable nanoparticles based on chitosan / U. Gupta [et al.] // Int. J. Biol. Macromol. 2017. N 98. P.810–819. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.030

8. In vivo antitumor effect of endostatin-loaded chitosan nanoparticles combined with paclitaxel on Lewis lung carcinoma / F. Xie [et al.] // Drug delivery. 2017. N 24(1). P.1410–1418. https://doi.org/10.1080/10717544.2017.1378938

9. Abouelmagd S.A., Ku Y.J., Yeo Y. Low molecular weight chitosan-coated polymeric nanoparticles for sustained and pH-sensitive delivery of paclitaxel // J. Drug Target. 2015. N 23(7–8). P.725–735. https://doi.org/10.3109/1061186X.2015.1054829

10. Design and characterization of antitumor drug paclitaxel-loaded chitosan nanoparticles by W/O emulsions / Xu J. [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. 2012. N 50(1-2). P.438-443. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.12.034

11. Preparation and therapeutic evaluation of paclitaxel-conjugated low-molecular-weight chitosan nanoparticles / K. Hyungjun [et al.] // Macromolecular Research. 2014. N 22. P. 805-808. https://doi.org/10.1007/s13233-014-2118-6

12. Rodrigues S., Costa A.M.R., Grenha A. Chitosan-carrageenan nanoparticles: effect of cross-linking with tripolyphosphate and charge ratios //Carbohydr. Polym. 2012. N 89(1). P.282–289. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.010

13. Paclitaxelloaded trimethyl chitosan-based polymeric nanoparticle for the effective treatment of gastroenteric tumors / R. F. Song [et al.]// Oncol. Rep. 2014. N 32(4). P.1481–1488. https://doi.org/10.3892/or.2014.3344

14. Self-aggregated nanoparticles of linoleic acid-modified glycol chitosan conjugate as delivery vehicles for paclitaxel: preparation, characterization and evaluation / J. Yu [et al.] // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 2015. N 26(18). P.1475–1489. https://doi.org/10.1080/09205063.2015.1101259

15. He R., Yin C. Trimethyl chitosan based conjugates for oral and intravenous delivery of paclitaxel // Acta Biomater. 2017. N53. P.355–366. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.02.012

16. Self-assembled reduced albumin and glycol chitosan nanoparticles for paclitaxel delivery / M.A. Razi [et al.] // Langmuir. N 35(7). 2019. P.2610–2618. https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02809

17. Battogtokh G., Ko Y.T. Self-assembled chitosan-ceramide nanoparticle for enhanced oral delivery of paclitaxel // Pharm. Res. 2014. N 31(11). P.3019–3030. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac

18. Hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles as carriers for paclitaxel / J.H. Kim [et al.] // J Control Release. 2006. N 111(1-2). P.228-232. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16458988/

19. Enhanced drug-loading and therapeutic efficacy of hydrotropic oligomer-conjugated glycol chitosan nanoparticles for tumor-targeted paclitaxel delivery / K. Heebeom [et al.] // J Control Release. 2015. N 172(3). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24035978/

20. In vivo pharmacokinetics, biodistribution and antitumor effect of paclitaxel-loaded micelles based on α-tocopherol succinate-modified chitosan / N. Liang [et al.] // Drug delivery. 2016. N 23(8). P.2651–2660. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.030

21. N-Deoxycholic acid-N, O-hydroxyethyl chitosan with a sulfhydryl modification to enhance the oral absorptive efficiency of paclitaxel / Y. Yu [et al.] // Mol. Pharm. 2017. N 14(12). P.4539–4550. https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00662

22. Chitosan-Based Micellar System as Nanocarrier For the Delivery of Paclitaxel / H. A. Yang [et al.] // Polymers. 2020. N 12(2). P.2-16. https://doi.org/10.3390/polym12020380

23. Hydrophobically modified carboxymethyl chitosan nanoparticles targeted delivery of paclitaxel / S.K. Sahu [et al.] // Journal of Drug Targeting. 2011. N19(2). P.104-113. https://doi.org/10.3109/10611861003733987

24. Lee Y., Thompson D. Stimuli-responsive liposomes for drug delivery // Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. 2017. N 9(5). doi: 10.1002/wnan.1450

УДК 61:615.4

РАЗРАБОТКА И СОЗДАНИЕ КОМПОЗИТНОЙ МАТРИЦЫ ИЗ КОЛЛАГЕНОВ I И V ТИПА В КАЧЕСТВЕ ЭКВИВАЛЕНТА ДЛЯ ЗАМЕНЫ РОГОВИЦЫ ГЛАЗА

Зенкова А.К., студ. 4 курса, **Сироткина М.С.**, младший научный сотрудник
Руководители: [1]**Арсениев Н.А.,** к.б.н., доц. кафедры физиологии и патологии,
[2]**Нащекина Ю.А.,** к.б.н., старший научный сотрудник
[1]Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
[2]Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии Российской академии наук,
194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект, д.4, Российская Федерация
E-mail: arina.zenkova@spcpu.ru

Заболевания роговицы являются основной причиной потери зрения. Решением этой проблемы могут являться тканеинженерные роговицы. Коллаген – природный полимер и перспективный материал для тканевой инженерии по причине его высокой биосовместимости. Коллагены I и V типов являются основными белками роговицы глаза. Целью нашего исследования является выделение коллагена V типа. В качестве источника для выделения коллагена V типа была

выбрана плацента человека, которая богата различными белками и является наиболее доступным материалом. В нашем исследовании мы представляем оптимизированный способ получения коллагена V типа из человеческой плаценты для последующего создания композитных матриц с коллагеном I типа.

Ключевые слова: *роговица глаза, человеческая плацента, коллаген V типа, ферментативная экстракция, ингибиторы протеаз, солевое осаждение.*

Патологии роговицы занимают 4 место среди заболеваний глаз, которые приводят к слепоте. Для хирургического лечения заболеваний роговицы наиболее эффективны следующие методы: кератопластика (пересадка здоровой донорской роговицы) и кератопротезирование (пересадка искусственной роговицы). Но у них существуют существенные недостатки, такие как дефицит донорской роговицы, а также отторжение, и тяжелые побочные реакции от кератопротезов. Альтернативой кератопротезам является тканеинженерная роговица, созданная с применением природных полимеров, таких как, коллаген. Коллаген – фибриллярный белок, составляющий основу соединительной ткани организма. Основное достоинство коллагена – высокая биосовместимость и низкая антигенность. Коллаген I и V типа относится к наиболее распространенным белкам в строме. Их процентное соотношение составляет соответственно примерно 80% и 20% от всех коллагенов в роговице[1]. Коллаген I типа обеспечивает структурную функцию и обладает свойствами фибриллообразования. Коллаген V типа регулирует фибриллообразование коллагена I типа, ограничивая их рост, что позволяет им сохранить соразмерный диаметр [2], что важно для сохранения прозрачности роговицы. Таким образом, коллаген V типа является важным материалом для создания тканеинженерной роговицы, поскольку обеспечивает свойства, характерные настоящей роговице.

Для получения коллагена, используемого в тканевой инженерии, применяют различные методы. Возможно получение рекомбинантного коллагена, продуцируемого генно модифицированными микроорганизмами. Но наиболее распространена экстракция коллагена из тканей организма. Выделяют 4 типа экстракции: кислая экстракция, нейтральная, щелочная и ферментативная. Для получения коллагенов, присутствующих в тканях в небольшом количестве применяют ферментативную экстракцию, в связи с её высокой эффективностью. Наиболее применяемым ферментом для экстракции коллагена является Пепсин. Впервые коллаген V типа был выделен путем ферментативной экстракции из плаценты человека [3]. Также методом ферментативной экстракции коллаген V типа выделяли из других тканей, так Chung с соавт. выделили коллаген из базальных мембран эпителия и гладких мышц, Bailey с соавт. получили коллаген V типа из мышц цыпленка, Welsh с соавт. выделили коллаген из роговиц кролика, Brown с соавт. из телячьей кожи и синовиальных мембран. Haralson с соавт. и Madri с соавт. выделили коллаген из тканей легкого. Jimenez с соавт. из тканей сухожилия. Несмотря на многочисленные источники, наиболее доступным материалом является плацента человека. Плацента является внезародышевым органом, она богата различными белками, в том числе коллагеном V типа, что позволяет получить большой выход на стадии выделения. Помимо своей доступности и неинвазивному получению, преимуществом плаценты является то, что полученный коллаген V типа является человеческим, это позволяет минимизировать риск отторжения тканеинженерной роговицы при трансплантации. После ферментативного выделения из ткани коллаген V типа проходит последовательные стадии солевого осаждения для его отделения от остальных коллагенов и неколлагеновых белков. На конечных стадиях очистки коллагена V типа используют метод хроматографии.

Цель работы: Выбор оптимального способа выделения коллагена V типа из человеческой плаценты

Задачи:

1. Выбор способа выделения V коллагена из человеческой плаценты и оптимизация процесса.
2. Идентификация V коллагена и определение количественных показателей.

Материалы и методы

Плацента человека, электрофорез в полиакриламидном геле, Вестерн-блот, ингибиторы протеаз.

Результаты и обсуждение

Выделение конкретного типа коллагена обычно включает несколько различных этапов. К ним относятся получение и предварительная обработка соответствующей ткани или органа, извлечение коллагена и его очистка. Последний процесс требует как удаления неколлагеновых компонентов, присутствующих в экстракте, так и селективное удаление других типов коллагена. Обычно это удается достичь путем использования методов осаждения, сопровождаемых, в конечном счете, одной или двумя хроматографическими стадиями.

Все процедуры проводят при относительно низких температурах, в пределах 4-8°C. Это сводит к минимуму рост бактерий, повышает растворимость нативных коллагенов и обеспечивает сохранение нативной конформации солюбилизированной части коллагена.

На данный момент проработана и модернизирована схема выделения V коллагена из человеческой плаценты. Выделение V коллагена проводилось несколькими способами. Рассматривали целесообразность применения ингибиторов протеаз в ходе выделения коллагена. Также сравнивали различные типы предварительной обработки плацентарной ткани, их влияние на степень деградации коллагена.

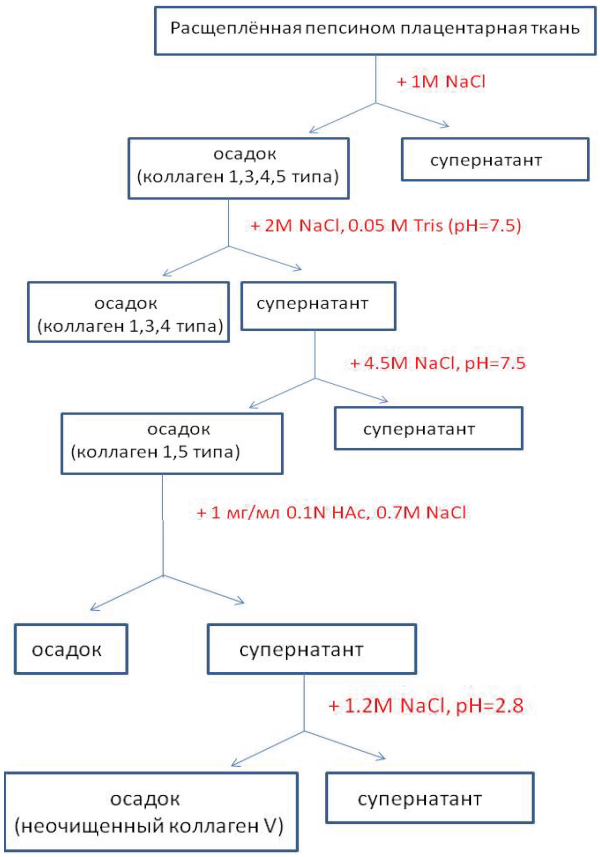


Рисунок 1. Выбранная схема выделения коллагена V из плаценты

Экстракцию коллагена V типа проводили из измельченной ткани человеческой плаценты, заранее отделенной от плодных оболочек (амниона и хориона). Плаценту подвергали предварительной промывке и последующей ферментативной экстракции. Очистка экстрагированного коллагена достигалась в серии этапов преципитации, на которых коллаген претерпевает поочередное растворение и осаждение в нейтральных и кислотных растворителях. Выделение проводили по методике, указанной в статье [4].

В результате мы получили осадок коллагена V типа, который растворили в 0,5М уксусной кислоте. Для того, чтобы идентифицировать V коллаген, мы провели Вестерн-Блот. Были использованы поликлональные кроличьи антитела против нативного очищенного белка полной длины, соответствующего коллагену V типа (Abcam, Великобритания). В качестве вторичных антител использовали козьи антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена, выработанные против иммуноглобулинов кролика (Abcam, Великобритания). Мембрану инкубировали в первичных антителах в течение 16 часов при температуре 4 °С. Затем мембрану промывали в TTBS и инкубировали 1 час в растворе вторичных антител в PBS. Измерили хемилюминесценцию на приборе ChemiDoc.

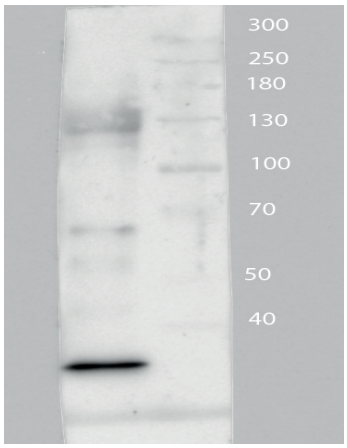


Рисунок 2. Мембрана, обработанная антителами к V коллагену

Из литературных источников мы получили данные о том, что молекулярная масса коллагена V типа должна быть в диапазоне 120-145 кДа [5]. А также согласно изученным статьям характерным паттерном для V коллагена является два

близко расположенных банда, то есть две гомогенные фракции коллагена V типа: a1(V)a2(V)a3(V) и (a1(V))2a2(V) в соотношении 2:1. При наличии небольших концентраций V коллагена может быть виден только один банд.

На мембране, окрашенной антителами, мы получили один нечеткий банд, который соответствует молекулярной массе V коллагена. Также ниже на дорожке присутствуют другие банды, которые свидетельствуют о том, V коллаген в процессе выделения подвергается деградации.

Таким образом, мы доказали, что выделили из человеческой плаценты именно V коллаген, но в процессе выделения коллаген частично разрушается под действием протеаз, несмотря на соблюдение температурного режима (8-10 С).

Было принято решение изменить предварительную обработку, так как первая обработка длилась достаточно долго и проводили её при нейтральном pH, что могло способствовать деградации коллагена.

Выбрана новая методика обработки плаценты с применением растворов кислот, которые согласно литературным источникам, удаляют растворимые неколлагеновые вещества и ингибирует действие протеаз из-за низкого pH.

После выделения для идентификации белка мы провели электрофорез в полиакриламидном геле с концентрацией 7,5%.

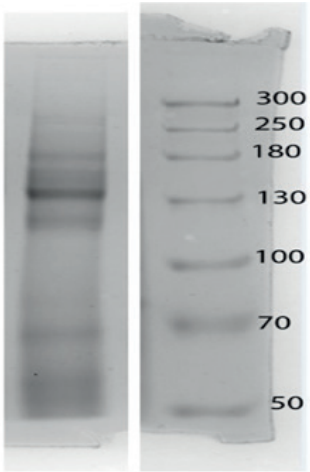


Рисунок 3. Электрофорез выделенного коллагена V в концентрации 10 мг/мл

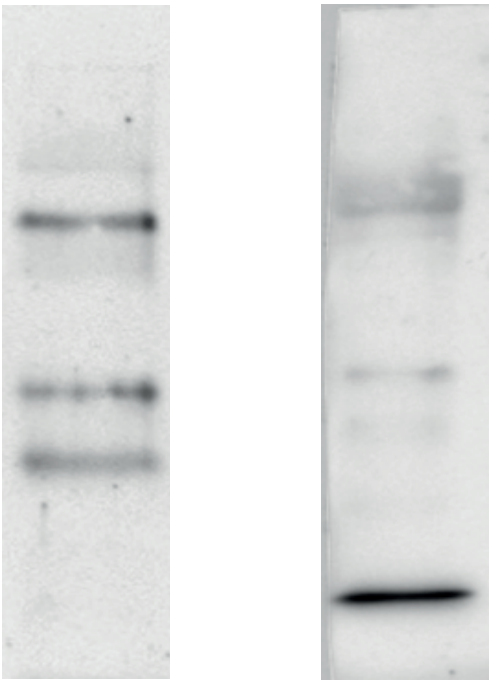
Положение бандов на дорожке соответствует расположению бандов коллагена V типа из предыдущего выделения. Наблюдается фон, размытые, нечёткие банды. Исходя из этого, мы делаем вывод, что коллаген V типа также деградировал в процессе выделения. Поэтому было принято решение оптимизировать процесс выделения и применять ингибиторы протеаз: ингибитор металлопротеаз – ЭДТА, ингибитор сериновых протеиназ - апротинин. Поскольку ткани с большим количеством сосудистой сети, такие как, плацента, содержат относительно высокий уровень переносимых кровью контаминантов. Это увеличивает вероятность разрушения коллагена за счет эндогенной протеазной активности.

Ингибиторы вводились практически на каждом этапе выделения, где pH растворов был нейтральный. Количество вносимых ингибиторов было рассчитано исходя из соотношений, найденных в литературных источниках.

Таблица 1 – Концентрация ингибиторов

Ингибитор	Концентрация
ЭДТА	500 мкг/г белка
Апротинин	184,6 KIU/г белка

В процессе выделения на всех стадиях мы проводили электрофорез и получали чёткие банды, фон отсутствовал. На конечной стадии была получена смесь V коллагена и низкомолекулярных белков. Для идентификации V коллагена мы поставили Вестерн-Блот. Хемилюминесценцию обработанной антителами мембраны измерили на приборе ChemiDoc.



а) б)

Рисунок 4. а) Мембрана, обработанная антителами к V коллагену (выделение проходило с применением ингибиторов) б) Мембрана, обработанная антителами к V коллагену (выделение проходило без применения ингибиторов)

Сравнивая полученные результаты, мы можем сделать вывод о том, что применение ингибиторов необходимо для выделения коллагена V типа из плаценты человека. Ингибиторы практически предотвратили деградацию коллагена, которую мы наблюдали при первом выделении (б). Внесенные в процесс выделения V коллагена модификации позволили получить целостный белок, для которого характерны банды с молекулярной массой 120-140 кДа. Также на мембране (а) мы обнаружили два новых банда, которых не было на электрофорезном геле. Согласно статье [6], этим бандам могут соответствовать отщепленные во время пепсинизации концевые домены V коллагена.

Заключение

В настоящий момент проработана и оптимизирована схема выделения коллагена V типа из плаценты человека. С помощью подбора условий предварительной обработки плаценты и добавления ингибиторов на каждой стадии выделения, мы предотвратили деградацию коллагена и получили смесь коллагена V типа и низкомолекулярных белков. Далее будет проводиться хроматографическая очистка коллагена V типа.

Дальнейшая наша работа состоит в том, чтобы создать композитные матрицы из коллагенов I и V и исследовать их свойства, проанализировать прозрачность, диаметр фибрилл, влияние коллагенов на адгезию клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Type V Collagen: Molecular Structure and Fibrillar Organization of the Chicken α1(V) NH-2 Terminal Domain, a Putative Regulator of Corneal Fibrillogenesis / Linsenmayer T. F. [et al.] // Cell Biology. 1993. Vol. 121(5). P. 1181-1118. DOI: 10.1083/jcb.121.5.1181

2. Adachi E., Hayashi T. In vitro formation of hybrid fibrils of type v collagen and type i collagen Limited Growth of Type I Collagen into Thick Fibrils by Type V Collagen // Connerrive Tmue Research. 1986. Vol. 14(4). P. 257-266. DOI:10.3109/03008208609017

3. Fetal membrane collagens: Identification of two new collagen alpha chains / R.E. Burgeson [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. 1976. Vol. 73(8). P. 2579-2583. DOI: 10.1073/pnas.73.8.2579

4. Niyibizi C., Fietzek P.P., van der Rest M. Human placenta type V collagens. Evidence for the existence of an alpha 1(V) alpha 2(V) alpha 3(V) collagen molecule // Journal of Biological Chemistry. 1984. Vol. 259(22). P. 14170-14174. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)89872-6

5. The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to Advanced Biomaterial Development / A. Sorushanova [et al.] // Advanced Materials. 2019. Vol. 31(1). doi: 10.1002/adma.201801651.

6. Covalent cross-linking of the NC1 domain of collagen type IX to collagen type II in cartilage / D.R. Eyre [et al.] // J Biol Chem. 2004. Vol. 279(4). P. 2568-2574. DOI: 10.1074/jbc.M311653200

SUMMARY

DEVELOPMENT AND CREATION OF A COMPOSITE MATRIX FROM TYPE I AND V COLLAGEN AS AN EQUIVALENT TO REPLACE THE EYE CORNEAL

Zenkova A.K., fourth-year student, **Sirotkina M.S.**, junior researcher
Leaders: [1]**Arseniev N.A.**, candidate of biological sciences, associate professor,
[2]**Nashchekina Y.A.**, candidate of biological sciences, Senior Researcher
[1]Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popova st, 14, Russian Federation
[2]Institute of Cytology Russian Academy of Sciences
194064, St.Petersburg, Tikhoretsky Ave., 4, Russian Federation
E-mail: arina.zenkova@spcpu.ru

Corneal diseases are the main cause of vision loss. The solution to this problem can be tissue-engineered corneas. Collagen is a natural polymer and a promising material for tissue engineering due to its high biocompatibility. Types I and V collagens are the main proteins of the cornea of the eye. The aim of our study is to isolate type V collagen. The human placenta was chosen as a source for the isolation of type V collagen, which is rich in various proteins and is the most accessible material. In our study, we present an optimized method for obtaining type V collagen from human placenta for the subsequent creation of composite matrices with type I collagen.

Keywords: *eye cornea, human placenta, type V collagen, enzymatic extraction, protease inhibitors, saline precipitation.*

REFERENCES

1. Type V Collagen: Molecular Structure and Fibrillar Organization of the Chicken α1(V) NH-2 Terminal Domain, a Putative Regulator of Corneal Fibrillogenesis / Linsenmayer T. F. [et al.] // Cell Biology. 1993. Vol. 121(5). P. 1181-1118. DOI: 10.1083/jcb.121.5.1181
2. Adachi E., Hayashi T. In vitro formation of hybrid fibrils of type v collagen and type i collagen Limited Growth of Type I Collagen into Thick Fibrils by Type V Collagen // Connerrive Tmue Research. 1986. Vol. 14(4). P. 257-266. DOI:10.3109/03008208609017
3. Fetal membrane collagens: Identification of two new collagen alpha chains / R.E. Burgeson [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. 1976. Vol. 73(8). P. 2579-2583. DOI: 10.1073/pnas.73.8.2579
4. Niyibizi C., Fietzek P.P., van der Rest M. Human placenta type V collagens. Evidence for the existence of an alpha 1(V) alpha 2(V) alpha 3(V) collagen molecule // Journal of Biological Chemistry. 1984. Vol. 259(22). P. 14170-14174. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)89872-6
5. The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to Advanced Biomaterial Development / A. Sorushanova [et al.] // Advanced Materials. 2019. Vol. 31(1). doi: 10.1002/adma.201801651.
6. Covalent cross-linking of the NC1 domain of collagen type IX to collagen type II in cartilage / D.R. Eyre [et al.] // J Biol Chem. 2004. Vol. 279(4). P. 2568-2574. DOI: 10.1074/jbc.M311653200

УДК 577.22

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МУТАГЕНЕЗА КАПСИДА AAV НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ СБОРКИ РЕКОМБИНАНТНЫХ AAV ВЕКТОРОВ

Ильющенко А.Ю., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Прокофьев А.В.**, доцент НОЦ ТРБ, к.б.н., PhD
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ilyushchenko.aleksandr@pharminnotech.com

В данной статье представлены результаты изучения влияния точечных мутаций на сборку рекомбинантных вирусных частиц. Исследуемые мутации внесены в гены капсида аденоассоциированного вируса пятого серотипа (AAV5). Результаты, проведенных экспериментов показывают, что выбранные с помощью биоинформатических методов точки мутагенеза в последовательности генов, кодирующих белки капсида AAV5, являются важными для упаковки экспрессионной кассеты в капсид рекомбинантного AAV5.

Ключевые слова: *генная терапия, вирусные векторы, сборка вирионов, эффективность сборки, мутагенез, дизайн капсидов, молекулярная биология, рекомбинантные вирусы.*

Для таргетной системной доставки терапевтического гена в генной терапии используется множество различных векторов. Среди вирусов, используемых в качестве векторов, наиболее оптимальным для применения в генной терапии является аденоассоциированный вирус (AAV).

Данный вирус обладает низкой иммуногенностью, не имеет генотоксического и онкогенного эффектов, инфицирует делящиеся и неделящиеся клетки. Доставленный при помощи AAV трансген долго и стабильно сохраняется в клетке в эписомальной форме [1]. Именно эти особенности делают AAV основным кандидатом для создания вирусных векторов в генной терапии.

Максимальная емкость рекомбинантного AAV составляет примерно 4,7 тысяч пар нуклеотидов, что ограничивает его применение в генной терапии, поскольку в отдельных случаях требуется доставка больших по размеру генов. Однако существует много подходов к увеличению емкости векторов на основе аденоассоциированного вируса. Одним из таких подходов является модификация капсида посредством внесения точечных замен в аминокислотную последовательность капсидных белков [2].

Цель исследования – изучение влияния точечного мутагенеза, рассчитанного в результате биоинформатического анализа, на эффективность сборки вирусных частиц и процесс инкапсидации (т.е. упаковки) вирусного генома. Для этого исследовали процесс наработки рекомбинантных AAV5 с модифицированной аминокислотной последовательностью белков капсида, направленной на увеличение эффективности сборки и упаковки рекомбинантных аденоассоциированных вирусов (rAAV).

Задачи исследования:

1. Провести наработки rAAV-частиц с исследуемыми мутациями в генах Cap.
2. Определить продуктивность rAAV в проведенных наработках посредством измерения общей концентрации вирусных частиц rAAV (CP/mL) и концентрации ДНК-содержащих вирусных частиц rAAV в культуральной жидкости (VG/mL).
3. Определить долю вирусных капсидов, несущих генетический материал.

Материалы и методы

Клонирование плазмид, несущих мутантные гены Rep и Cap AAV5 (RC5), было проведено с использованием метода точечного мутагенеза. Использовалось клонирование с использованием специфических к целевому участку праймеров, содержащих целевую мутацию. Участки внесения мутаций и тип мутаций были определены методом биоинформатического анализа.

Верификацию последовательности генетических конструкций проводили с помощью секвенирования по методу Сэнгера. После верификации конструкций проводилась наработка экспериментальных, контрольных и вспомогательных плазмид (репортерной и хелперной) согласно протоколу к коммерческому набору QIAGEN MegaPrep (QIAGEN, Нидерланды). Для исследований было получено от 1 до 2 мг высокоочищенной плазмидной ДНК. Полученные в препаративных количествах плазмиды были верифицированы при помощи аналитической рестрикции и секвенирования по методу Сэнгера.

Используемые плазмиды:

• Плазмида, несущая репортерный ген зелёного флуоресцентного белка (EGFP), используемый в дальнейшем для определения количества ДНК-содержащих rAAV-частиц.

• Плазмида pHelper, содержащая аденовирусные гены E2A, E4, VA, необходимые для сборки аденоассоциированного вируса [3,4].

• Плазмида RC5, содержащая гены Rep и Cap, отвечающие за репликацию генома и синтез капсидов AAV5.

• Варианты плазмид RC5_mut (A–G), полученные методом мутагенеза, кодирующие изменённую аминокислотную последовательность капсида AAV.

Наработка rAAV проводилась методом трехплазмидной трансфекции в суспензионной культуре клеток линии HEK293. В каждой наработке использовались одинаковые плазмиды EGFP и Helper, пакующие RC5 плазмиды отличались в каждой наработке. Таким образом, было наработано восемь кандидатов: исследуемые вирусы, несущие мутацию в капсиде (обозначенные как A, B, C, D, E, F, G), и контрольный образец, обозначенный K.

Трансфекцию проводили с использованием трансфекционного агента PEI (полиэтиленимина), клетки культивировали в течение 72 ч после трансфекции при температуре +37°C и 250 об/мин в термостат-шейкере в колбах объемом 250 мл, объем культуральной жидкости (КЖ) составлял 100 мл.

Определение физического титра инкапсидированных или ДНК-содержащих вирусных частиц, обозначаемого «VG/мл» (от англ. «viral genome» – вирусный геном), проводили методом количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) в режиме реального времени. Для кПЦР использовали праймеры и зонд типа TaqMan, специфичные к гену EGFP. Результаты анализа визуализировались при помощи программного обеспечения BioRad CFX Manager.

Определение общего титра вирусных частиц, обозначаемого «CP/мл» (от англ. «capsid protein» – белки капсида), определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). При этом использовался коммерческий набор реагентов PROGEN AAV5 Titration ELISA (PROGEN, Нидерланды) для определения белков капсида аденоассоциированного вируса пятого серотипа. Первичные данные результатов анализа визуализировались при помощи программного обеспечения ScanIT Software 6.1.1.

Окончательная обработка результатов, построение таблиц, графиков и диаграмм проводились с помощью программного обеспечения Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Наработки контрольных и опытных кандидатов AAV5 были проведены, получены образцы КЖ для определения физического титра вирусных частиц. Содержание ДНК-содержащих rAAV (VG/мл) было определено во всех наработках, общее содержание собранных rAAV (CP/мл) удалось определить только в КЖ кандидатов A-D. Результаты измерений приведены в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1 – Результаты исследований наработок rAAV на количество VG и CP в мл КЖ

Описание образца	Краткое обозначение	VG/мл	CP/мл	VG/CP
Клеточный осадок с 1 мл тотальной КЖ, контроль	K	1,57E+08	2,22E+09	7%
Клеточный осадок с 1 мл КЖ, опыт 1	A	1,72E+08	3,24E+09	5%
Клеточный осадок с 1 мл КЖ, опыт 2	B	5,63E+07	2,48E+09	2%
Клеточный осадок с 1 мл КЖ, опыт 3	C	4,55E+07	1,03E+09	4%
Клеточный осадок с 1 мл КЖ, опыт 4	D	5,29E+07	8,40E+08	6%
Клеточный осадок с 1 мл КЖ, опыт 5	E	1,46E+07	-	-
Клеточный осадок с 1 мл КЖ, опыт 6	F	1,85E+07	-	-
Клеточный осадок с 1 мл КЖ, опыт 7	G	1,49E+07	-	-

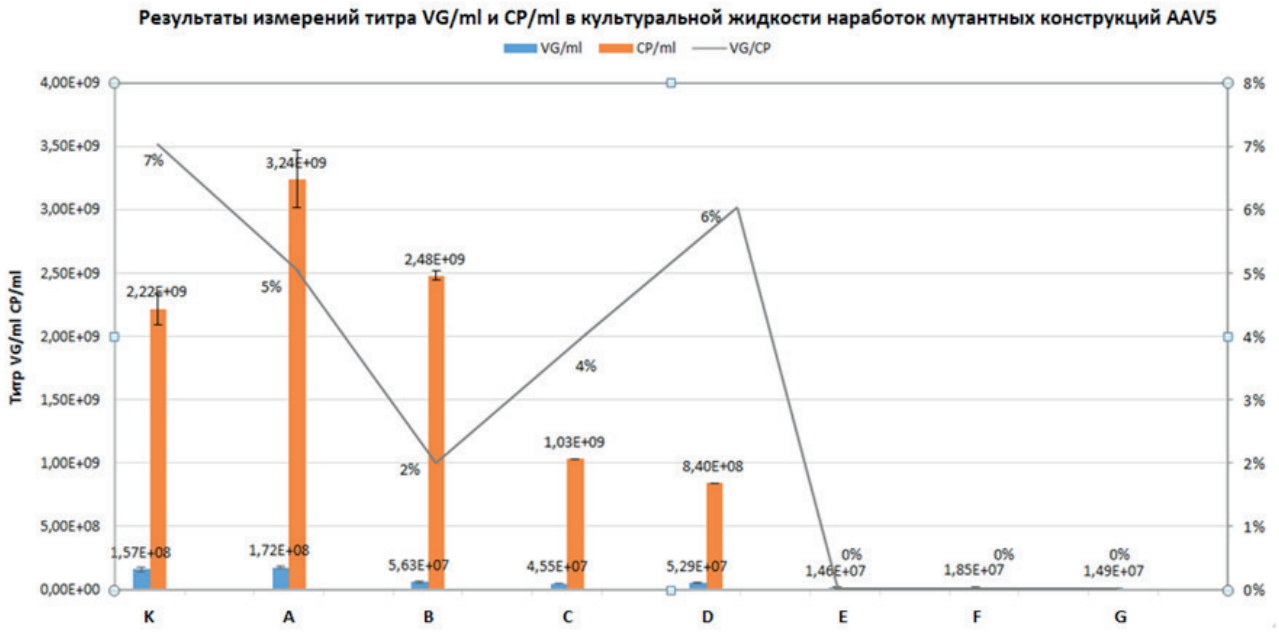


Рисунок 1. Результаты измерений титра VG и CP в наработках мутантных AAV-конструкций. K – контрольная наработка; A – G – исследуемые мутантные кандидаты

Как видно из графика на рисунке 1, соотношение VG/CP в опытных образцах оказалось меньше, чем в контрольном образце. Образцы от E до G показали результат менее 2×10^7 VG/мл, что на порядок меньше, чем у контрольного образца. Содержание CP в этих образцах не удалось определить, что говорит о том, что он находится ниже порога чувствительности используемой методики. Относительно кандидатов E, F, G можно сделать вывод, что внесенные в их геном мутации отрицательно повлияли на эффективность сборки и инкапсидации вирионов, что показывает важность данных аминокислотных позиций для упаковки генетического материала в капсид rAAV

Заключение

Цель исследования – изучение влияния внесённых точечных мутаций на эффективность сборки вирусных капсидов – достигнута. Наработки проведены, определена концентрация ДНК-содержащих rAAV (VG/мл) и общая концентрация rAAV вирусных частиц (CP/мл). На основании полученных данных было определено соотношение ДНК-содержащих вирусных частиц к общему количеству собранных вирусных частиц (VG/CP), отражающее процент rAAV частиц с инкапсидированным геномом. Проведен сравнительный анализ полученных результатов.

Вывод: выбранные с помощью биоинформатических методов точки мутагенеза в последовательности генов, кодирующих белки капсида AAV5, являются важными для упаковки экспрессионной кассеты в капсид рекомбинантного AAV5. Модификации капсидов, внесенные в эти участки, нарушают процесс сборки и снижают количество полных вирионов. Из полученных данных следует, что мутации, внесенные в гены Cap кандидатов E-G, особенно сильно влияют на процесс сборки, в то время как в кандидатах A-D он изменяется менее значительно.

Работа выполнена на базе департамента разработки генотерапевтических препаратов ЗАО «Биокад».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

34.15.00 Молекулярная биология
34.15.23 Молекулярная генетика
34.15.31 Молекулярная биология вирусов

34.15.27 Генетическая инженерия
34.23.19 Мутагенез
34.25.19 Репликация вирусов
34.25.37 Вирусные препараты

ЛИТЕРАТУРА

1. Антипова А.Ю., Лаврентьева И.Н. Вирусы семейства Parvoviridae: молекулярно-генетические аспекты репродукции и медицинская значимость // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7. N 1. С. 7-20. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-7-20

2. Луц С. За пределами направленной эволюции – полурациональная инженерия и дизайн белков // Текущее мнение в области биотехнологии. 2010. Т. 21(6). С. 734–43. DOI : 10.1016 / j.copbio.2010.08.011 .

3. Мейер А.Ф., Фрафель С., Сейфферт М. Взаимодействие между аденоассоциированным вирусом и его вспомогательными вирусами // Вирусы. 2020. Т. 12. Вып. 6. 662 с. https://doi.org/10.3390/v12060662.

4. Зенгель Дж., Каретт Дж. Э. Структурная и клеточная биология прикрепления и проникновения аденоассоциированного вируса // Adv вирус Res. 2020. Т. 106. С. 39-84. doi: 10.1016/bs.aivir.2020.01.002.

SUMMARY

STUDY OF THE INFLUENCE OF AAV CAPSID MUTAGENESIS ON THE EFFICIENCY OF ASSEMBLY OF RECOMBINANT AAV VECTORS

Ilyushchenko A.Yu., graduate student, 2 years of study.
Supervisor: **Prokofyev A.V**., Associate Professor of REC TRB, PhD
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: ilyushchenko.aleksandr@pharminnotech.com

This article presents the results of studying the effect of point mutations on the assembly of recombinant viral particles. The studied mutations were introduced into the genes of the capsid of adeno-associated virus serotype five (AAV5). The results of the experiments performed show that the mutagenesis points selected using bioinformatic methods in the sequence of genes encoding AAV5 capsid proteins are important for the packaging of the expression cassette into the recombinant AAV5 capsid.

Keywords: *Gene therapy, viral vectors, assembly efficiency, mutagenesis, capsid design, molecular biology, viral replication, recombinant viruses.*

REFERENCES

1. Antipova A.Yu., Lavrent'eva I.N. Viruses of the Parvoviridae family: molecular genetic aspects of reproduction and medical significance // Infection and immunity. 2017. Vol. 7(1). P. 7-20. doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-7-20 (in Russian)

2. Lutz S. Beyond directed evolution is semi-rational engineering and protein design // Current Opinion in Biotechnology. 2010. Vol. 21(6). P. 734–43. DOI: 10.1016/j.copbio.2010.08.011.

3. Meyer A.F., Frafel S., Seiffert M. Interaction between adeno-associated virus and its accessory viruses // Viruses. 2020. Vol. 12(6). 662 p. doi: 10.3390/v12060662.

4. Zengel J., Carett J. E. Structural and cellular biology of adeno-associated virus attachment and entry // Adv virus Res. 2020. Vol. 106. P. 39-84. doi: 10.1016/bs.aivir.2020.01.002.

УДК 13058

РАЗРАБОТКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА ФУМАРАТ 3-ОКСИПИРИДИНА, КАК ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА

Какора С.А., студ. 4 курса ИАТЭ НИУЯ МИФИ
Руководитель: **Уланова Т.В.**, к.м.н, доцент, зав. кафедрой фармакологии ИАТЭ НИЯУ МИФИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» Обнинский институт атомной энергетики –
филиал федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования
«Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»
249039; г. Обнинск Калужской обл., тер. Студгородок, 1
E-mail: sofi1.999@mail.ru

Онкология является одной из ведущих причин смерти в мире, которая унесла жизни почти 10 млн человек, или почти каждого шестого умершего. Цель исследования – изучение действия препарата Фумарата 3-оксипиридна, как самостоятельного противоопухолевого препарата и в комбинации с ионизирующим излучением.

Из исследования на клеточных линиях становится понятно, что Фумарат обладает противоопухолевым действием, но при этом обладает меньшей цитотоксичностью (что является проблемой для многих препаратов, которые сейчас используются в качестве противоопухолевой терапии).

Ключевые слова: *онкология; химиотерапия; комбинированная терапия опухолей.*

Актуальность:

Рак – одна из ведущих причин смерти в мире, от которой в 2020 г. умерло порядка 10 млн человек [1]. Специалисты Международного агентства по изучению рака прогнозируют, что онкологическое заболевание будет диагностировано у каждого пятого жителя планеты. Каждый восьмой мужчина и каждая одиннадцатая женщина умрут от этого заболевания.

Цель:

Оценить действие фумарата, в качестве самостоятельной химиотерапии, комбинированной с лучевой терапией на мезенхимальные клетки и опухолевые клетки. Оценить цитотоксичность.

Задачи:

1. оценить действие фумарат 3-оксипиридина, облучения и комбинированное действие препарат а и облучения на мезенхимальные стволовые клетки спустя разные промежутки времени.

2. оценить действие фумарат 3-оксипиридина, облучения и комбинированное действие препарата и облучения на линию опухолевых клеток HeLa спустя разные промежутки времени.

Материалы и методы

Тест-объекты – мезенхимальные стволовые клетки и раковые клетки линии HeLa. Клетки культивируются согласно стандартной методике до достижения 60%-80% конфлюентного слоя. Исследуемый препарат – фумарат 3-оксипиридина.

Схема эксперимента:

Возьмем две линии клеток опухолевые HeLa и мезенхимальные стволовые клетки. Разделим каждую на 4 группы:

1 группа – клетки, которые только облучали;

2 группа – в которую только добавляли Фумарат;

3 группа – комбинированная терапия (Фумарат и облучение);

4 группа – контроль.

В группу с препаратами к растущей среде прибавили раствор препарата в рассчитанной концентрации и продолжали культивирование в течение еще 1 суток.

В день опыта клетки снимают с культуральных флаконов с помощью раствора трипсина и помещают в эпендорфы (2 мл) в заданной концентрации с культуральной средой. Препарат добавляли в концентрации 0,01 мг/мл.

Облучение проводится в дозах 1 Гр, 2Гр, 4 Гр, 6 Гр (Мощность 0,9 Гр/мин).

Облученные клетки высеить в чашки Петри с концентрацией 10 000 клеток на чашку.

Культивировать в течение 48 ч.

Через указанные сроки слить питательную среду.

Промыть р-м трипсин/версена, добавить 1 мл р-ра т/в, оставить в термостате на 30 минут.

Подсчет клеток проводился с помощью камеры Горяева. Результаты сравнивали с контролем. В качестве контроля использовалась культура клеток, облученная без препарата в тех же дозах.

Подсчет клеток производился по формуле:

$$\frac{250\,000 * \text{кол} - \text{во клеток в квадрате}}{\text{количество квадратов}} = \frac{\text{кл}}{\text{мл}}$$

Время удвоения посчитать по формуле:

$$\mathrm{TD} = \mathrm{tp} \times \frac{\log 2}{\log\left(\frac{\mathrm{N2}}{\mathrm{N1}}\right)}$$

где tp – время культивирования, N1 – начальное количество клеток, N2 – конечное количество клеток.

Клоногенная активность клеток:

I. После облучения клетки переносили в стерильные чашки Петри в количестве от 1000 до 100 000 в зависимости от дозы.

II. Инкубировать в CO2-инкубаторе в течение 7-9 дней до формирования колоний, видимых невооруженным глазом.

III. Фиксация клеток. По окончании инкубации культуральную среду удаляли, колонии окрашивали 2%-ным раствором метиленового синего в 50%-ном этаноле

IV. Подсчет колоний (не менее 400 на каждую группу, что соответствует ≤5% погрешности) вели на ручном счетчике, учитывая те, что содержали более 50 клеток. Показатель клоногенной активности клеток выражали в процентах по отношению к высеянным в каждой группе (соответствующей определенной дозе облучения) с учетом выживаемости клеток в контроле (без облучения).

Результаты и обсуждение

В ходе исследования были получены следующие данные:

Таблица 1 – Время удвоения МСК при действии препарата, облучения и комбинированного действий препарата и облучения

Облучение		Препараты		Облучение + препарат (Фумарат)	
Доза	Время удвоения, час	Препарат	Время удвоения, час	Доза	Время удвоения, час
1 Гр	12,3	Фум.	48	1 Гр	20,5
2 Гр	24	Фум.	48	2 Гр	28,8
4 Гр	48	Фум.	48	4 Гр	48
6 Гр	48	Фум.	48	6 Гр	20,5

Время удвоения контроля 6 часов.

На рисунке 1 показано время удвоения МСК при действии препарата, облучения и комбинированного действий препарата и облучения.

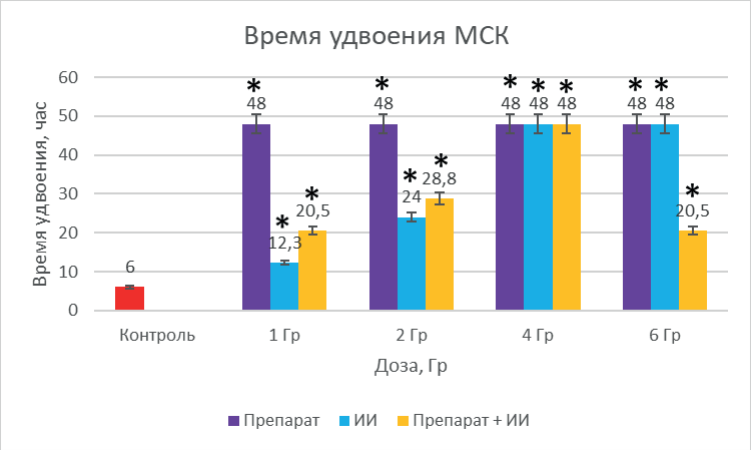


Рисунок 1. Время удвоения МСК при действии п МСК при действии препарата, облучения и комбинированного действий препарата и облучения
*** различия значимы при p<0,05 по отношению к контролю**

Из рисунка видно, что время удвоения под действием препарата значительно увеличилось и составило 48 часов.

При облучении в дозе 1 Гр время удвоения увеличилось на 6 часов и составило 12 часов. Облучение в дозе 2 Гр увеличило время удвоения до 24 часов. При облучении в дозе 4 и 6 Гр время удвоения выросло до 48 часов.

При комбинированное действии препарата и облучения в дозах 1, 2, 4 и 6 Гр время удвоения выросло до 20,5; 28,8; 48 и 20,5 часов соответственно.

Таблица 2 – Время удвоения HeLa при действии препарата, облучения и комбинированного действий препарата и облучения

Облучение		Препараты		Облучение + препарат (Фумарат)	
Доза	Время удвоения, час	Препарат	Время удвоения,час	Доза	Время удвоения, час
1 Гр	13	Фум.	28,8	1 Гр	13,5
2 Гр	16,8	Фум.	28,8	2 Гр	24
4 Гр	20,4	Фум.	28,8	4 Гр	96
6 Гр	31,1	Фум.	28,8	6 Гр	14,4

Время удвоения контроля 5,7 часов.

На рисунке 2 показано время удвоения HeLa при действии препарата, облучения и комбинированного действий препарата и облучения.

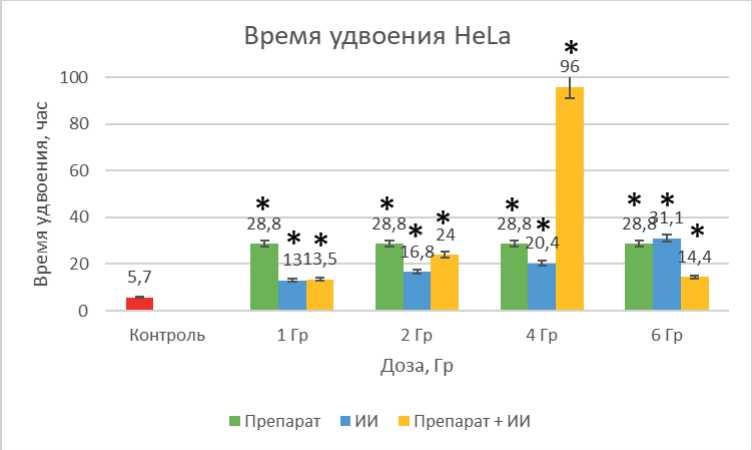


Рисунок 2. время удвоения HeLa при действии препарата, облучения и комбинированного действий препарата и облучения
***различия значимы при p<0,05 по отношению к контролю**

Из рисунка видно, что время удвоения под действием препарата увеличилось и составило 28,8 часов.

При облучении в дозе 1 Гр время удвоения увеличилось на 7 часов и составило 13 часов. Облучение в дозе 2 Гр увеличило время удвоения до 17 часов. При облучении в дозе 4 и 6 Гр время удвоения выросло до 22 часов.

При комбинированное действии препарата и облучения в дозах 1, 2, 4 и 6 Гр время удвоения выросло до 13,5; 24; 96 и 14,4 часов соответственно.

Таблица 3 – клоногенная активность HeLa при действии препарата, облучения и комбинированного действий препарата и облучения

Облучение		Препараты		Облучение +препарат (Фумарат)	
Доза	**КА, %**	**Препарат**	**КА, %**	**Доза**	**КА, %**
1 Гр	27	Фум.	90	1 Гр	3
2 Гр	21	Фум.	90	2 Гр	2,3
4 Гр	18	Фум.	90	4 Гр	2,4
6 Гр	12	Фум.	90	6 Гр	3,4

Клоногенная активность в контроле 100 %.

На рисунке 3 показана клоногенная активность HeLa при действии препарата, облучения и комбинированного действий препарата и облучения.

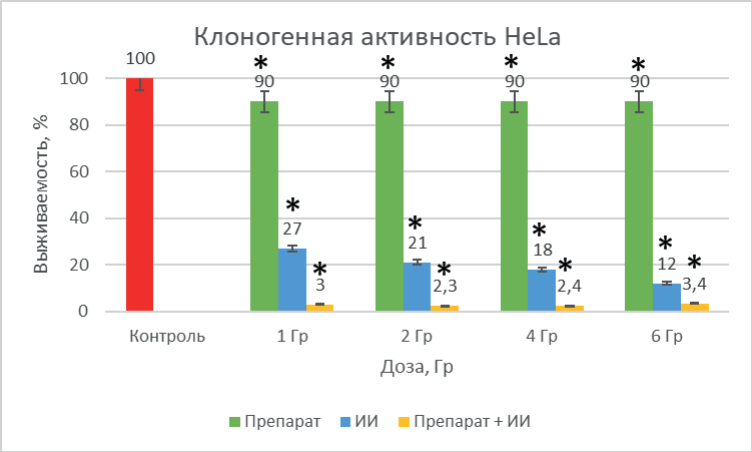


Рисунок 3. Клоногенная активность HeLa при действии препарата, облучения и комбинированного действий препарата и облучения
*** различия значимы при p<0,05 по отношению к контролю**

Из рисунка видно, что под действием препарата клоногенная активность клеток снизилась незначительно и составила 90%.

При действии ИИ клоногенная активность клеток значительно снизилась и составила 27% при дозе 1 Гр; 21% при дозе 2 Гр; 18% при дозе 4 Гр; 12% при дозе 6 Гр.

При комбинированном действии препарата и облучения в дозах 1, 2, 4, 6 Гр клоногенная активность клеток составила 3%, 2,3%, 2,4%, 3,4% соответственно.

Заключение

Выводы:

1. Действие препарата значительно увеличивает время удвоения МСК и HeLa, но незначительно снижает клоногенную активность клеток HeLa.

2. Наиболее сильно ИИ увеличивает время удвоения для МСК в дозах 4 и 6 Гр, а для HeLa в дозе 4 Гр. Клоногенная активность HeLa значительно снижается при любых дозах, но наиболее сильно при дозе 6 Гр.

3. Комбинированное действие препарата и облучения наиболее сильно увеличивает время удвоения для МСК и HeLa при дозе 4 Гр. Клоногенная активность клеток значительно снижается при комбинированном действии в любых дозах ИИ.

Общий вывод:

Из исследования становится понятно, что Фумарат обладает противоопухолевым действием, при этом он обладает меньшей цитотоксичностью, его можно комбинировать с радиотерапией, что дает большую возможность методик лечения.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

ЛИТЕРАТУРА

1. Cancer Today: International Agency for Research on Cancer / J. Ferlay [et al.] // World health organization. 2020. [Электронный ресурс]. URL: https://gco.iarc.fr/today/ (по состоянию на февраль 2021 г.).

2. Новиков В.Е., Лосенкова С.О. Фармакология производных 3-оксипиридина // Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии. 2004. Т. 3. N 1. С. 2-14

3. Производные 3-оксипиридина оптимизируют применение этопозида на модели карциномы легких Льюис / П. И. Скопин [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2012. N 6. [Электронный ресурс] URL: http://www.science-education.ru/106-8026.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF PHARMACOLOGICAL CYTOTOXICITY OF THE DRUG 3-OXYPYRIDINE FUMARATE AS AN ANTITUMOR DRUG

Kakora S.A., 4th year student of IATE NIUYA *MEPHI*
Supervisor: **Ulanova T.V.**, IATE NIUYA *MEPHI*, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, the head of Department of Pharmacology
Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education National Research Nuclear University MEPHI
249039, Russia, Obninsk, Kaluga region, ter. Campus, 1
E-mail: sofi1.999@mail.ru

Oncology is one of the possible causes of death in the world, which claimed the lives of almost 10 million people, or almost one in six deaths. The aim of the study was to study the effect of 3-hydroxypyridne fumarate as an independent antitumor drug in the presence of ionizing radiation.

From studies of cell lines, it becomes apparent that Fumarate has antitumor toxicity, but at the same time, the level of cytocity is reduced.

Keywords: *oncology; chemotherapy; combination therapy for tumors.*

REFERENCES

1. Cancer Today: International Agency for Research on Cancer / J. Ferlay [et al.] // World health organization. 2020. [Internet]. URL: https://gco.iarc.fr/today/ (по состоянию на февраль 2021 г.).

2. Novikov V. E., Losenkova S. O. Pharmacology of 3-hydroxypyridine derivatives // Clinical Reviews. pharmacol. and lek. therapy. 2004. Vol. 3(1). P. 2-14 (in Russian)

3. 3-Hydroxypyridine derivatives optimize the use of etoposide in the Lewis lung carcinoma model / P. I. Skopin [et al.] // Modern Problems of Science and Education. 2012. N. 6. [Internet]. URL: http://www.science-education.ru/106-8026. (in Russian)

УДК 60:615.3

ПЛАНИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТА ДЛЯ ПОДБОРА ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ БИОСИНТЕЗА ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗЫ В ЛАБОРАТОРНОМ БИОРЕАКТОРЕ EVIO-LAB

Ковтун М.М., студ. 4 курса ФПТЛ
Руководитель: **Колодязная В.А.**, канд. биол. наук, доцент, зав. кафедрой биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: maksim.kovtun@spcpu.ru

Атеросклероз – крайне распространённое заболевание, способное повлечь тяжёлые последствия для здоровья человека. Во избежание осложнений необходима своевременная и быстрая диагностика. Одним из вариантов определения уровня содержания холестерина в крови человека могут служить тест-системы на основе холестеролоксидазы, получаемой путём микробиологического синтеза. В работе рассмотрены одни из важнейших параметров культивирования продуцента холестеролоксидазы – расход воздуха на аэрацию и перемешивание. Представлены результаты расчётов, проведённых с целью оптимизации процесса ферментации в лабораторном биореакторе EVIO-LAB.

Ключевые слова: *холестеролоксидаза, тест-системы, Streptomyces lavendulae, лабораторный биореактор, аэрация, перемешивание.*

Атеросклероз относится к заболеваниям сердечно-сосудистой системы, и является крайне распространённым во всём мире. В группе риска находятся лица пожилого возраста, однако, в последнее время растёт и количество пациентов молодого возраста с диагностированной болезнью. Далеко не все механизмы образования атеросклеротических бляшек на данный день изучены, однако считается, что главная причина этого – нарушение взаимодействия между системой транспорта липидов и иммунной системой. Ведущим фактором риска в атеросклеротическом процессе является повышенное содержание богатых холестерином липопротеидов [1]. Повышенное содержание холестерина в мембранах клеток кровеносных сосудов способствует сужению просвета сосудов, и снижению их эластичности [2].

Нужно учитывать, что образовавшиеся бляшки часто довольно неустойчивы, а кристаллы холестерина в воде нерастворимы и не перевариваются макрофагами, поэтому в случае скрытого течения и отсутствия своевременной диагностики атеросклероза, человек рискует получить такие осложнения, как инфаркт миокарда, инсульт мозга, а также, ишемические и воспалительные поражения других органов.

Учитывая вышеприведённые факты, становится понятно, что для снижения риска осложнений, очень важна своевременная диагностика атеросклероза. Для этого необходимы надёжные тест-системы, отображающие содержание холестерина в плазме или сыворотке крови. Подобный анализ возможно проводить с помощью микробного фермента – холестеролоксидазы.

Холестеролоксидаза представляет собой флавиновый фермент из класса оксидоредуктаз, который катализирует окисление и изомеризацию холестерина до 4-холестен-3-она и хорошо описан структурно и химически. Его получают только путём микробного синтеза. Может существовать в секретируемой форме или быть связанным с клеточной стенкой. Это зависит от исследуемого микроорганизма-продуцента и условий культивирования [3].

Тест-системы могут быть основаны на различных взаимодействиях, но ключевым реагентом в них является именно холестеролоксидаза, поскольку для определения холестерина важно именно специфическое фермент-субстратное взаимодействие. Данный фермент в России не производится, а поставляется из Японии. Активность зарубежного фермента составляет 10-12 ЕД/мл. Таким образом, очень важной становится задача разработки технологии культивирования продуцента холестеролоксидазы с активностью не меньше зарубежного аналога, а также, масштабирования процесса для последующего переноса лабораторной методики на производство.

С целью получения фермента с высокой активностью, на кафедре биотехнологий СПХФУ проводится изучение микробной культуры-продуцента холестеролоксидазы *Streptomyces lavendulae* (штамм ВКМА-840Д). Данный актиномицет представляет собой грамположительные, нитевидные, аэробные клетки. Существует множество различных штаммов данного микроорганизма, способных продуцировать различные биологически-активные вещества. Поэтому, условия культивирования, хранения и исследования культур *Streptomyces lavendulae* исследуются многими учёными из разных стран.

Целью данного исследования является математический подбор оптимальных показателей процессов перемешивания и аэрации в процессе культивирования продуцента холестеролоксидазы. В дальнейшем полученные значения будут уточнены в ходе проведения опытов по ферментации и измерениям активности фермента.

Материалы и методы

К настоящему моменту разработана технология лабораторного культивирования продуцента фермента холестеролоксидазы *Streptomyces lavendulae*. Осуществлён подбор и оптимизация состава питательных субстратов для поддержания культуры в активном состоянии, выращивания посевного материала и ферментации. Выбраны оптимальные условия культивирования микроорганизма. Данные параметры подбирались для культивирования в колбах Эрленмейера на качающейся платформе [4].

В ранее проведенных исследованиях была апробирована предложенная технология получения фермента холестеролоксидазы и осуществлён подбор оптимальных параметров культивирования штамма-продуцента в биореакторе фирмы

Sartorius BIOSTAT A. Предварительные результаты показали, что трансфер технологии от колбы в биореактор возможен с сохранением уровня активности фермента, полученного в колбах. В настоящее время для кафедры биотехнологии был приобретён современный ферментатор Evio производства фирмы ООО «PharmTechnologies LLC», который используется для аэробного культивирования клеток. Однако, проведя ряд ферментаций в новом биореакторе, было установлено, что несмотря на заметный рост продуцента, активность фермента была ниже уровня контрольных вариантов, полученных в колбах. Полученные сведения ставят задачу дальнейшего подбора параметров культивирования продуцента в биореакторе для увеличения активности целевого продукта [5].

Очень важным параметром проведения микробиологического процесса с аэробным микроорганизмом является подача воздуха (аэрация) и перемешивание питательной среды. Это обусловлено тем, что рассматриваемый микроорганизм обладает мицелиальным строением, что значительно повышает вязкость культуральной жидкости по сравнению с одиночными клетками, а, следовательно, затрудняет равномерное потребление кислорода исследуемым продуцентом. Сам по себе кислород слаборастворим, поэтому необходимым является его регулярный подвод к культуральной жидкости и обеспечение динамического равновесия между его потреблением и притоком. Кроме того, кислород необходим для действия оксидоредуктаз, к которым относится исследуемый фермент.

Используемый биореактор является аппаратом с комбинированным подводом энергии, то есть энергия к жидкой фазе подводится с помощью перемешивающего устройства, а к газовой фазе путём принудительной подачи воздуха. Перемешивание является очень важным дополнением к аэрации и обуславливает диспергирование газовых пузырьков, выходящих из барботера, равномерное распределение в объеме жидкости газовых пузырьков, биомассы, взвешенных компонентов питательной среды и интенсификацию массопередачи кислорода и питательных веществ.

Результаты и обсуждение

Определение количества потреблённого кислорода велось с помощью расчёта теплоты жизнедеятельности микроорганизма. Данный показатель зависит от теплоты сгорания всех органических веществ, входящих в состав питательной среды и от теплоты сгорания вновь образованного мицелия. Теплотой сгорания целевого продукта в таких расчетах можно пренебречь, т.к. сам фермент накапливается в клетках продуцента. При расчётах объём питательной среды принимали равным 1,5 литра, что составляло суммарный объем стерильной питательной среды и посевного материала. Результаты расчётов показали, что масса потреблённого кислорода в процессе ферментации, длившейся 24 часа, равна 0,027 кг (табл.1). Расчёты проводились с целью оптимизации количества подаваемого в аппарат воздуха. Принято считать, что оптимальное отношение поступившего в аппарат воздуха к потреблённому микроорганизмом, составляет 1-10%.

Для сравнения были проведены расчеты потребления воздуха при культивировании микроорганизма в качалочной колбе Эрленмейера объёмом 750 мл. При этом, в колбе находится 600 мл воздуха. Отношение количества воздуха в колбе к потреблённому микроорганизмом составило, по расчётам, 0,7 %. Данное значение отличается от оптимального. Это говорит о том, что рост микроорганизма в колбе может быть затруднён из-за невозможности оптимизировать и регулировать условия культивирования. Следовательно, в плане аэрации, биореактор имеет явное преимущество, поскольку процесс подачи воздуха можно оптимизировать. Данные расчетов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Теоретические расчёты показателей процесса аэрации

Отношение количества потребленного кислорода к общему количеству кислорода в воздухе (%)	Количество потреблённого кислорода (кг)	Количество подаваемого в аппарат кислорода (кг)	Количество подаваемого в аппарат кислорода (л/мин)
1	0,027	2,7	6,3
2	0,027	1,35	3,1
3	0,027	0,9	2,1
4	0,027	0,68	1,6
5	0,027	0,54	1,3
6	0,027	0,45	1,0
7	0,027	0,39	0,9
8	0,027	0,34	0,8
9	0,027	0,3	0,7
10	0,027	0,27	0,6

Таким образом, если рассматривать вариант наименьшего потребления растворённого кислорода культурой продуцента, то количество подаваемого в биореактор воздуха должно составлять около 6,3 л/мин. В условиях лаборатории подача такого объёма воздуха возможна с помощью компрессора, подключённого к биореактору. Благодаря современному интерфейсу блока управления биоактором, возможно чёткое отслеживание параметров аэрации.

Опираясь на предыдущие эксперименты [5], можно сделать вывод, что подача воздуха со скоростью менее 2 л/мин бессмысленна, поскольку, при рассчитанном выше значении, активность продуцируемого фермента значительно больше, нежели при подаче с меньшей скоростью.

Как было указанно, немаловажным фактором при культивировании микроорганизмов является процесс перемешивания культуральной жидкости. В исследовании [5] скорость вращения мешалки не была оптимизирована путём расчётов, а была взята приблизительно, исходя из скорости вращения качалочной платформы и возможностей пеногасителя. Целью являлось доказать возможность культивирования используемого микроорганизма в новом биореакторе EVIO-LAB.

При малых оборотах мешалки есть риск снизить распределение кислорода в культуральной жидкости, однако, при слишком интенсивном перемешивании может произойти повреждение клеток. Оба обозначенных процесса неизбежно приведут к гибели определённой части клеток, и снижению выхода продукта [6]. Поэтому очень важно подобрать такие значения скорости вращения перемешивающего устройства, которые будут способствовать интенсификации потребления и обмена веществ, но не приведут к механическим повреждениям клеток продуцента.

В используемом аппарате, механическое перемешивание осуществляется шестилопастной одноярусной турбинной мешалкой с прямыми лопастями. Мешалки такого вида обеспечивают трёхмерное перемешивание культуральной жидкости, что является наиболее эффективным, по сравнению с другими типами мешалок. При исследовании процесса перемешивания, необходимо также уточнить, являются ли геометрические параметры мешалки оптимальными.

Считается, что диаметр мешалки должен лежать в пределах значений 0,3-0,4 от диаметра аппарата, а расстояние от дна ферментатора до мешалки должно быть равно 0,8-1,1 относительно диаметра мешалки. Указанные значения равны соответственно 0,35 и 0,9. Линейная скорость вращения мешалки при ферментации с бактериальными культурами не должна быть больше 6-8 м/с. В силу технических возможностей используемого аппарата, данный показатель не может быть больше 3 м/с. При культивировании в полутора литрах питательной среды, расстояние от зеркала жидкости до мешалки всегда больше диаметра мешалки, а геометрические параметры лопастей мешалки соответствуют отношению 1 : 1/4 : 1/5. Результаты проведённых расчётов позволяют сделать вывод о том, что геометрические параметры мешалки, установленной в лабораторном биореакторе, соответствуют оптимальным.

При расчёте мощности на перемешивание аэрируемой жидкости, оптимальных значений данного показателя удалось достичь только при скорости перешивания 240 об/мин. Оптимизировать данный показатель было необходимо для максимизации эффективности перемешивания и снижения затрат на электроэнергию.

Заключение

Таким образом, были проведены расчёты, касающиеся двух ключевых показателей процесса культивирования продуцента холестеролоксидазы – подачи воздуха и перемешивания. Благодаря полученным результатам, мы имеем теоретическое обоснование оптимизации процесса ферментации, проводимого в лабораторном биореакторе Evio производства фирмы ООО «PharmTechnologies LLC». Рассчитанные параметры будут использованы в дальнейшем для проведения опытов, по результатам которых, можно будет сделать вывод о реальном влиянии внесённых изменений. В случае необходимости, рассчитанные параметры будут скорректированы.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00 Биотехнология

62.13.27 Оптимизация биотехнологических процессов

ЛИТЕРАТУРА

1. Tyrrell D.J., Goldstein D.R. Ageing and atherosclerosis: vascular intrinsic and extrinsic factors and potential role of IL-6 // Nature Reviews Cardiology Springer Science and Business Media LLC. 2020.Vol. 18(1). P. 58–68. doi: 10.1038/s41569-020-0431-7

2. Липиды в структуре и функционировании биологических мембран (Обзор)/ В.И. Кузнецов [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. 2014 Vol. 10(2). P. 262–266.

3. Kreit J., Sampson N.S. Cholesterol oxidase: physiological functions // FEBS Journal. 2009. Vol. 276(23). P. 6844–56. doi: 10.1111/j.1742-4658.2009.07378.x.

4. СавельеваП.Д. Колодязная В.А. Изучение условий культивирования нового продуцента фермента холестеролокс идазы // Инновации в здоровье нации: Сборник материалов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 07–08 ноября 2019 года. СПб: СПХФУ, 2019. С. 368-371.

5. Рыбакова А.И. Изучение процесса биосинтеза фермента холестеролоксидазы в условиях лабораторного биореактора нового поколения evio-lab, pharmtechnologies: сборник материалов XI Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». СПб: Изд-во СПХФУ, 2021. С. 370-374.

6. Mechanical Influences on Microorganisms during Cultivation / E.V. Guseva [et al.] // Biotechnology in Russia. 2007. N 5. P. 95-106.

SUMMARY

THE EXPERIMENT PLANNING FOR THE OPTIMAL CONDITIONS CHOOSING OF THE CHOLESTEROL OXIDASE BIOSYNTHESIS IN THE EVIO-LAB LABORATORY BIOREACTOR

Kovtun M.M., 4th year student

Academic adviser: **Kolodyaznaya V.A.**, Candidate of biological sciences, chairholder of biotechnology

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: maksim.kovtun@spcpu.ru

Atherosclerosis is an extremely common disease that can lead to serious consequences for human health. Early and rapid diagnosis is necessary to avoid sequela. One of the options for determining the level of cholesterol in human blood can be test systems with cholesterol oxidase obtained by microbiological synthesis. The paper considers one of the most important parameters of the cholesterol oxidase producer cultivation – aeration and agitation. The results of calculations carried out to optimize the fermentation process in the EVIO-LAB laboratory bioreactor are presented.

Keywords: *cholesterol oxidase, test systems, Streptomyces lavendulae, laboratory bioreactor, aeration, agitation.*

REFERENCES

1. Tyrrell D.J., Goldstein D.R. Ageing and atherosclerosis: vascular intrinsic and extrinsic factors and potential role of IL-6 // Nature Reviews Cardiology Springer Science and Business Media LLC. 2020.Vol. 18(1). P. 58–68. doi: 10.1038/s41569-020-0431-7

2. Lipids in the structure and functions of biological membranes (Review) / V.I. Kuznetsov [et al.] //Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2014. Vol. 10(2). P. 262–266 (in Russian)

3. Kreit J., Sampson N.S. Cholesterol oxidase: physiological functions // FEBS Journal. 2009. Vol. 276(23). P. 6844–56. doi: 10.1111/j.1742-4658.2009.07378.x.

4. Savelyeva P.D., Kolodyaznaya V.A. Studying the conditions for cultivating a new producer of the cholesterol oxidase enzyme // Innovations in the Health of the Nation: Collection of Materials of the VII All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation, St. Petersburg, 07– November 08, 2019. – St. Petersburg: SPKhFU, 2019. – P. 368-371. (in Russian)

5. Rybakova A.I. Study of the cholesterol oxidase enzyme biosynthesis in conditions of a new generation laboratory bioreactor evio-lab, pharmtechnologies. Collection of materials of the XI All-Russian scientific conference of students and graduate students with international participation «Young pharmacy – the potential of the future». Saint Petersburg: Publishing house of SPKhFU, 2021. P. 370-374. (in Russian)

6. Mechanical Influences on Microorganisms during Cultivation / E.V. Guseva [et al.] // Biotechnology in Russia. 2007. N 5. P. 95-106.

УДК 67.03

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ВЫДЕЛЕНИЯ ПАНКРЕАТИНА ИЗ ЖИВОТНОГО СЫРЬЯ

Крылова П.А., маг. 2 года обучения

Руководитель: **Глазова Н.В.**, канд. хим. наук, доц. кафедры биотехнологии

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтических университет

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А, Российская Федерация

E-mail: polina.krylova@spcpu.ru

Проведено исследование по выделению панкреатических ферментов (амилазы, протеазы и липазы) из животного сырья. В качестве источника животного сырья была использована поджелудочная железа крупного рогатого скота и северного оленя.

С целью получения ферментов была проведена их экстракция из поджелудочной железы. С помощью модифицированного метода Рухлядевой, метода Кунитца и метода Шибаби-Бишопа были определены амилолитическая, протеалитическая и липолитическая активность соответственно.

В ходе гель-хроматографического анализа экстрактов поджелудочной железы КРС и северного оленя с использованием сефадекса G75 были получены гель-хроматограммы, отражающие три пика, соответствующие молекулярным массам ферментов.

Ключевые слова: *панкреатин, поджелудочная железа, амилаза, липаза, протеаза, активность ферментов.*

Панкреатин – это пищеварительное ферментное средство, представляющее собой экстракт фермента поджелудочной железы. В его состав входят такие панкреатические ферменты как амилаза, липаза и протеаза. Панкреатин является

одним из самых востребованных медицинских препаратов и выпускается под разными торговыми наименованиями. Однако в России панкреатин не производится и поставляется в страну в основном из Германии и Китая.

Согласно литературным данным, основным сырьем для получения панкреатина служит поджелудочная железа свиней и КРС. Выделение гидролитических ферментов из данного сырья осуществляется путем автолиза водной суспензии ткани, содержащей изопропанол. Среди недостатков данного метода – использование большого количества органических растворителей для отделения воды. Выделенные при этом протеалитические ферменты находятся в форме зимогенов и требуют дополнительной технологической стадии активации.

На данный момент на кафедре биотехнологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета проводятся работы по получению субстанции панкреатина из поджелудочной железы северного оленя. Преимущества получения панкреатина из поджелудочной железы северного оленя состоит в использовании ионообменного метода без дополнительной стадии активации протеолитических ферментов, поскольку в поджелудочной железе северного оленя протеазы находятся в активной форме.

Целью данной работы является разработка технологии выделения панкреатина из поджелудочной железы КРС и северного оленя.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Провести гель-хроматографический анализ экстракта КРС с целью определения пиков амилазы, липазы и протеазы.
2. Оценить амилолитическую, липолитическая и протеалитическую активность ферментов в экстракте поджелудочной железы КРС.
3. Сравнить данные гель-хроматографии экстракта поджелудочной железы КРС и северного оленя.
4. Дать обоснование новой технологии выделения панкреатина из животного сырья.

Материалы и методы

В качестве сырья для получения экстракта поджелудочной железы были использованы поджелудочная железа КРС и северного оленя.

В основе технологии получения панкреатина из поджелудочной железы лежит процесс экстракции. В состав используемой экстракционной смеси входили: предварительно измельченная замороженная поджелудочная железа КРС, серная кислота 0,25 н, перлит и аммоний сернокислый. Навеску с экстрагентом перемешивали с помощью магнитной мешалки при 120 об/мин в течении 3 часов. Спустя 2 часа в смесь вносили навеску аммония сернокислого и перлита. Весь процесс осуществляли при температуре +5 °С с целью снижения активности ферментов. Полученный осадок удалялся, а осветленный экстракт подвергался фильтрации через несколько слоев марли [1].

Оценка амилолитической активности проводилось модифицированным методом Рухлядевой. Предварительно готовили 1 % раствор крахмала. После пробирку с 2 мл 1 % раствора крахмала помещали в водяной термостат и нагревали до 30 °С в течение 10 минут. Затем к раствору добавляли 1 мл предварительно разведенного экстракта. По истечении времени добавляли 10 мл 0,1 н раствора HCl для остановки реакции. Из каждой пробирки отбирали по 1 мл раствора, переносили в мерные колбы на 25 мл и доводили до метки рабочим раствором йода. На спектрофотометре при длине волны 670 нм проводили измерение оптической плотности исследуемых растворов.

Для определения протеалитической активности в экстракте был применен модифицированный метод Кунитца. Брали 2 мл 1% раствора казеина, помещали в термостат на 10 минут при 37 °С, затем добавляли 0,2 мл раствора предварительно разведенного экстракта и помещали в термостат на 10 минут при той же температуре для проведения реакции гидролиза. По истечении 10 минут добавляли 3 мл 5% трихлоруксусной кислоты (ТХУ) для остановки гидролиза. Пробирки вынимали из термостата, чтобы дать отстояться образовавшемуся осадку в течение 20 минут, затем отфильтровывали осадок и измеряли оптическую плотность надосадочной жидкости при длине волны 280 нм в кювете толщиной 10 мм. Параллельно готовили контроль с очищенной водой [2].

Анализ липолитической активности осуществлялся методом Шибаби-Бишопа.

Гель-хроматографический анализ проводился с использованием сефадекса G75.

Результаты и обсуждение

Результаты определения амилолитической активности методом Рухлядевой в экстракте КРС показали ее высокие значения.

Таблица 1 – Результаты определения амилолитической активности

Наименование раствора	Концентрация фермента, мг/мл	Оптическая плотность (D)	Амилолитическая активность, ЕД/мл
Экстракт	30	0,460	233,3
Контроль	-	0,6	-

Согласно полученным данным в ходе оценки протеолитической активности методом Кунитца, протеазы в экстракте КРС содержатся в следовых количествах, что подтверждает их нахождение в экстракте в форме зимогенов.

Таблица 2 – Результаты определения протеолитической активности исследуемых растворов

Наименование раствора	Оптическая плотность (D)	Протеолитическая активность, ЕД/мл
Экстракт	0,2233	0,192
Контроль	0,3	-

Анализ липазы осуществлялся качественно. Метод определения липолитической активности (Шибаби-Биншопа) требует модификации и доработки.

Методом гель-хроматографического анализа с использованием сефадекса G75 были получены пики, соответствующие молекулярным массам амилазы, липазы и протеазы.

В ходе гель-хроматографического анализа было отобрано двадцать фракций и построена выходная калибровочная кривая, по которой были определена молекулярные массы ферментов как обратный логарифм [3].

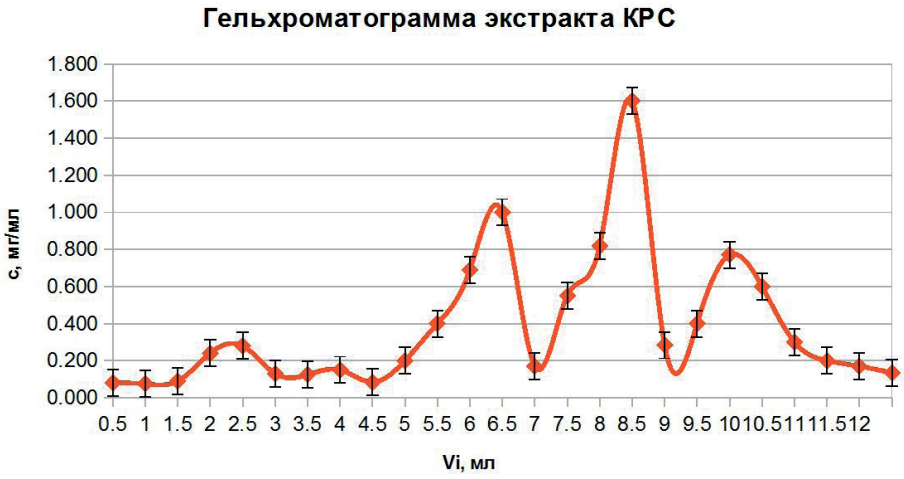


Рисунок 1. Выходная кривая (КРС)

Для пиков 2, 3, 4 были найдены соответствующие значения (Vi-Vсв)/Vk, и по калибровочной кривой были определенны молекулярные массы веществ, входящих в состав экстракта. Были получены следующие результаты: пик 2 – 54 кДа, пик 3 – 44 кДа, пик 4 – 24 кДа. Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что в полученном экстракте пик 2 соответствует амилазе, чья молекулярная масса находится в диапазоне от 16 до 76 кДа, пик 3 соответствует липазе, чья молекулярная масса составляет около 48 кДа, пик 4 соответствует протеазе, диапазон молекулярных масс которой от 24 до 30 кДа.

Ранее на кафедре был проведен гель-хроматографический анализ экстракта поджелудочной железы северного оленя, в ходе которого была получена выходная кривая и выявлены четыре пика.

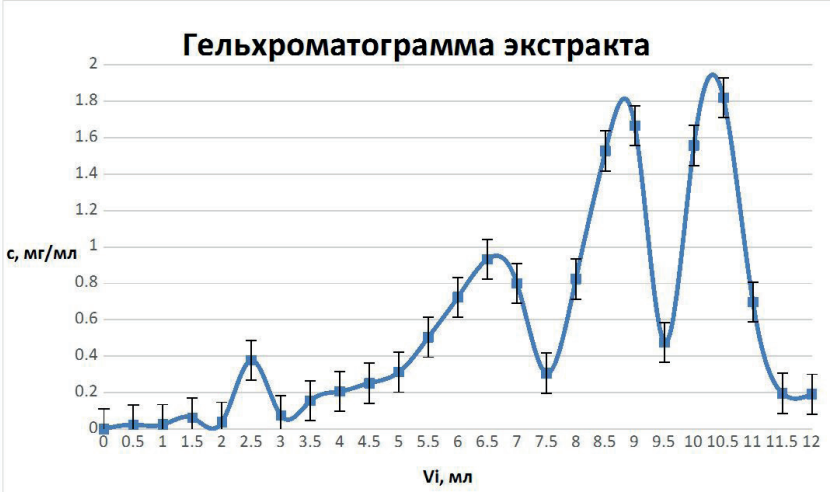


Рисунок 2. Выходная кривая (северный олень)

Были получены следующие результаты: пик 1 соответствует значению молекулярной массы 63 кДа и является высокомолекулярной примесью, пик 2 – 44 кДа, пик 3 – 35 кДа, пик 4 – 30 кДа. Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что в полученном экстракте присутствуют высокомолекулярные примеси, а также амилаза (2 пик), липаза (3 пик) и протеаза (4 пик). Это подтвердилось путём проверки пиков на соответствующую активность [4].

Таким образом, в поджелудочной железе северного оленя содержатся те же панкреатические гидролитические ферменты, что и в поджелудочной КРС. Однако существует ряд преимуществ получения панкреатина из поджелудочной

железы северного оленя. Выделенный из экстракта поджелудочной железы КРС протеазы находятся в виде зимогенов – неактивной формы ферментов. Это подразумевает необходимость дополнительной стадии активации зимогенов после прохождения нескольких стадий очистки. В отличие от протеаз поджелудочной железы КРС из поджелудочной железы северного оленя можно выделить комплекс активных протеаз сразу в экстракте. Таким образом, ферментный препарат из сырья северного оленя не требует активации и дополнительных стадий очистки. Сокращение количества технологических стадий снижает себестоимость полученного панкреатина.

В то же время нахождение ферментов в экстракте северного оленя сразу в активной форме является недостатком, поскольку ферменты требуют защиты от самоактивирующейся протеазы. На кафедре уже проводились исследования по использованию циклодекстринов – олигосахаридов, способных образовывать комплексы по типу «хозяин-гость», заключая молекулы действующего вещества в свою цилиндрическую структуру. Были подобраны оптимальные условия для сохранения активности амилазы и липазы и ингибирования протеазы: соотношение ферменты:циклодекстрины 1:2.

Таким образом, дальнейшие исследования требуют выбора метода очистки панкреатических ферментов экстракта КРС с последующей активацией протеазы. В качестве методов можно применить высаливание при pH вблизи изоэлектрической точки или дробную элюцию при pH выше изоэлектрической точки. После очистки необходимо произвести активация протеолитических ферментов при комнатной температуре и нейтральном pH.

Заключение

1. Проведен сравнительный анализ гель-хроматограмм экстракта поджелудочной железы КРС и экстракт поджелудочной железы СО.

2. Выявлено, что в поджелудочной железе КРС содержатся те же гидролитические ферменты, что и в поджелудочной железе СО. Протеаза в экстракте КРС присутствует в следовых концентрациях в форме зимогенов.

3. Произведена оценка амилолитической, протеолитической и липолитической активности ферментов в экстракте КРС. Выявлены высокая амилолитическая и сниженная протеолитическая активность, что подтверждает нахождения протеолитических ферментов в форме зимогенов.

4. Дано обоснование к разработке новой технологии выделения панкреатина из животного сырья. Выбраны перспективные методы очистки и условия активации ферментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стучаева А.А. Разработка сорбционно-хроматографического метода выделения и модификации комплекса протеаз из животного сырья // Выпускная квалификационная работа. 2020. С. 91.

2. Рухлядева А.П., Полыгина Т.В. Методы определения активности гидролитических ферментов. Л.: Наука. 1969. С. 333.

3. Стучаева А.А., Глазова Н.В. Выделение и очистка протеаз из животного сырья // Сборник материалов VIII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая Фармация – потенциал будущего». СПб.: СПХФУ. 2018. С. 311-314

4. Курочкина А.С. Выделение и очистка комплекса гидролитических ферментов из поджелудочной железы северного оленя // Выпускная квалификацикационная работа. – 2019. – С. 153.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY FOR PANCREATIN EXCRECTION FROM ANIMAL RAW MATERIALS

Krylova P.A., mag. 2 years of study
Supervisor: **Glazova N.V.**, Ph.D in chemical sciences, candidate of department of biotechnology
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197022, St. Petersburg, st. Professor Popov, 14, lit. A, Russian Federation
E-mail: polina.krylova@spcpu.ru

A study was carried out on the excreaction of pancreatic enzymes (amylase, protease and lipase) from animal raw materials.

The pancreas of cattle was used as a source of animal raw materials. Enzymes were extracted from the pancreas of the cattle. The Lowry method was used to estimate the total protein concentration in the obtained extract. Amylolytic and proteolytic activity was estimated using the modified method of Rukhlyadeva and method of Kunitz, respectively.

In the course of gel chromatographic analysis using Sephadex G75, two peaks corresponding to the molecular weights of enzymes were obtained, and amylolytic and proteolytic activity was determined in samples of fractions corresponding to the obtained peaks. The obtained peaks showed correspondence to the molecular weight ranges of amylase and protease.

Keywords: *pancreatin, pancreas, amylase, lipase, protease, enzyme activity.*

REFERENCES

1. Stuchaeva A.A. Development of a sorption-chromatographic method for the isolation and modification of a complex of proteases from animal raw materials // Graduation qualification work. 2020. p. 91. (in Russian)

2. Rukhlyadeva A.P., Polygina T.V. Methods for determining the activity of hydrolytic enzymes. – L .: Nauka, 1969. 333 p. (in Russian)

3. Stuchaeva, A.A., Glazova N.V. Isolation and purification of proteases from animal raw materials // Collection of materials of the VIII All-Russian scientific conference of students and graduate students with international participation «Young Pharmacy – the potential of the future». – St. Petersburg: SPCPU. 2018. P. 311-314. (in Russian)

4. Kurochkina A.S. Isolation and purification of a complex of hydrolytic enzymes from the pancreas of a reindeer // Graduation qualification work. 2019. P. 153. (in Russian)

УДК 578.7

СРАВНЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИН ОТ КОРОНАВИРУСА

Латыпов А.А., Лыков Д.Р., Рычагов А., студ. 2 года обучения
Руководитель: **Богданова О.Ю.**, канд. биол. наук, доц. кафедры микробиологии (ResearcherID (IRID): 350661810)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ajdar.latypov@spcpu.ru

11 марта 2020 года коронавирусная болезнь 2019 была объявлена пандемией, о которой сообщили в 216 странах, областях или территориях [1]. В то время как эпидемия в Китае замедлилась из-за строгих карантинных и профилактических правил, количество пациентов, заболевших COVID-19 в мире, достигло 442 млн человек по состоянию на 03 марта 2022 года, число подтвержденных от COVID-19 смертей составило 6004 тыс. случаев. В настоящее время по данным МЗ РФ в активной стадии заболевания состоит 16 775 тыс. человек, число это ежедневно растет [2].

В связи с особой вирулентностью коронавируса и высокой летальностью обусловленных этим агентом случаев пневмонии, исследования по усовершенствованию методов и путей профилактики распространения, а также актуализация и систематизация знаний о мерах специфической профилактики от COVID-19, являются крайне актуальными. В работе проведён опрос населения и проведено сравнение заявленной эффективности и безопасности вакцин против новой коронавирусной инфекции.

Ключевые слова: *COVID-19, вакцина, безопасность, побочные эффекты, опрос, эффективность.*

В начале 2020 весь мир охватила пандемия новой коронавирусной инфекции SARS-CoV 2. Первые вакцины были запатентованы уже в августе 2020 года. В связи с такой быстротой появления вакцин многие люди могут усомниться в их безопасном и эффективном применении.

Целью данной работы является сравнение заявленных показателей эффективности и безопасности вакцин с данными, полученными в ходе опроса населения.

Задачами данной работы являлись:

1. Поиск соответствующих работ в различных базах данных;
2. Обработка информации, полученной из найденных исследовательских работ;
3. Составление и проведение опроса среди различных возрастных и социальных групп;
4. Сравнение результатов опроса с данными исследовательских работ.
5. Исходные данные о заявленных эффективности и безопасности вакцин были получены в ходе анализа результатов клинических исследований. В качестве методов исследования были использованы контент-анализ, анкетирование, сравнительный анализ.

Специфическая профилактика против COVID-19 разрабатывается учеными всего мира, в том числе и ведущими научными центрами нашей страны. Все эти вакцины предназначены для того, чтобы научить иммунную систему организма безопасно распознавать и блокировать вирус, вызывающий COVID-19. Несколько различных типов потенциальных вакцин против COVID-19 находятся в стадии разработки. На сегодня в нашей стране зарегистрировано пять вакцин, которые разработаны различными отечественными производителями, в том числе:

Инактивированные или ослабленные вирусные вакцины, в которых используется форма вируса, которая была инактивирована или ослаблена, поэтому она не вызывает заболевания, но все же вызывает иммунный ответ. Вирус для производства российской вакцины «КовиВак» был выделен у больного, который проходил лечение в ГКБ №40 (Коммунарка). Выделенный вирус затем культивировали (размножили) на клеточных культурах и убили химическим реагентом – бета-пропиолактоном. Преимущество инактивированных вакцин перед живыми заключается в отсутствии риска инфицирования. Убитые вирусы не могут мутировать, соответственно – в них нет потенциальной опасности.

CoronaVac – инактивированная вакцина китайской биофармацевтической компании Sinovac Biotech, показывающая спорные результаты эффективности. По разным исследованиям, ее эффективность составляет от 50 до 91%, что в среднем существенно ниже, чем у европейских и российских аналогов. Применяется только на территории Китая. Еще 9 стран (Азербайджан, Боливия, Бразилия, Индонезия, Колумбия, Лаос, Турция, Чили, Уругвай) разрешили CoronaVac для экстренного применения.

Вакцины на основе белков, в которых используются безвредные фрагменты белков или белковые оболочки, имитирующие вирус COVID-19, для безопасного создания иммунного ответа. Российская «ЭпиВакКорона» представляет собой химически синтезированные пептидные компоненты S-белка коронавируса. Преимущество белковых вакцин в том, что их можно быстро протестировать. Они считаются более безопасными, по сравнению с остальными прививками.

Проблема белковых вакцин в сложности наработки пептидов. Кроме того, такие препараты не отличаются высокой эффективностью. Скорее всего, иммунитет от пептидных вакцин будет нестойким и пациенту потребуется ревакцинация.

Вакцины с вирусным вектором, в которых используется безопасный вирус, который не может вызывать заболевание, но служит платформой для производства белков коронавируса для создания иммунного ответа. К этому виду относится двухкомпонентная генно-инженерная вакцина Спутник V, которая работает на основе аденовирусного вектора – инактивированной вирусной частицы человека, несущей 2 гена белка шипов коронавируса (как правило, S-белок); первая вакцина содержит – белок 26 серотипа вируса, вторая – белок 5 серотипа вируса) и ее аналог однокомпонентная вакцина «Спутник Лайт». AstraZeneca – векторная вакцина британско-шведского производства. В ее основе – аденовирус шимпанзе, переносящий ген S-белка коронавируса. По мнению ученых, тот факт, что при разработке вакцины использован аденовирус шимпанзе, а не человека, должен снизить риск аллергических реакций и выраженных побочных действий. Однако недостатком этого препарата, как и всех других векторных вакцин, можно назвать то, что сама технология новая, ранее не использовавшаяся в здравоохранении. Один из плюсов для производителей векторных препаратов – их скорость создания.

РНК и ДНК-вакцины - передовой подход, использующий генно-инженерные РНК или ДНК для создания белка, который сам безопасно вызывает иммунный ответ. К этому виду относят вакцину, разработанную американской компанией Pfizer и ее немецким партнером BioNTech, которая была зарегистрирована в Евросоюзе первой. Эффективность разработки от Pfizer, подтвержденная последним исследованием, основанным на массовой вакцинации в Израиле, составила 94%. В ее основе – матричная РНК, кодирующая ген поверхностного, так называемого – спайкового S-белка коронавируса.

Moderna – вакцина американского производства. По своему составу очень похожа на препарат от Pfizer. Принцип действия тот же, что у BioNTech/Pfizer: препарат на основе матричной РНК (мРНК). Эффективность вакцины тоже оценивается в 94%, согласно предварительным данным клинического исследования фазы III [3].

Материалы и методы

Объектом исследования стали отечественные вакцины от коронавируса. В качестве методов исследования были использованы контент-анализ, сравнительный анализ, анкетирование. В результате анкетирования населения по вопросам вакцинации были получены данные о типах поставленных вакцин, о побочных эффектах данных вакцин, о возможных заражениях и путях течения болезни после вакцинации. Всего в анкетировании приняли участие 152 человека. Из них 143 человека были привиты вакциной Гам-КОВИД-Вак, 7 человек – «ЭпиВакКороной» и по 1 человеку вакциной «Спутник Лайт» и вакциной от «Moderna».

Результаты и обсуждение

В результате обработки информации были получены данные о следующих вакцинах: Спутник V (Гам-КОВИД-Вак), «ЭпиВакКорона».

Вакцина Спутник V показала 91,6% эффективность, в 94% негативные последствия были в лёгкой форме. Однако в группе вакцины были две смерти, что исследователи оправдывают возможным заражением до начала исследования. [1]

По заверениям разработчиков, вакцина «ЭпиВакКорона» показывает эффективность 91-95% и лёгкую переносимость. Однако ряд исследователей (группа «Граис») ставит под сомнение саму эффективность вакцины, называя её «пустышкой», что и было доказано в проведённом ими исследовании, в результате которого были заболевшие COVID-19, в том числе в тяжёлой форме с поражением лёгких [2; 3].

Из респондентов, получивших вакцину Гам-КОВИД-Вак, 25,17% опрошенных болели в лёгкой форме, а 6,3% – перенесли болезнь в тяжёлой форме. Из людей, вакцинированных «ЭпиВакКороной», болезнь в лёгкой форме перенесли 2 человека.

Наиболее распространёнными побочными эффектами у данных вакцин были боль в месте введения (70%), озноб (52%), головная боль (44%), лихорадка (35%), припухлость и покраснение в месте введения (20%). Также вакцинированные Гам-КОВИД-Ваком отмечали боль в костях, аллергическая реакция, незначительное онемение конечности, боль в мышцах и тошнота после введения.

Заключение

Согласно полученным данным, можно сделать вывод, что данные вакцины соответствуют заявленным параметрам эффективности и безопасности. Отмечено, что наиболее популярной вакциной среди населения является вакцина «Спутник».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

34.25.37: Вирусные препараты

ЛИТЕРАТУРА

1. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia / D.Y. Logunov [et al.] // Lancet. 2021 Vol. 397(10275) P. 671–681.
2. Криницкий А.А. Исследование иммуногенности и потенциальной протективности вакцины «ЭпиВакКорона». [БФ1]: препринт статьи. 2021. https://doi.org/10.21055/preprints-3111948
3. A single-blind placebo-controlled randomized study of the safety, reactogenicity and immunogenicity of the EpiVacCorona vaccine for the prevention of COVID-19 in volunteers aged 18-60 years (phase I-II) / A.B.Ryzhikov [et al.] // Russian Journal of Infection and Immunity = Infection and Immunity. 2021. Vol. 11(2). P. 283-296. doi: 10.15789/2220-7619-ASB-1699.

SUMMARY

COMPARISON OF SAFETY AND EFFICACY OF CORONAVIRUS VACCINES

Latypov A.A., Lykov D.R., Rychagov A., the 2nd year students
Head: **Bogdanova O.Yu.,** PhD. biol. sciences, assoc. (ResearcherID (IRID): 350661810)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: ajdar.latypov@spcpu.ru

On March 11, 2020, coronavirus disease 2019 was declared a pandemic, which was reported in 216 countries, regions or territories [1]. While the epidemic in China has slowed down due to strict quarantine and preventive rules, the number of patients with COVID-19 in the world has reached 442 million people as of March 03, 2022, the number of confirmed deaths from COVID-19 amounted to 6004 thousand cases. Currently, according to the Ministry of Health of the Russian Federation, 16,775 thousand people are in the active stage of the disease, this number is growing daily [2].

Due to the special virulence of the coronavirus and the high lethality of cases of pneumonia caused by this agent, research on improving methods and ways to prevent the spread, as well as updating and systematizing knowledge about specific prevention measures from COVID-19, are extremely relevant. The study conducted a survey of the population and compared the declared effectiveness and safety of vaccines against a new coronavirus infection.

Keywords: *COVID-19, vaccine, safety, side effects, survey, effectiveness.*

REFERENCES

1. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia / D.Y. Logunov [et al.] // Lancet. 2021 Vol. 397(10275) P. 671–681.
2. Krinitsky A. A. Investigation of the immunogenicity and potential protectivity of the EpiVacCorona vaccine. : preprints. 2021. https://doi.org/10.21055/preprints-3111948 (in Russian)
3. A single-blind placebo-controlled randomized study of the safety, reactogenicity and immunogenicity of the EpiVacCorona vaccine for the prevention of COVID-19 in volunteers aged 18-60 years (phase I-II) / A.B.Ryzhikov [et al.] // Russian Journal of Infection and Immunity = Infection and Immunity. 2021. Vol. 11(2). P. 283-296. doi: 10.15789/2220-7619-ASB-1699.

ИССЛЕДОВАНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ И ВЫЯВЛЕНИЕ БИОСИНТЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА НОВЫХ ШТАММОВ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Максимова В.Ю., Чернышенко В.С., студ. 3 курса
Руководители: **Ананьева Е.П.**, к. б. н., доц., зав. кафедрой микробиологии, **Гурина С.В**., к. б. н., доц., **Псурцева Н.В.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией биохимии грибов БИН РАН
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация;
БИН РАН
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2, Российская Федерация
E-mail: Varvara.Maksimova@spcpu.ru

Были исследованы морфологические и физиологические свойства 40 штаммов агарикоидных и афиллофороидных грибов, класса Агарикомицетов (*Agaricomycetes*), отдела Базидиомикота (*Basidiomycota*), собранных и выделенных в чистую культуру на территории Приморского края в 2021 г. Проведена сравнительная оценка скорости роста вегетативного мицелия, а также активности окислительных, целлюлолитических и протеолитических ферментов исследуемых штаммов. Для подтверждения видовой принадлежности, а также идентификации культур был проведен ПЦР-анализ, с последующим сопоставлением результатов с банком данных Национального центра биотехнологической информации (NCBI). На основании полученных результатов были выбраны штаммы базидиомицетов, которые имеют наиболее выраженный

ростовой и биосинтетический потенциал для дальнейшего их исследования и использования в качестве продуцентов биологически активных веществ.

Ключевые слова: *агарикоидные, афиллофороидные, базидиомицеты, биосинтетическая активность, ферменты, ПЦР, лакказа.*

Согласно последним данным, количество грибов с изученными фармакологическими свойствами не превышает 5% от общего количества известных для науки видов. Тем не менее, доказано, что многие виды базидиальных грибов обладают лекарственными свойствами и представляют собой источники фармакологически активных веществ широкого спектра действия [1]. Целью данной работы является изучение ростового и биосинтетического потенциала новых штаммов базидиомицетов, отбор штаммов-продуцентов ценных биологически активных веществ, в частности, ферментов и полисахаридов с возможным противоопухолевым и иммуномодулирующим действием, перспективных для биотехнологических разработок.

Задачами данного исследования являлись:

1. Выявление морфолого-физиологических свойств 40 штаммов при культивировании на агаризованной среде, в том числе, изучение их роста и ферментативных активностей.

2. Верификация исследуемых штаммов с использованием культуральных и молекулярных методов, в том числе, ПЦР анализа для идентификации и подтверждения видовой принадлежности некоторых штаммов.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись штаммы различных видов базидиомицетов, включающих агарикоидные, афиллофороидные и гетеробазидиальные грибы, а также ряд сумчатых макромицетов. Образцы были собраны и выделены в культуру в 2021 году в Приморском крае на территории Уссурийского государственного природного заповедника им. В. Л. Комарова ДВО РАН и окрестных территорий. В работе представлены полевые номера культур, наименования таксонов даны согласно предварительной идентификации.

Штаммы выращивали в чашках Петри на среде сусло (4%) – агар (2%) при 25°С в течение 14 дней (для быстрорастущих) или до полного зарастания поверхности субстрата мицелием. Выращивание проводили в двух повторностях. В процессе роста культур замеряли линейную скорость роста (мм\сут), описывали макро- и микроморфологические признаки колоний, включая внешнюю линию, характеристику мицелиального мата, цвет, запах, обратную сторону колоний и фотодокументацию. Микроморфологические признаки вегетативного мицелия изучали в проходящем свете с использованием микроскопа Axio Scope A1 (Zeiss), характеризуя гифальную структуру, размер гиф, характер их ветвления, наличие пряжек, анастомозов, гифальных колец, структур бесполого размножения, кристаллов и других особенностей [2].

На основании макро- и микроморфологической характеристики была проведена первичная верификация исследованных штаммов. По морфологическим признакам пять штаммов были признаны контаминированными и удалены из дальнейшего эксперимента. Культуры, соответствовавшие по морфопризнакам своим видовым названиями, согласно имеющимися литературным данным [3], были пересеяны на коллекционные пробирки с сусло-агаром, а также микропробирки с дистиллированной водой и криопробирки с 10% глицерином и подготовлены для введения в фонд Коллекции культур базидиомицетов БИН РАН.

Результаты и обсуждение

Результаты изучения линейной скорости роста показали значительную вариабельность ростовой активности штаммов. На рисунке 1 представлена средняя скорость роста ряда исследованных штаммов.

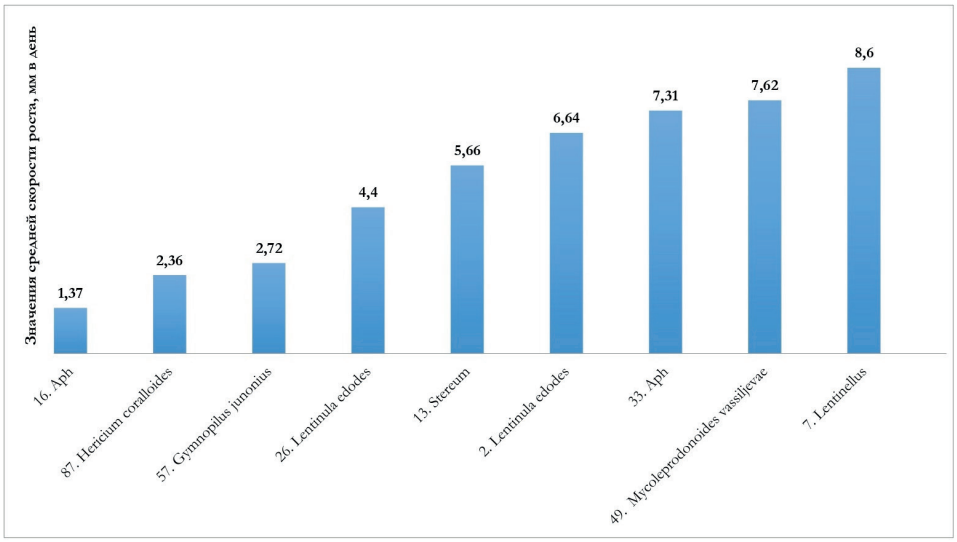


Рисунок 1. Значения средней скорости роста ряда исследуемых штаммов

Среди агарикоидных грибов наиболее высокая скорость роста была отмечена у штамма 7 (*Lentinellus* sp.) – 8,6 мм/сут.

Однако такая скорость роста не характерна для грибов данного рода, поэтому необходимо проведение ПЦР-теста для уточнения видовой принадлежности этого штамма [4]. Из трех исследованых штаммов *Lentinula edodes* (шиитаке), один штамм выделялся более высокой скоростью роста, по сравнению с двумя другими штаммами. Соответственно, из трех рассмотренных образцов для дальнейших исследований будет предпочтителен быстрорастущий, в случае подтверждения его аутентичности методом ПЦР-анализа.

Высокие показатели скорости роста наблюдались у штаммов афиллофороидных грибов 13 (*Stereum sp.*) и 3 (*Hymenochaete sp.*). Для этих штаммов также будет проведено уточнение их видовых названий.

Таким образом, результаты изучения ростовой активности штаммов показали, что, в целом, рост афиллофороидных грибов несколько выше, чем агарикоидных, что соответсвует данным литературы [2].

Для определения ферментативных активностей использовали качественные методы. Протеолитическую активность (на примере желатиназной активности) определяли в чашках Петри диаметром 90 мм методом аппликации мицелиальных дисков, вырезанных с использованием дырокола из краевой зоны 14-дневной колонии (3 повторности), на поверхность субстрата из застывшего водного раствора 4% желатина. Чашки инкубировали в термостате при 24-25°С в течение 24 или 48 часов, после чего замеряли зоны лизиса вокруг инокулюма, которые свидетельствовали о расщеплении желатина протеолитическими ферментами. На основании размеров данных областей были сделаны выводы об активности протеолитических ферментов тех или иных штаммов.

Результаты данного исследования показали, что наиболее ярко выраженной протеолитической активностью обладали следующие штаммы: 41 *Flammulina rossica* (диаметр гидролизованной области в среднем 26 мм), 3 *Hymenochaete* sp. (диаметр гидролизованной области в среднем 24,5 мм) и 4 *Mycorrhaphium adustum* (диаметр гидролизованной области в среднем 24,5 мм).

Изучение целлюлолитической активности проводили также методом аппликации 14-дневных мицелиальных дисков (в 3 повторностях) на чашки Петри. В качестве субстрата использовали простерилизованный водный раствор, содержащий 1% микрокристаллическую целлюлозу и 1% агар, с последующей инкубацией чашек в термостате при 25°С в течение 48 часов. Активность выявляли измерением зон лизиса вокруг дисков после их проявления с помощью раствора Люголя (0,5% раствор I_2 в 2% растворе *KI*). В результате, наибольшей способностью к расщеплению целлюлозы обладали следующие штаммы: 29 *Coprinopsis atramentaria* (диаметр зоны в среднем 31 мм), 7 *Lentinellus* (диаметр зоны в среднем 29,5 мм), 3 *Hymenochaete sp.* (димаетр зоны в среднем 29,3 мм). На рисунке 2 представлен пример изучения активности целлюлолитических ферментов у штамма 3 *Hymenochaete* sp.

Рисунок 2. Результат определения целлюлолитической активности на примере гриба *Hymenochaete sp.*

Одной из характерных особенностей базидиальных грибов является продукция окислительных ферментов, и в частности, лакказ, катализирующих окисление фенольных субстратов с сопутствующим восстановлением молекулярного кислорода до воды. В грибах лакказа является частью комплекса делигнификации (разрушения лигнина) и патогенеза, участвует в процессах морфогенеза, защиты от стресса, образовании плодовых тел. Наиболее распространенными и изученными продуцентами лакказ являются грибы базидиомицеты, вызывающие белую гниль. Они отличаются высоким уровнем экспрессии лакказ. [3]

Для определения лакказной активности экспресс-методом в качестве субстратов использовали 0,1% спиртовой раствор сирингалдазина и 1% водный раствор гваякола. В лунки планшета диаметром 1 см вносили блоки двухнедельного мицелия и заливали соответствующими реагентами. Величину активности оценивали визуально по изменению окраски мицелия и питательной среды через 5 минут, 1 час и 3 часа после добавления реактивов. Выявлено, что наиболее выраженной лакказной активностью обладали штаммы 29 (*Coprinopsis atramentaria*), 39 (*Ossicaulis lignecolia*), 4 (*Mycorrhapium adustum*), 11 (*Aph (Corticioid*)).

На основании проделанных экспериментов были выбраны штаммы с высокой скоростью роста и с высоким уровнем ферментативной активностью для последующего изучения.

Для подтверждения видовой принадлежности исследуемых штаммов проводили анализ, основанный на использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР-анализ). При пробоподготовке использовали набор реагентов производителя Thermo Scientific (Phire Plant Direct PCR kit. Использовали стандартную для базидиомицетов пару грибных праймеров 1F и 4B, позволяющую амплифицировать участок ДНК ITS1-5,8S-ITS2, характерный для определения видовой специфичности: он включает в себя спейсер ITS1, высококонсервативный участок – 5,8S рибосомальный ген и спейсер

ITS2. Далее ставили пробы в амплификатор BIO RAD C1000 Touch Thermal Cycler, программа для прямого проведения ПЦР (25 циклов).

Для проверки успешного проведения первого этапа подтверждали наработку ПЦР-продукта с помощью электрофореза в агарозном геле. Электрофорез проводили 30 минут при напряжении 100 вольт. Результаты визуализировали под ультрафиолетом в аппарате BIO RAD Gel Doc. Четко выраженные на рисунке 2 полосы ДНК означают, что первый этап ПЦР-анализа прошел успешно, то есть произошло накопление последовательности ДНК. Полосы примерно одинаковы, следовательно, прошла амплификация определенного участка ДНК (ITS1, 5.8S, ITS2), характерного для всех базидиальных грибов, однако гетерогенного для различных видов. Из 17 используемых проб, только одна проба штамма 42 (*Auricularia sp.*) не показала никакого результата (номер 654 на рисунке 3). Это означает, что ПЦР не прошла. Предположительно, это связано с тем, что *Auricularia sp.* является гетеробазидиомицетом и используемые в ходе эксперимента праймеры не подходят для него.

Рисунок 3. Результат электрофореза продуктов ПЦР-анализа в агарозном геле

Следующим этапом провели чистку проб от бракованных последовательностей ДНК и белкового материала с использованием набора DyeTerminator Removal Kit.

Следующие этапы пробоподготовки – секвенсовая реакция с применением набора Brilliant Dye Terminator с одним праймером (1F) для получения одноцепочечных фрагментов ДНК. Очистку секвенсового продукта проводили на магнитах D-Pure. Секвенирование проб проводили в Центре коллективного пользования БИН РАН. Полученные последовательности нуклеотидов анализировали с помощью программы MEGA X и MEGA XI. По каждой последовательности провели сравнительный анализ с последовательностями, депонированными в международном генетическом банке NCBI (Национальный центр биотехнологической информации).

В результате ПЦР-анализа подтвердили видовую принадлежность таких штаммов, как *Lentinula edodes, Pleurotus citrinopileatus, Gymnopilus junonius, Sparassis latifolia* и некоторых других. Также были обнаружены штаммы грибов, которые не соответствуют своим предполагаемым видовым названиям. При сравнении с банком данных NCBI полученного сиквенса образца 35 (*Picipes baduis*), нуклеотидная последовательность которого на 99% совпадала с грибом вида *Hymenochaete xerantica*, сделали вывод, что образец мог быть заражен еще на стадии сбора или его выделения в культуру. Из-за расхождения предполагаемой видовой принадлежности на основании морфолого-физиологических свойств и результа ПЦР-анализа данный штамм был изъят из дальнейших исследований. Также часть сиквенсов оказалась неудовлетворительного качества, поэтому в дальнейшей работе будет проведена повторная секвенсовая реакция с другим праймером для более высокой точности результатов.

Заключение

Таким образом, в результате работы выявлены наиболее перспективные штаммы для будущих биотехнологических разработок. Для дальнейшего исследования биосинтетического потенциала штаммов базидиальных грибов *Mycoleptodonoides vassiljevae, Lentinula edodes., Mycorrhapium adustum, Lampteromyces japonicus* и некоторых других будут применены технологии глубинного культивирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антиоксидантные свойства водорастворимых полисахаридов и этанольных экстрактов мицелия ксилотрофных базидиальных грибов / Н.Р. Альмяшева [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. 2017. Т. 62. С. 7-8.

2. Бисько Н.А. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре / Н.А.Бисько [и др.] ; под общ. ред. И.А.Дудки. Киев: Наукова думка, 1983. 312 с.

3. Stalpers J.A. Identification of wood-inhabiting fungi in pure culture // Studies in Mycology. 1978. N 16. P. 1–248.

4. Исследование влияния индукторов на синтез лакказ мицелиальными грибами / Л. Х. Халимова [и др.] //Бакширский химический журнал. 2010. Т. 17 N 5. С. 46-49.

5. Сравнительная оценка некоторых базидиомицетов в поверхностной и глубинной культуре / Д.В. Минаков [и др.]

// Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. Т. 6 N 4. С. 46-52.

SUMMARY

STUDYING OF CULTURAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND DETECTION OF THE BIOSYNTHETIC POTENTIAL OF NEW BASIDIAL FUNGI STRAINS

Maksimova V.Y., **Chernyshenko V.S.**, 3rd year undergraduate students
Academic advise: **Ananeva E.P.**, Candidate of Biological Sciences, senior lecturer, chairholder of microbiology
Gurina S.V., Candidate of Biological Sciences, senior lecturer
Psyrtseva N.V., Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher,
The Head of the Laboratory of Fungal Biochemistry BIN RAS
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: Varvara.Maksimova@spcpu.ru

Morphological and physiological properties of 40 strains of Agaricoid and Aphyllophoroid fungi, Agaricomycetes class, Basidiomycota division, collected and isolated into pure culture on the area of Primorsky Krai in 2021 were studied. A comparative assessment of the growth rate of vegetative mycelium, as well as the activity of oxidative, cellulolytic and proteolytic enzymes of the studied strains was carried out. To confirm the species identity, as well as the identification of cultures, a PCR analysis was performed, followed by a comparison of the results with the data bank of the National Center for Biotechnological Information (NCBI). Based on the results obtained, basidiomycete strains were selected that have the most pronounced growth and biosynthetic potential for their further research and use as producers of biologically active substances.

Keywords: *agaricoid, aphyllophoroid, basidiomycetes, biosynthetic activity, enzymes, PCR, laccase.*

REFERENCES

1. Antioxidant Properties of Water-Soluble Polysaccharides and Ethanolic Extracts of Xylotrophic Basidiomycetes Mycelium. / Almyasheva N.R. [et al.] // Antibiotics and Chemotherapy. 2017. Vol. 62(7/8) P. 8-12. (In Russian)
2. Bisko N.A. Higher edible basidiomycetes in surface and deep culture / N.A. Bisko [et al.] ; under total ed. I.A. Dudki. Kyiv: Naukova Dumka, 1983. 312 p. (In Russian)
3. Stalpers J.A. Identification of wood-inhabiting fungi in pure culture // Studies in Mycology. 1978. N 16. P. 1–248.
4., The search of inductors' influence on the synthesis of laccases by mycelial fungi / Khalimova L.Kh. [et al.] // Buckshire Chemical Journal. 2010. Vol. 17(5). P. 46-49. (In Russian)
5. Comparative evaluation of certain basidiomycetes in surface and submerged culture / D.V. Minakov [et al.] // Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya. 2016. Vol. 6(4). P. 46-52. (In Russian)

УДК 60:615.3

РЕГУЛИРУЕМАЯ ФЕРМЕНТАЦИЯ ПРОДУЦЕНТА ФЕРМЕНТА ХОЛИСТЕРОЛОКСИДАЗЫ В УСЛОВИЯХ БИОРЕАКТОРА EVIO-LAB

Микрюкова А.И., студ. 4 курса ФПТЛ
Руководитель: **Колодязная В.А.,** канд. биол. наук, доцент, зав. кафедры биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: aleksandra.mikryukova@spcpu.ru

Холестеролоксидаза – фермент, который является ключевой частью систем для диагностического определения содержания холестерина в крови. Проведены опыты по получению холестеролоксидазы путем бактериального синтеза с использованием лабораторного биореактора компании *Pharmtechnologies* с заменой периодической ферментации на регулируемую. Такой способ проведения процесса позволяет подобрать наиболее оптимальные условия для увеличения выхода целевого продукта – фермента холестеролоксидазы.

Ключевые слова: *холестеролоксидаза, регулируемая ферментация, биореактор EVIO-LAB, Streptomyces lavendulae.*

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) занимают первое место среди причин смертности населения во всём мире. Эта группа заболеваний имеет разнообразные факторы риска, к которым относится, например, возраст, образ жизни, диета, хронические заболевания, семейная предрасположенность. В частности, причиной развития ССЗ может стать атеросклероз – изменения внутренней оболочки магистральных артерий, вызванные отложением холестерина и липопротеинов в виде бляшек вследствие нарушения липидного и белкового обмена. Это приводит к уменьшению просвета сосудов до полной закупорки. Важной мерой предотвращения атеросклероза является контроль содержания холестери-

на в крови и ранняя диагностика, которая проводится с помощью фермента холестеролоксидазы.

Фермент холестеролоксидаза получают только микробным синтезом. Кафедра биотехнологии СПХФУ предлагает разработанную технологию получения холестеролоксидазы, культивированием штамма микроорганизма-продуцента *Streptomyces lavendulae* и в колбах Эрланмейера на качающейся платформе и в условиях лабораторного биореактора *EVIO-LAB* фирмы *Pharmtechnologies*.

Целью исследования является проведение работ по оптимизации условий для роста продуцента и получения наибольшего выхода фермента в условиях регулируемой ферментации в биореакторе *EVIO-LAB*. В России применяют и используют фермент холестеролоксидазу в диагностических тест-системах для определения содержания холестерина в крови человека экспресс-методом [1]. Совершенствование существующего способа получения фермента в лабораторных условиях позволит предложить данный штамм *Streptomyces lavendulae* для промышленного получения фермента. Для решения этой проблемы необходимо осуществить ряд исследований, которые позволят повысить продуктивность и выход целевого продукта для обеспечения эффективной работы биотехнологического производства. В первую очередь, повысить экономические показатели можно посредством применения более перспективных методов ферментации [2].

Для достижения цели исследования были поставлены следующие задачи: исследовать возможность получения холестеролоксидазы без предварительного выращивания посевного материала в колбах, а получать вегетативный посевной материал непосредственно в том же биореакторе, где и осуществляется сам процесс ферментации; подобрать наиболее оптимальные условия для накопления максимально возможного количества фермента при отсутствии отдельной стадии выращивания посевного.

Главный процесс биотехнологического производства – биосинтез в ферментере можно охарактеризовать с использованием различных критериев. По характеру культивирования продуцента процесс биосинтеза подразделяется на поверхностную и глубинную ферментации [3]. Второй способ является более перспективным, и заключается в том, что микроорганизм развивается в толще жидкой питательной среды, через которую непрерывно пропускается стерильный воздух, и среда перемешивается [4]. Чаще глубинный способ ферментации классифицируется по принципу организации материальных потоков [5]. По существу, есть два основных способа глубинного культивирования микроорганизмов: периодическое и непрерывное. Остальные способы занимают промежуточное положение (в общем случае их можно назвать регулируемыми или полупериодическими), например:

- полупериодическое культивирование (с доливами питательной среды);
- полунепрерывное культивирование (отъемно-доливная система);
- многоциклическое культивирование [6].

Материалы и методы

Объектом исследований служила культура *Streptomyces lavendulae* штамм ВКМА – 840Д.

Streptomyces lavendulae – грамположительные бактерии, относятся к классу *Actinomyces,* выделены из почвы.

Споровый материал, выращенный в пробирках со скошенным картофельным агаром, представляет собой колонии белого и светло-фиолетового цвета, воздушный мицелий – белый, субстратный – пепельно-серый, рост – сплошной. На среде для хранения пигмента не образует. Культура обладает характерным «землистым» запахом вследствие выделения летучего вещества – геосмина.

Цвет культуральной жидкости – светло-желтый, с землисто-ананасовым запахом.

Изучая биосинтез фермента, обратили внимание, что состав питательной среды для культивирования продуцента идентичен как при выращивании посевного материала, так и при ферментации. Для питательной среды использовалась безводная глюкоза, NH_4NO_3, $CaCO_3$, пекарские дрожжи.

Выращивание вегетативного посевного материала и сам процесс ферментации осуществляется в течение 23-24 часов. По окончании ферментации проводилось определение уровня активности холестеролоксидазы по методу Ричмонда. Данный ферментативный метод является достаточно точным, основан на действии холестеролоксидазы, полученной из культуральной жидкости после ферментации, на холестерин. В результате реакции образуется перекись водорода и холестенон, который определяют спектрофотометрически по изменению светопоглощения при длине волны 240 нм [7].

Накопление фермента происходит как в клетках, так и в нативном растворе, однако оптимальным является его содержание в клетках, так как это облегчает процесс выделения и очистки.

Результаты и обсуждение

В ранее проведенных исследованиях было показано, что появление следовых количеств фермента наблюдается уже с 6-ти часов выращивания посевного материала. К окончанию процесса выращивания посевного материала в колбе накапливается 22±4% относительно количества фермента, которого можно получить при проведении контрольной классической ферментации.

Полученные результаты позволили применить вместо «классической» (периодической) регулируемую ферментацию. Этот тип ферментации является промежуточным между периодическим и непрерывным. Суть такого варианта культивирования заключается в проведении процесса с дозированием в ходе ферментации по сформированной программе определенного объема среды или компонентов, необходимых культуре на данный момент. Используя принципы регулируемой ферментации, можно даже исключить выращивание посевного материала как отдельной стадии и перенос его на стадию ферментации. Схема экспериментов приведена на рисунке 1.

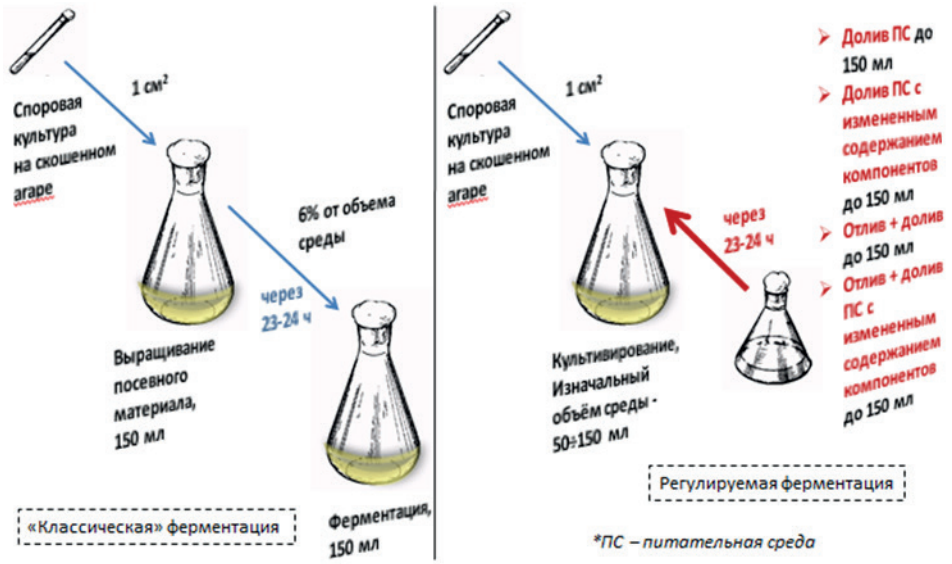


Рисунок 1. Сравнение способов культивирования в лабораторных условиях

Опыты по использованию регулируемой ферментации заключались в проведении ферментации, предполагающей долив питательной среды до начального оптимального объема в колбах.

В результате проведенных экспериментов было доказано, что проведение процесса ферментации продуцента холестеролоксидазы с сохранением активности фермента на уровне контроля возможно без предварительной стадии выращивания культуры. Также было показано, что в условиях регулируемой ферментации содержание фермента холестеролоксидазы в культуральной жидкости повышается до 48 ± 4,2% по сравнению с контролем.

Такие сведения позволили масштабировать процесс в условия лабораторного биореактора *EVIO-LAB* и провести в условиях биореактора процесс культивирования штамма-продуцента методом регулированной ферментации.

В первых опытах в асептических условиях проводили засев биореактора смывом спор культуры, выращенной на скошенном картофельном агаре. Для смыва спор использовали стерильную очищенную воду в количестве 10 мл. В биореактор с объемом среды 1 л засевали споры с 1 пробирки культуры. Передачу в биореактор осуществляли при помощи эластичной трубки, ламинара и перистальтического насоса, сохраняя стерильность системы. Ферментация проводится в течение 24 часов при температуре (27±1)°С, подаче воздуха 5 л/мин и перемешивании 600 об/мин.

Через 24 часа ферментации проводили долив 0,5 л полноценной питательной среды и ферментация продолжилась в тех же условиях следующие 24 часа.

По окончанию процесса культивирования проводили фильтрацию полученной культуральной жидкости и определяли активность образовавшегося фермента и количество полученной биомассы. И в образовавшейся биомассе и в нативном растворе определяли содержание накопившегося фермента холестеролоксидазы.

В качестве контроля во всех проводимых опытах использовали данные, полученные при культивировании штамма-продуцента в колбах Эрленмейера на качающейся платформе при таких же значениях температуры, но с предварительным выращиванием посевного материала в отдельной стадии.

Данные, полученные при проведении таких экспериментов и в условиях биореактора, и в колбах, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Накопление фермента холестеролоксидазы при засеве биореактора 10 мл споровой суспензии

Процесс ферментации	Объект исследования	Биомасса г/л	Активность ЕД/мл
Колба (котроль)	Мицелий	39,3±1,9 г/л	0,58±0,03
	Нативный раствор	-	-
Биореактор	Мицелий	30,2±1,5 г/л	0,63±0,03
	Нативный раствор	-	0,12±0,01

Из проведенных опытов стало очевидно, что такого количества спорового материала недостаточно для засева биореактора. В пересчете на процентное содержание при проведении ферментации на колбах на стадию ферментации передают 6% вегетативного посевного материала, а подача в биореактор 10 мл спорового материала соответствует 2% от объема питательной среды.

В последующей серии опытов в биореактор подавали споровую суспензию, полученную с 3 пробирок выросшей культуры на скошенном картофельном агаре. Все остальные условия проведения процесса ферментации в биореакторе оставались прежними. Подача воздуха первые сутки была около 3-4 л/мин, а после увеличена до 5-6 л/мин. Данное колебание аэрации может стать фактором, влияющим на итоговую активность. Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Накопление фермента холестеролоксидазы при засеве биореактора 30 мл споровой суспензии

Процесс ферментации	Объект исследования	Биомасса г/л	Активность ЕД/мл
Колба	Мицелий	28,7±0,3	1,95±0,15
	Нативный раствор	-	0,25±0,01
Биореактор	Мицелий	28,7±0,3	2,425±0,12
	Нативный раствор	-	0,0275±0,01

Было показано, что при таком количестве подачи спорового материала значительно увеличивалось и накопление целевого продукта. При одинаковой концентрации накопившейся биомассы активность фермента в биоректоре составляла 2,42±0,25 ЕД/мл, а в колбах 1,95±0,25 ЕД/мл. Следовательно, полученного целевого продукта было на 20% больше при проведении процесса культивирования в биореакторе в условиях регулированной ферментации.

Заключение

В результате проведенных экспериментов можно сделать вывод, что данная технология ферментации продуцента возможна и является перспективным направлением для оптимизации процесса образования фермента холестеролоксидазы. Перенесение данной технологии на крупномасштабные производства может снизить затраты на дополнительную стадию и сократить требуемые площади помещения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kumari L., Kanwar S. Cholesterol Oxidase and Its Applicationa. Advances in Microbiology // Scientific Research Publishing Inc. 2012. Vol. 2(2). P. 49-65. DOI 10.4236/aim.2012.22007

2. Исследование ферментов в диагностических системах / А.С. Попова [и др.] // Сборник материалов IX Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая Фармация – потенциал будущего». 2019 22-23 апреля. СПб., 2019. С. 434-436.

3. Основы фармацевтической биотехнологии: уч. пос. / Т.П. Прищеп [и др.]. Томск: Издательство НТЛ, 2006. 256 с.

4. Методические рекомендации по освоению дисциплины «Биотехнология антибиотиков» / Д.В. Компанцев [и др.]. Пятигорск: ПМФИ – филиал ГБОУ ВПО «Волг ГМУ», 2015. 37 с.

5. Сазыкин, Ю.О. Биотехнология: учебное пособие для студентов высших учебных заведений. 3-е изд., стер. М.: Издательский центр «Академия», 2008. 256 с.

6. Борисова Е.В. Биотехнологические основы получения чистой культуры дрожжей для для предприятий малой мощности, выпускающих напитки брожения: дис. на соискание уч. степ. канд. техн. наук. СПб., 2015. 184 с.

7. Richmond W. Preparation and Properties of a Cholesterol Oxidase from Nocardia sp. and Its Application to the Enzymatic Assay of Total Cholesterol in Serum// Clinical Chemistry. 1973. Vol. 19(12). P. 1350-1356.

SUMMARY

CHOLESTEROL OXIDASE FED-BATCH BIOSYNTHESIS WITH EVIO-LAB BIOREACTOR

Mikryukova A.I., 4th year student
Academic adviser: **Kolodyaznaya V.A.**, Candidate of Biological Science, senior lecturer
St. Petersburg Chemical and Pharmaceutical University
14, prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: aleksandra.mikryukova@spcpu.ru

Cholesterol oxidase is an enzyme that is the key part of diagnostic identification of cholesterol in blood. In the research experiments of cholesterol oxidase bacterial synthesis were carried out using Pharmtechnologies laboratory bioreactor. In the experiment batch processing is exchanged to fed-batch in order to find the most suitable conditions for microbial growth and maximum enzyme yield.

Keywords: *cholesterol oxidase, fed-batch cultivation process, bioreactor Evio-Lab, Streptomyces lavendulae.*

REFERENCES

1. Kumari L., Kanwar S. Cholesterol Oxidase and Its Applicationa. Advances in Microbiology // Scientific Research Publishing Inc. 2012. Vol. 2(2). P. 49-65. DOI 10.4236/aim.2012.22007

2. Исследование ферментов в диагностических системах / А.С. Попова [и др.] // Сборник материалов IX Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая Фармация- потенциал будущего». 2019 22-23 апреля. СПб., 2019. С. 434-436.

3. Основы фармацевтической биотехнологии: уч. пос. / Т.П. Прищеп [и др.]. Томск: Издательство НТЛ, 2006. 256 с.

4. Методические рекомендации по освоению дисциплины «Биотехнология антибиотиков» / Д.В. Компанцев [и др.]. Пятигорск: ПМФИ – филиал ГБОУ ВПО «Волг ГМУ», 2015. 37 с.

5. Сазыкин, Ю.О. Биотехнология: учебное пособие для студентов высших учебных заведений. 3-е изд., стер. М.: Издательский центр «Академия», 2008. 256 с.

6. Борисова Е.В. Биотехнологические основы получения чистой культуры дрожжей для для предприятий малой мощности, выпускающих напитки брожения: дис. на соискание уч. степ. канд. техн. наук. СПб., 2015. 184 с.

7. Richmond W. Preparation and Properties of a Cholesterol Oxidase from Nocardia sp. and Its Application to the Enzymatic Assay of Total Cholesterol in Serum// Clinical Chemistry. 1973. Vol. 19(12). P. 1350-1356.

УДК 57.085.23

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ ШТАММА ENTEROCOCCUS FAECIUM L-3 С ВЫБРАННЫМИ МАТЕРИАЛАМИ КОНСТРУКЦИИ МИКРОБИОРЕАКТОРА-КАПСУЛЫ

Останина А.А., студ. 4 курса

Руководители: [1]**Арсениев Н.А.,** к.б.н., доцент, [2]**Карасева А.Б**., к.б.н., научный сотрудник

[1]Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,

197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация

[2]Институт экспериментальной медицины,

197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12, Российская Федерация

E-mail: arina.ostanina@spcpu.ru

Осуществлена проверка выбранного штамма продуцента БАВ на антимикробную активность. Оценена биосовместимость экспериментальных моделей микробиореактора-капсулы, выполненных из различных материалов.

Ключевые слова: *микробиореактор-капсула, таргетная доставка, продуцент БАВ.*

Доставка и устойчивое поддержание терапевтической дозы лекарств в организм остается крайне сложной задачей современной медицины и фармацевтики. При «традиционных» видах доставки лекарственных препаратов, например, в отделы желудочно-кишечного тракта (пероральные и др.) большинство химических соединений интенсивно разрушаются пищеварительными ферментами, а при увеличении дозы они начинают оказывать токсическое влияние на функции сердца, почек и печени. При некоторых видах патологии, например, при дисбиозе, требуется присутствие не моно-, но многофакторных лекарственных агентов, работающих только в определенном отделе ЖКТ. Для реализации идеи устойчивого поддержания концентрации сложных биотехнологических лекарственных композиций в просвете определенных отделов ЖКТ родилась идея создания внутрикишечного миеробиореактора-капсулы [2]. Такие устройства, находясь в определенном месте просвета пищеварительной трубки, должны устойчиво выделять биологически активные вещества (БАВ), которые необходимы для лечения заболевания ЖКТ, а также использовать питательные вещества кишечника в качестве субстратов для продуцентов БАВ. В этом направлении ведут разработки ряд зарубежных биофармацевтических компаний (Anal & Stevens; Anal, Stevens & Reminan-Lopez и др.).

Цель работы:

Исследовать на биосовместимость модели микробиореактора-капсулы выполненные из различных материалов.

Задачи:

1. Испытать выбранный штамм-продуцент БАВ на антимикробную активность.

2.Проанализировать выживаемость штамма-продуцента БАВ внутри микробиореактора-капсулы, сделанного из различных материалов.

Материалы и методы

Культивирование продуцентов, культуральный бокс, штамм-продуцент БАВ Enterococcus faecium L-3 [3], штаммы-патогены Listeria ivanovii и Listeria monocytogenes, термостат, микроскопия, модели микробиореактора-капсулы.

Результаты и обсуждение

Испытали выбранный штамм-продуцент БАВ на антимикробную активность. Проведены первые исследования антимикробной активности штамма-продуцента БАВ Enterococcus faecium L-3 [1] в отношении штаммов-патогенов Listeria ivanovii и Listeria monocytogenes, получены следующие промежуточные результаты: штамм-продуцент E.faecium L-3 [4] проявляет антимикробную активность в отношении штаммов-патогенов Listeria ivanovii и Listeria monocytogenes, даже находясь внутри капсулы, на чашках Петри можно увидеть зоны лизиса (рис. 1), вокруг штамма-продуцента – угнетение роста штамма-патогена, запланировано продолжение работы.

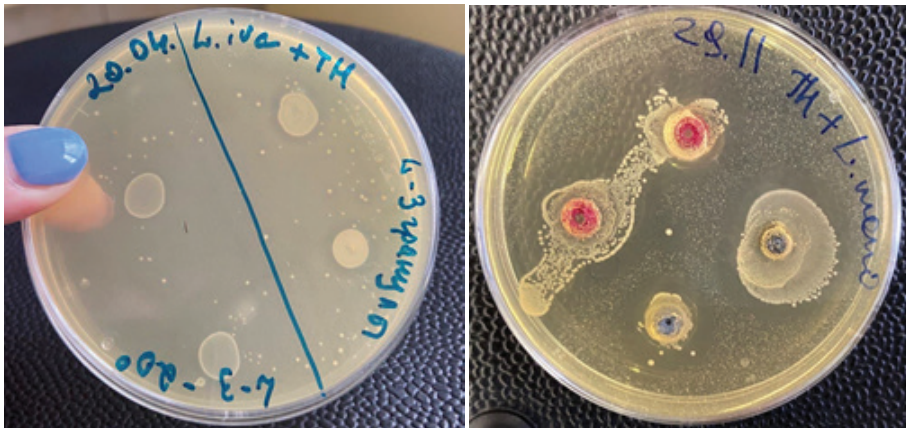


Рисунок 1. Зоны лизиса на чашках петри

Доработана модель микробиореактора-капсулы и ее внутренняя архитектура (рис. 2).

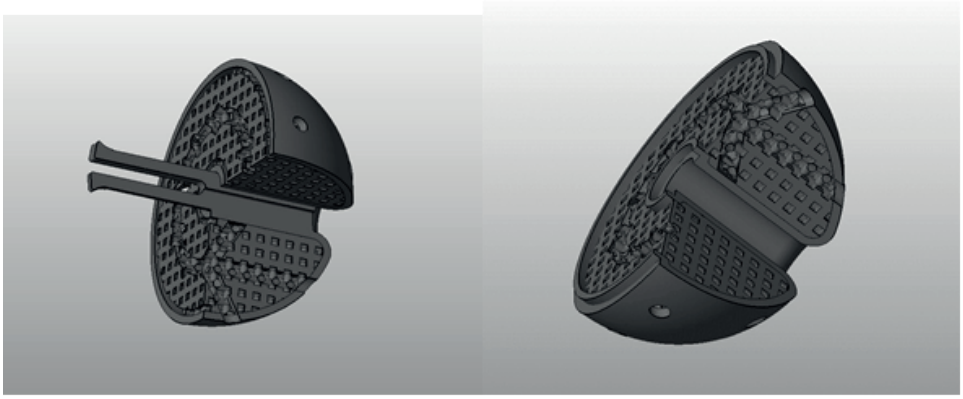


Рисунок 2. Верхняя и нижняя часть капсулы

Были напечатаны четыре вида микробиореактора-капсулы из четырех различных материалов (три вида пластика и титан) шаровидной формы (рис. 3.). Выбрана культура-продуцент БАВ – пробиотический штамм Enterococcus faecium L-3 (отдел молекулярной микробиологии ИЭМ).

Проанализировали выживаемость и адгезию штамма-продуцента БАВ внутри микробиореактора-капсулы, сделанного из выбранных материалов (рис. 4). Исследование проводилось путем помещения капсулы в пробирку с культуральной жидкостью и производя количественные высевы каждый час в течение определенного периода времени. Получили следующие результаты: результаты неоднозначны, штамм не погибает, по первоначальным данным можно предположить, что некоторые из материалов адгезируют клетки лучше, чем другие (это можно проследить по графику роста). Также можно сделать вывод, что некоторые материалы подходят меньше для клеточной культуры, так как после первого использования приходят в негодное состояние (крошатся и ломаются). Кроме того, имплант необходимо обязательно стерилизовать, что тоже отражается на дальнейшем качестве материала. Планируется дальнейшая работа и исследование выживаемости и роста штамма-продуцента в микробиореакторе-капсуле и из других материалов, а также проведение данного эксперимента в нескольких повторностях для более точных результатов. После создания удовлетворительно работающей экспериментальной модели планируется разработать компьютерную, математическую, для выявления эффективного распределения материальных потоков внутри реактора-капсулы, с последующим выходом на рабочую модель, пригодную для патентования.

Universität Tübingen
Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

UKT

Certificate

Corrosion-resistance tests

Alloy: *rematitan® CL*
Ti alloy

Composition: Ti 90 Al 6 V 4
(wt%)

Manufacturer: Dentaurum GmbH & Co. KG
Turnstr. 31 / D-75228 Ispringen, Germany

Test: This alloy was tested according to ISO EN DIN 10271:2006 "Static Immersion Test" for determining corrosion-resistance.

Corrosion test:
The test involved analytical determination of metallic ion release by means of ICP-OES after 7 day immersion test using a solution consisting of 0.1 mol/L lactic acid and 0.1 mol/L sodium chloride.

Result: The mean metallic ion release of "rematitan CL" (LOT UK/009) is 0.00141 mg/cm²/7d.

Tübingen, 11.03.2011

Center of Dentistry, Oral Medicine, and Maxillofacial Surgery
Section Medical Materials and Technology
Osianderstraße 2-8
D-72076 Tübingen, Germany

Prof. Dr. J. Geis-Gerstorfer

URS

Certificate of Registration

This certificate has been awarded to

LPW Technology Ltd
16 Berkeley Court, Manor Park, Runcorn, WA7 1TQ, United Kingdom

In recognition of the organization's Quality Management System which complies with

ISO 13485:2012

The scope of activities covered by this certificate is defined below

Procurement & Supply of Specialist Powders for Medical Applications

Certificate Number: 03/2/2/0001/UKBs
Issue No: 1
Date of Issue: (Original): 13 August 2014
Expiry Date: 12 August 2017
Date of Issue: 13 August 2014
Issued by:
On behalf of the Scheme Manager

URAS

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
(РОСЗДРАВНАДЗОР)

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ НА МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ
от 22 сентября 2020 года № РЗН 2020/12007

На медицинское изделие
Материал для дентального моделирования посредством 3D-печати на основе полимеров по ИТРЦ.942829.001ТУ

Настоящее регистрационное удостоверение выдано
Общество с ограниченной ответственностью "ХАРЦ Лабс"
(ООО "ХАРЦ Лабс"), Россия,
123458, Москва, ул. Твардовского, д. 8, стр. 1, пом. I, ком. 9

Производитель
Общество с ограниченной ответственностью "ХАРЦ Лабс"
(ООО "ХАРЦ Лабс"), Россия,
123458, Москва, ул. Твардовского, д. 8, стр. 1, пом. I, ком. 9

Место производства медицинского изделия
ООО "ХАРЦ Лабс", Россия, 141001, Московская область, г. Мытищи, ул. Силикатная, д. 51 А, стр. 5

Номер регистрационного досье **№ РД-33639/37599 от 09.06.2020**

Класс потенциального риска применения медицинского изделия **1**

Код Общероссийского классификатора продукции по видам экономической деятельности **32.50.11.000**

Настоящее регистрационное удостоверение имеет приложение на 2 листах

приказом Росздравнадзора от 22 сентября 2020 года № 8639
допущено к обращению на территории Российской Федерации
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения А.В. Самойлова

0051482

HARZ Labs

Техническая документация
HARZ Labs Dental Cast
16 Апреля 2020
Версия 1.1 / РУС

РАЗДЕЛ 1: ОПИСАНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ

Dental Cast отлично подходит для прямого литья стоматологических имплантатов, таких как металлические или керамические коронки и мосты. Практически нулевая зольности (менее 0,1 %) и термопластичные свойства делают материал подходящим для прямого литья. Материал был разработан для быстрого выжигания при высокой температуре, чтобы снизить затраты на электроэнергию и время производства металлических и керамических имплантатов.

РАЗДЕЛ 2: СВОЙСТВА МАТЕРИАЛА

2.1 Характеристики жидкости

Параметр	Стандарт/метод	Результат (метрическая система)	Результат (имперская система)
Цвет	-	Вишневый (полупрозрачный)	
Запах	-	без запаха	
Плотность	ASTM D1298	1.1 г/см³	0.0397 фунт/дюйм³
Вязкость (20 °C)	ASTM D2393	0.9 Па·с	0.605 фунт /фут·с

2.2 Механические свойства

Параметр	Стандарт/метод	Результат (метрическая система)	Результат (имперская система)
Прочность на изгиб	ASTM D790	74.1 ± 2.2 МПа	10.7 ± 0.3 ksi
Модуль упругости при изгибе	ASTM D790	1990 ± 100 МПа	289 ± 15 ksi
Прочность на разрыв	ASTM D638	45.6 ± 4.4 МПа	6.6 ± 0.6 ksi
Относительное удлинение при разрыве	ASTM D638	7.1 ± 1.1 %	
Твердость	ASTM D2240	79 ± 2 по шкале D	
Ударная вязкость по Изоду (без надреза)	ASTM D4812	4.4 ± 1.2 кДж/м²	2.1 ± 0.6 фут·фунт/дюйм²

2.3 Специальные параметры

Параметр	Стандарт/метод	Результат
Растворимость (24 ч)	ASTM D3132	≤ 0.01 %
Водопоглощение (24 ч)	ASTM D570	≤ 0.47 %
Зольность	ASTM D5630	< 0.1 %

Вышеуказанная информация считается точной и представляет собой наилучшие данные, доступные нам в настоящее время. Имперские значения преобразуются из метрических и приведены только для справки. Все образцы были напечатаны и постобработаны в соответствии с инструкциями, предоставленными компанией HARZ Labs. Представленные здесь результаты получены на материалах, постобработанных в соответствии с вышеуказанными инструкциями и могут отличаться, если установленные протоколы не соблюдаются. Пользователи должны проводить свои собственные исследования, чтобы определить, подходит ли свойства материалов под конкретные цели. HARZ Labs LLC (ООО «ХАРЦ Лабс») ни в коем случае не несет ответственности за любые претензии, убытки или убытки любой третьей стороны или за упущенную выгоду, а также за любые специальные, косвенные, случайные или примерные убытки, при их возникновении, даже если ООО HARZ Labs (ООО «ХАРЦ Лабс») было сообщено о возможности такого ущерба.

Рисунок 3. Сертификаты на материалы использованные для изготовления микробиореактора-капсулы

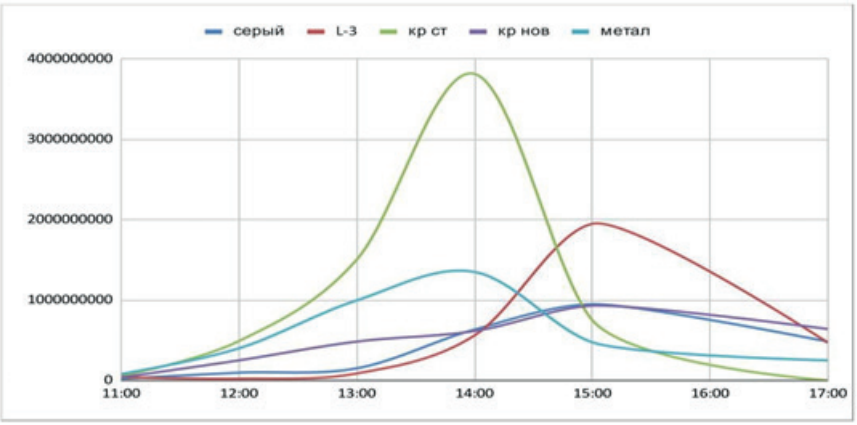


Рисунок 4. График роста штамма-продуцента в микробиореакторе-капсуле

Выводы:

Исследование штамма-продуцент БАВ Enterococcus faecium L-3 на антимикробную активность показало, что он угнетает рост штаммов-патогенов Listeria monocytogenes и Listeria ivanovii. Анализ результатов выживаемости штамма-продуцента БАВ внутри экспериментальных моделей микробиореактора-капсулы, сделанных из различных материалов показал, что штамм-продуцент адгезируется во всех моделях практически одинаково, а эксперименты с временем его экспозиции необходимо продолжить для уточнения результатов. Сравнивая полученные результаты, мы можем сделать вывод о том, что штамм-продуцент не погибает в присутствии данных материалов и продолжает проявлять антимикробную активность, даже находясь внутри капсулы, что означает, что штамм-продуцент продолжает выделять определенные БАВ.

Заключение

Создание действующей модели микробиореактора-капсулы для проведения экспериментов на животных возможно из выбранных конструкционных материалов только после окончательного завершения этапа стендовых исследований [2].

ЛИТЕРАТУРА

1. Draft Genome Sequence of Probiotic Enterococcus faecium Strain L-3. American Society for Microbiology Journals. / A. Karaseva [et al.] // Microbiology Resource Announcements. 2016. Vol. 4(1). DOI: 10.1128/genomeA.01622-15.

2. Занавескин М.Л., Миронова А.А., Попов А.М.. Микрофлюидика и ее перспективы в медицине // Молекулярная медицина. 2012. N 5.

3. Гончар Н.В., Алехина Л.А., Суворов А.Н. Пробиотические штаммы энтерококков как средства терапии и профилактики заболеваний кишечника детей // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2013. N 1 С. 74-78.

4. Красная Ю.В., Нестеров А.С., Потатуркина-Нестерова Н.И. Значение бактерий рода Enterococcus в жизнедеятельности человека // Современные проблемы науки и образования. 2014. N 6.

SUMMARY

RESEARCH OF BIOCOMPATIBILITY OF ENTEROCOCCUS FAECIUM L-3 WITH VARIOUS MATERIALS OF CONSTRUCTION OF MICROBIOREACTOR-CAPSULE

Ostanina A.A, 4th year student

Leaders: [1]**Arseniev N.A.,** candidate of biological sciences, associate professor

[2]**Karaseva A.B**., candidate of biological sciences, researcher

[1]Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

197376, St. Petersburg, Prof. Popova st., 14, Russian Federation

[2]Institute of Experimental Medicine,

197376, St. Petersburg, Aakademik Pavlov st., 12, Russian Federation

E-mail: arina.ostanina@spcpu.ru

Antimicrobial effect of Enterococcus faecium L-3 has been tested. Biocompability of E.faecium L-3 with various materials of construction of microbioreactor-capsule has evaluated.

Keywords: *microbioreactor-capsule, target drug delivery, producer of BAS.*

REFERENCES

1. Draft Genome Sequence of Probiotic Enterococcus faecium Strain L-3. American Society for Microbiology Journals. / A. Karaseva [et al.] // Microbiology Resource Announcements. 2016. Vol. 4(1). DOI: 10.1128/genomeA.01622-15.

2. Zanaveskin M.L., Mironova A.A., Popov A.M. Microfluidics and its perspectives in medicine // Molecular medicine. 2012. N 5. (in Russian)

3. Gonchar N.V., Alehina L.A., Suvorov A.N. Probiotic strains of enterococci as a means of therapy and prophylaxis of intestinal diseases in children // Experimental & clinical gastroenterology. 2013. N 1. P. 74-78. (in Russian)

4. Krasnaya E.V., Nesterov A.S. Potaturkina-Nesterova N.I. The relevance of bacteria of the genus Enterococcus in human life activity // Modern problems of science and education. 2014. N 6. (in Russian)

УДК 581.6:577.1:577.13:547.918

ИРИДОИДЫ РАСТЕНИЙ РОДА *VITEX* L. (*LAMIACEAE*)

Очагова А.Ю., магистрант 2 года обучения, **Некрасова Е.В.**, старший преподаватель кафедры биотехнологии
Руководитель**: Топкова О.В.,** к.б.н.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ochagova.aleksandra@pharminnotech.com

В ходе данной работы получены данные сравнительного качественного анализа различных видов растений рода *Vitex L.* на содержание иридоидов.

Ключевые слова: *иридоиды, Vitex agnus-castus, Vitex negundo, элюирование, растительное сырье, ТСХ.*

Лекарственные средства растительного происхождения широко используются в медицине. Зачастую уступая по эффективности синтетическим препаратам, они обладают меньшей токсичностью и минимальным проявлением побочных реакций. Кроме того, лекарственные растительные средства служат препаратами выбора для устранения симптоматических проявлений, а также применяются в комплексной терапии патологических процессов при хроническом течении болезней. Прежде чем использовать то или иное растительное сырье в фармацевтической промышленности, необходимо знание его фитохимического состава, вклада вторичных метаболитов той или иной природы в фармакологическую активность создаваемых лекарственных препаратов.

Большой интерес в качестве объекта для фитохимического исследования представляют различные виды древесных растений рода *Vitex* L. из семейства Lamiaceae, произрастающие в тропических и субстропических областях планеты. На территории России произрастает единственный вид – витекс священный (*Vitex agnus-castus* L.).

Представители рода *Vitex* ценны благодаря своим лекарственным, пищевым, медоносным, техническим и декоративным свойствам. *Vitex agnus-castus* имеет тысячелетнюю историю использования в лечебной практике, а сегодня препараты на его основе широко используются в официальной медицине многих стран при лечении гинекологических заболеваний, болезни Паркинсона, в онкологии. Все части витекса священного содержат такие фармакологически активные вещества, как эфирные масла, иридоиды, циклические дитерпены, органические кислоты, полифенолы, флавоноиды и другие вещества вторичного обмена [1]. Имеются сообщения об обнаружении в плодах витекса священного фитоэкдистероидов.

Целью настоящего исследования является сравнительное изучение содержания иридоидов в четырех видах *Vitex*: *V. agnus-castus,* собранного в окрестностях г. Адлер (Россия), *V. tripinnata, V. negundo, V. canescence*, собранных во Вьетнаме. Из перечисленных растений наиболее изучены виды *V. agnus-castus* и *V. negundo.*

Витекс священный, или Витекс обыкновенный, или Прутняк обыкновенный, или Авраамово дерево, или Целомудренник, или Монашеский перец (лат. *Vitex agnus-castus*) – растение не столько плодовое, сколько пряно-ароматическое и лекарственное. Известен с давних времен, однако культивировать его начали сравнительно недавно. В диком виде (его родиной считается Средиземноморье) растет во всех Средиземноморских странах, на Балканах, в Малой Азии, Иране.

На территории России наиболее благоприятны для него климатические условия в Крыму и Краснодарском крае. Его можно выращивать в открытом грунте и на всем Кавказе, а в качестве покровной культуры прутняк обыкновенный может продвинуться далеко на север. В заповедниках Крыма, Кавказа и в ботанических садах встречаются единичные экземпляры Прутняка обыкновенный.

Vitex negundo (прутняк негундо, ниргунди) – крупный ароматический кустарник семейства вербеновых. Побеги четырехгранные, серовойлочные, до 3 м в высоту. Цветки мелкие, собраны в метелки. Кора тонкая и серая. Листья гладкие, с типичным резковатым острым запахом. Ниргунди бывает двух видов – с белыми (shwetapushpi) и синими или сиреневыми цветами (pushpnilika). Плоды содержат 4 семечки, когда созревают, становятся черными. Сушеные плоды по вкусу и аромату напоминают перец.

Ниргунди произрастает в Индии, Китае и на Филиппинах. Встречается по всей Индии, на пустошах и заброшенных землях, вплоть до высоты 1500 м.

Содержит кастицин, изоориентин, хризофенол D, лютеолин, р-оксибензойная кислоту и D-фруктозу. Листья ниргунди содержат ароматное эфирное масло и смолу. Плоды содержат вяжущие органические кислоты, алкалоиды, краситель и смолу. В растении содержатся алкалоиды, гликозиды, флавоноилы, стеролы, смола, таннины.

Из ниргунди получают эфирное масло, которое используется для снятия воспаления и опухоли суставов, при ревматизме и травмах. Содержит сабинин, линалул, терпинен-4-ол, кариофилен, гуаинен, глобулол. Это основные ингрединты масла, составляющие 61,8%.

Ниргунди обладает противовоспалительными, жаропонижающими, рассасывающими, антибактериальными, противогрибковыми, анальгетическими, отхаркивающими, мочегонными и глистогонными свойствами.

Иридоиды – группа нелетучих соединений, представляющих собой циклические монотерпены с циклопентановым кольцом, имеющих в своей структуре сложноэфирную группировку. Иридоидные гликозиды относятся к числу достаточно гидрофильных соединений. Представляют собой бесцветные жидкие или кристаллические (иногда аморфные) вещества, в большинстве своем легко растворимые в воде и низших спиртах. Иридоиды часто имеют горький вкус и обладают характерным свойством в кислой среде или под действием ферментов в присутствии кислорода воздуха образовывать окрашенные в синий цвет растворы [2].

В растениях иридоиды чаще всего находятся в виде гликозидов, иногда – в свободном виде (в виде агликонов). Сахарная часть представлена глюкозой, ксилозой, рамнозой, галактозой. Иридоиды являются вторичными метаболитами растительных клеток. Вторичные метаболиты – органические вещества, синтезируемые организмом, но не участвующие в росте, развитии или репродукции.

Несмотря на то, что впервые иридоиды были выделены из растений еще в 19 веке, первая попытка установления структуры этого класса соединений была предпринята лишь в середине 50-х годов XX века при изучении лактона иридомирмецина и диальдегида иридодиаля, выделенных из защитных секретов австралийских муравьев, по которому иридоиды и получили свое название

Иридоидные соединения подразделяют на 4 основные группы:

1. Циклопентановые иридоиды.
2. Секоиридоиды.
3. Иридоиды семейства валериановых – валепотриаты.
4. Комплексные иридоид – алкалоиды.

Встречаются в растениях димерные иридоиды.

В чистом виде иридоидные гликозиды представляют собой бесцветные кристаллические (иногда аморфные) вещества с температурой плавления от 50 до 300°С. В большинстве своем легко растворимы в воде, низших спиртах, в водных растворах низших спиртов и ацетоне. Однако встречаются иридоиды (одонтозид), которые трудно растворяются в воде и несколько лучше – в этилацетате. Плохо или совсем нерастворимы в неполярных органических растворителях. Легко окисляются кислородом воздуха.

Иридоиды часто имеют горький вкус и обладают характерным свойством: под действием кислот или ферментов в присутствии кислорода воздуха иридоиды-гликозиды легко подвергаются гидролизу, продукты гидролиза образуют окрашенные в синий или сине-фиолетовый цвет растворы с последующим выпадением фиолетово-черного осадка.

Сырье, содержащее иридоиды, часто при сушке чернеет. Это происходит вследствие ферментативного расщепления гликозидов до агликонов, которые легко окисляются, полимеризуются и переходят в темно-коричневые пигменты.

Носителем фармакологической активности иридоидов является – агликон, который по силе действия превосходит гликозид.

Секоиридоиды повышают аппетит, стимулируют пищеварение, повышают секрецию желудочного сока. Благодаря горькому вкусу они раздражают рецепторы языка и рефлекторно действуют на органы пищеварения.

Но сегодня иридоидные гликозиды привлекают внимание новыми видами фармакологической активности, в том числе:

• желчегонной активностью (аукубин, гарпагид, ацетилгарпагид, аюгол);
• эрготаминоподобной (вербеналин);
• диуретической (каталпол, каталпозид, аукубин);
• противовоспалительной и болеутолющей (гарпагид);
• седативной и транквилизирующей (валепотриаты);
• противоопухолевой (асперулозид);
• слабительной (генипозид и его агликон генипин);
• гипотензивной, коронарорасширяющей, спазмолитической, гипогликемической и антиаритмической (олеуропеин);
• антибиотической, фунгистатической и ранозаживляющей (аукубин, плюмерицин, генциопикрозид и продукты их ферментативного превращения);
• антимикробной (аукубин и его агликон аукубигенин, непетолактон, гениповая к-та);
• антилейкемической (плюмерицин, плюмерид, адамантин).

Материалы и методы

На содержание иридоидов с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) проведен качественный анализ спиртовых экстрактов различных частей деревьев четырех видов рода *Vitex*: листьев *V. agnus-castus,* листьев и коры *V. tripinnata,* листьях и одревесневших побегов *V. negundo,* листьев и коры *V. canescence* (Таблица). Перед проведением ТСХ сырье экстрагировали хлороформом для удаления пигментов. Использовали пластинки Sorbfil ПТСХ-II-А-УФ. Анализ проводили в различных системах элюирования: н-бутанол-этанол-вода (4:1:5) (система I), этанол-хлороформ (1:1) (система II), этанол-этилацетит (1:1) (система III). В качестве проявляющих реагентов использовали реактив Трим-Хилла (**1**), двунормальный раствор серной кислоты (**2**), однонормальный раствор соляной кислоты (**3**). Перед проявлением пластинки высушивали на воздухе, а после обработки проявляющими реагентами пластинки нагревали в сушильном шкафу при температуре 110°С в течение 15 минут. Фотографии проявленных пластинок ТСХ представлены на рисунке.

Таблица – Список исследуемых образцов рода *Vitex* L.

№ обр	Вид	Части растения	Место сбора, год
1	*Vitex agnus-castus*	листья	с. Лесное, Адлеровский р-н г. Сочи, 2020 г.
2	*Vitex tripinnata*	листья	Вьетнам, национальный парк Кон Ка Кинь, 2018 г.
3	*Vitex canescens*	кора	Вьетнам, национальный парк Кат Тьен, 2018 г.
4	*Vitex canescens*	листья	Вьетнам, национальный парк Кат Тьен, 2017 г.

№ обр	Вид	Части растения	Место сбора, год
5	*Vitex negundo*	одревесневшие побеги	Вьетнам, национальный парк Кат Тьен 2017 г.
6	*Vitex tripinnata*	листья	Вьетнам, национальный парк Кон Ка Кинь, 2017 г.
7	*Vitex tripinnata*	кора	Вьетнам, национальный парк Кон Ка Кинь, 2017 г.
8	*Vitex negundo*	листья	Вьетнам, национальный парк Кат Тьен, 2018 г.
9	*Vitex negundo*	одревесневшие побеги	Вьетнам, национальный парк Кат Тьен, 2018 г.

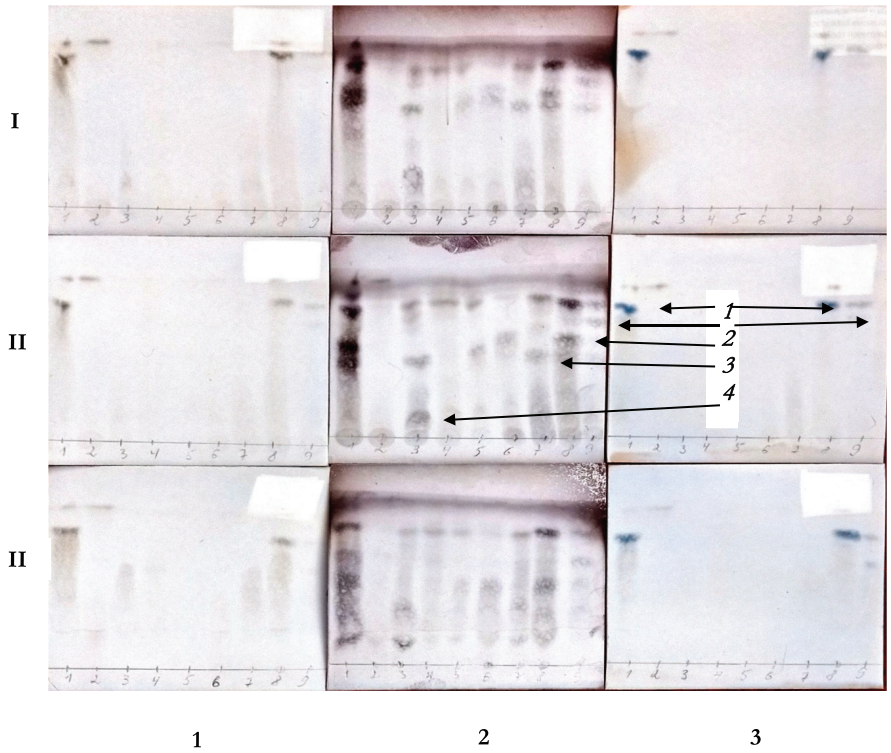


Рисунок. Фотографии пластинок ТСХ экстрактов растений рода *Vitex* (см. таблицу) в различных системах элюирования (римские цифры) с различными проявляющими реагентами (арабские цифры)

Результаты и обсуждение

При проведении процедуры ТСХ во всех трех системах обработка пластинок реагентами **1** и **3** позволяет обнаружить по одному мажорному соединению (*1*) – яркому пятну с характерным для иридоидов зеленоватым (реагент **1**) или голубым (реагент **3**) цветом в экстрактах листьев *V. agnus-castus* (образец 1) и *V. negundo* (образец 8). В экстракте одревесневших побегов *V. negundo* (образец 9) с помощью реагента **3** обнаруживается дополнительное пятно (соединение *2*) с характерным для иридоидов голубым цветом в системах I и II. Проявление пластинок с помощью реагента **2** позволяет увидеть большее число метаболитов с меньшей интенсивностью окраски во всех трех системах. Наиболее оптимальное разделение метаболитов происходит в системе II. Следует отметить отсутствие иридоидов (образец 2) или незначительное количество метаболитов иридоидной природы (образец 6) в листьях *V. tripinnata* (соединение *3*). Кора этого же вида содержит незначительное количество соединения *4* с отличающимся от соединения *3* значением R_f. Соединение *4* обнаруживается в и в коре другого вида – *V. canescence*. Однако, в отличие от образца коры *V. tripinnata* в коре *V. canescence* содержится еще один метаболит иридоидной природы (соединение *5*). Соединение *1*, являющееся мажорным компонентом в образцах 1, 8 и 9, обнаруживается как минорный компонент на хроматограммах экстрактов коры и листев *V. canescence* (образцы 3 и 4), коры *V. tripinnata* (образец 7).

Таким образом, соединение *1*, обнаруженное во всех исследованных видах, можно считать хемотаксономическим маркером рода *Vitex*. Соединение *3* характерно для листьев, а соединение *4* – для коры деревьев этого рода. Структуры соединений планируется установить в будущих исследованиях.

Проведенный качественный анализ образцов выборочных видов рода *Vitex* позволяет выявить некоторые закономерности. Богатыми иридоидами оказались виды *V.agnus-castus* и *V. negundo*, причем они содержатся в больших концентрациях, как в листьях, так и одревесневших побегах деревьев. Оба указанных вида на филогенетическом древе рода *Vitex* занимают положение в пределах одной и той же субклады наряду с видами *V. trifolia* и *V. littoralis* [3], которые согласно литературным данным, также содержат высокое содержание иридоидов, обладают сходными фармакологическими свойствами и применяются для лечения заболеваний женской репродуктивной сферы [1].

Следует отметить интересный факт. Образцы листьев и коры *V. tripinnata* и *V. canescence*, в которых оказалось низкое содержание иридоидов, по данным, полученным в Институте биологии Коми НЦ УрО РАН совместно с Санкт-

Петербургским химико-фармацевтическим университетом и Российско-вьетнамским научно-исследовательским и технологическим тропическим центром, содержат большое количество фитоэкдистероидов. В то же время экдистероиды не обнаружены (или содержатся в следовых количествах) в листьях и побегах *V. agnus-castus, V. negundo, V. trifolia* и *V. littoralis*. В будущих исследованиях предполагается расширить выборку видов рода *Vitex*, провести филогенетический анализ и количественный анализ образцов на содержание иридоидов и полифенолов, что позволит выявить возможные филогенетические связи между видами-продуцентами тех или иных групп вторичных метаболитов. Получаемые закономерности представят интерес с позиций биохимической экологии – эволюции вторичного обмена и установления роли вторичных метаболитов во взаимоотношениях растений с другими организмами, а также позволят разработать хемотаксономический прогноз обнаружения преимущественно тех или иных групп вторичных метаболитов (иридоиды, полифенолы, фитоэкдистероиды) в представителях рода *Vitex* в целях создания новых галеновых и новогаленовых лекарственных препаратов с ожидаемым фитохимическим составом и фармакологической активностью.

Заключение

В результате исследования был проведен сравнительный анализ растений видов *V. agnus-castus, V. tripinnata, V. negundo, V. canescence*. Получены и обработаны результаты проведения хроматографического анализа по содержанию иридоидов в растительном сырье с использованием метода тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Авторы выражают благодарность с.н.с. Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, к.б.н. С.О. Володиной за помощь в проведении экспериментов по тонкослойной хроматографии иридоидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pharmacological and Phytochemical Evidences for the Extracts from Plants of the Genus Vitex – A Review / F. K. Meena [et al.] // International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2010. Vol. 2(1). P. 1–9.

2. Кузина В.Н., Малашенко Е.А., Эллер К.И. Стандартизация лекарственного растительного сырья, содержащего иридоиды (обзор) // Сеченовский вестник. 2011. №3-4 (5-6). С. 31-38.

3. Bramley G.L.C. Troublesome tropical mints: re-examining generic limits of Vitex and relations (Lamiaceae) in South East Asia // Telopea. 2009. Vol. 58(2). P. 500–510.

SUMMARY

IRIDOIDS OF PLANTS OF THE GENUS *VITEX* L. (*LAMIACEAE*)

Ochagova A.Yu., master's student 2 years of study, **Nekrasova E.V.**, Senior Lecturer, Department of Biotechnology
Supervisor: **Topkova O.V.,** Ph.D. of Biological Sciences, Associate Professor of Biotechnology
Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University,
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: ochagova.aleksandra@pharminnotech.com

In the course of this work, data were obtained from a comparative analysis of various plant species of the genus *Vitex L.* on the content of iridoids.

Keywords: *iridoids, Vitex L., vegetable raw materials, TLC.*

REFERENCES

1. Pharmacological and Phytochemical Evidences for the Extracts from Plants of the Genus Vitex – A Review / F. K. Meena [et al.] // International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2010. Vol. 2(1). P. 1–9.

2. Kuzina V.N., Malashenko E.A., Eller K.I. Standardization of medicinal plant raw materials containing iridoids (review) // Sechenovsky vestnik. 2011. №3-4 (5-6). P.31-38 (in Russian)

3. Bramley G.L.C. Troublesome tropical mints: re-examining generic limits of Vitex and relations (Lamiaceae) in South East Asia // Telopea. 2009. Vol. 58(2). P. 500–510.

УДК 61:615.1

СИСТЕМА ДОСТАВКИ КОЛИСТИНА НА ОСНОВЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНОГО КОМПЛЕКСА N,O-(2-ГИДРОКСИПРОПИЛ-3-ТРИМЕТИЛАММОНИЙ)-ХИТОЗАН – ДЕКСТРАН СУЛЬФАТ

Пестерева Ю.О., студ. 4 курса
Руководители: **Скорик Ю.А.**, канд. хим. наук, рук. лаб. ИВС РАН
(ORCID: 0000-0002-9731-6399, ResearcherID: A-8128-2008)
Раик С.В., мл. науч. сотр. ИВС РАН,
ассистент каф. мат. и естественнонауч. дисциплин ИМО НМИЦ им. В.А. Алмазова
(ORCID: 0000-0002-4094-6058, ResearcherID: D-8004-2017)
Котова Н.В., доц. каф. Биотехнологии СПХФУ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
ИМО НМИЦ им. В. А. Алмазова
197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
E-mail: yuliya.pestereva@spcpu.ru

Для повышения безопасности и эффективности существующих противомикробных препаратов, а также для борьбы с резистентностью микроорганизмов разрабатывают различные системы доставки. Цель этой работы заключалась в разработке системы доставки колистина (КТ) на основе полиэлектролитного комплекса (ПЭК) для уменьшения недостатков колистина. ПЭК был получен интерполмерным взаимодействием между полианионом декстран сульфатом натрия (ДС) и поликатионом N,O-(2-гидроксипропил-3-триметиламмоний)-хитозан хлоридом (ГПТМАХ) с включением положительно заряженных молекул КТ. Образовавшийся ПЭК имел гидродинамический радиус 103-109 нм и отрицательный поверхностный заряд (ζ-потенциал – 32 мВ). Эффективность загрузки КТ составила 100%.

Ключевые слова: *колистин, декстран сульфат натрия, хитозан, полиэлектролитный комплекс, система доставки лекарств, наночастицы.*

Колистин – антибиотик последнего резерва для лечения инфекционных заболеваний, вызванных грамотрицательными бактериями. В настоящее время в медицине используется парентеральное введение КТ для лечения тяжелых внутрибольничных инфекций с множественной лекарственной устойчивостью, включая нозокомиальную пневмонию и бактериемию [1]. Однако применение КТ (особенно у беременных женщин и детей) значительно ограничено в связи с его высокой нефротоксичностью и нейротоксичностью [2, 3]. Использование наночастиц на основе природных и модифицированных полисахаридов позволяет снизить требуемую дозу КТ, а, следовательно, и токсичность, за счет улучшения доставки КТ. Кроме того, такие системы доставки защищают лекарственные средства от несвоевременной деструкции и обеспечивают их контролируемое высвобождение [4, 5]. Исходя из всего вышесказанного, разработка системы доставки КТ, которая может улучшить его характеристики, является актуальной задачей.

Целью этой работы было разработать систему доставки колистина на основе полиэлектролитного комплекса для снижения отрицательных свойств колистина. Полиэлектролитное взаимодействие происходило между протонированными аминогруппами КТ, водорастворимого катионного производного хитозана – ГПТМАХ и сульфогруппами ДС.

Задачами работы были:

• Определение степени сульфирования ДС тремя методами: методом обратного алкалиметрического титрования ДС раствором щелочи; методом элементного анализа ICP-MS; методом турбидиметрического титрования ДС хитозаном;

• ^{1}H ЯМР-спектроскопия полимеров;

• Приготовление ПЭК и изучение его характеристик;

• Определение эффективности загрузки и изучение кинетики высвобождения КТ.

Материалы и методы

В работе использовали хитозан, выделенный из панцирей крабов, приобретенный в ЗАО «Биопрогресс», N,O-(2-гидроксипропил-3-триметиламмоний)-хитозан хлорид, колистин Colistin Sulfate PHR 1605-1G Lot#LRAB 7806, декстран сульфат натрия. Дейтерированная вода (99.9 %) была приобретена в компании Sigma Aldrich. Остальные реактивы и растворители были закуплены в коммерческих источниках и использовались без дополнительной очистки.

Титриметрическое определение степени сульфирования ДС. Степень сульфирования ДС определяли методом обратного алкалиметрического титрования с потенциометрическим фиксированием скачков. Для определения pH среды титруемого раствора использовали лабораторный иономер И-160М, оснащенный стеклянным и хлоридсеребряным электродами. Навеску Na-формы ДС и диализованной H-формы ДС растворяли в воде. Раствор титровали щелочью NaOH, добавляя последовательно по 0.1 мл титранта при перемешивании на магнитной мешалке, фиксируя показатели pH. По полученным кривым определяли объем раствора щелочи, пошедший на депротонирование сульфогрупп ДС.

Определение степени сульфирования ДС *методом ICP-MS масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой* проводили для Na-формы ДС и H-формы ДС с концентраций 10 мг/л.

Турбидиметрическое титрование ДС хитозаном проводили при измерении оптической плотности (ОП) на спектрофотометре Shimadzu UV-1700. В кювету толщиной 1 см добавляли 300 мкл раствора хитозана №33 (ХЗ) с концентрацией 0.5 мг/мл, приготовленного в 0.2М ацетатном буфере с pH 3.9. К нему добавляли 1500 мкл раствора ДС с концентрацией

0.5 мг/мл, приготовленного в 0.2 М ацетатном буфере с pH 3.9, перемешивали и измеряли ОП. Далее в кювету добавляли по 300 мкл раствора ХЗ до массового соотношения ХЗ:ДС 7:5.

Также проводили обратное турбидиметрическое титрование ХЗ декстран сульфатом. В кювету толщиной 1 см помещали 1267 мкл ХЗ, к нему добавляли 253 мкл раствора ДС, перемешивали, измерила ОП, добавляли по 253 мкл раствора ДС до массового соотношения ДС:ХЗ 7:5.

^{1}H ЯМР-спектроскопия полимеров. 5 мг полимера растворяли в 0.5 мл D_2O (99.9 %). Спектры регистрировали на спектрометре NMR Bruker Avance II с рабочей частотой 400 МГц при температуре 70 °С. Подавление сигнала воды осуществляли методом предварительного селективного насыщения сигнала, используя стандартную импульсную последовательность zgpr из библиотеки Bruker.

Для изучения характеристик ПЭК ДС-ГПТМАХ проводили измерение дзета-потенциала на приборе Photocor Compact Z и определяли точку нулевого заряда. В кювету добавляли 500 мкл раствора ГПТМАХ с концентрацией 0.54 мг/мл, к нему добавляли 2500 мкл раствора ДС с концентрацией 0.54 мг/мл, перемешивали, через 3 минуты проводили измерение дзета-потенциала. Добавляли по 500 мкл раствора ГПТМАХ до массового соотношения ДС:ГПТМАХ 5:12.

Гидродинамический радиус ПЭК ДС-ГПТМАХ определяли на приборе Photocor Compact Z. В кювету добавляли 100 мкл раствора ГПТМАХ (0.5 мг/мл), к нему добавляли 500 мкл раствора ДС (0.5 мг/мл), перемешивали, через 2 минуты определяли гидродинамический радиус частиц. Добавляли по 100 мкл раствора ГПТМАХ до массового соотношения ДС:ГПТМАХ 5:5. Эксперимент повторяли три раза, используя ГПТМАХ с различной степенью замещения (СЗ) – 80%, 35% и 10%.

Гидродинамический радиус и дзета-потенциал трех ПЭК ДС-ГПТМАХ-КТ, содержащих ГПТМАХ с различной СЗ определяли на приборе Photocor Compact Z. Для приготовления ПЭК к 0.2 мл КТ (1 мг/мл) добавляли 0.4 мл ГПТМАХ (0.5 мг/мл), после чего добавляли 2 мл ДС (0.5 мг/мл). Эффективности загрузки (LE) КТ определяли путем центрифугирования 0.5 мл ПЭК при 4500 об/мин в концентраторе Vivaspin® Turbo 4 (5000 MWCO) и определения количества КТ в супернатанте методом ВЭЖХ-МС. По данной методике определяли гидродинамический радиус, дзета-потенциал и эффективность загрузки для четырех ПЭК ДС-ГПТМАХ-КТ с различным массовым соотношением КТ (5:1:1; 5:1:2; 5:1:4; 5:1:6), изменяя количество добавленного КТ (0.2 мл; 0.4 мл; 0.8 мл; 1.2 мл)

Для определения кинетики высвобождения КТ из ПЭК к 5 мг лиофильно высушенного ПЭК ДС:ГПТМАХ:КТ добавили 20 мл натрий-фосфатного буферного раствора (PBS). Раствор помещали на шейкер-инкубатор при 400 об и 37°С. Через определенные промежутки времени в течение двух суток 1 мл раствора ультрацентрифугировали при 4500 об/мин в концентраторе Vivaspin® Turbo 4 (5000 MWCO). Высвобожденное количество КТ в супернатанте определяли методом ВЭЖХ-МС.

Результаты и обсуждение

По кривой *алкалиметрического титрования* диализованной Н-формы ДС был определен объем щелочи в точке эквивалентности, равный 0.7588 мл. По этим данным было рассчитано содержание серы в Н-форме ДС, которое оказалось равно 11.98%. Аналогично был определен объем щелочи в точке эквивалентности для Na-формы ДС (0.9920 мл) и рассчитано содержание серы в Na-форме ДС =15.21% (степень сульфирования Na-формы ДС1.50). Расхождение в значениях содержания серы в разных формах ДС можно объяснить тем, что при диализе Na-формы ДС через мембрану могла пройти часть серы.

По данным *элементного анализа* ДС содержание серы в Na- и Н-форме ДС оказалось соответственно равно 17.23% (степень сульфирования равна 1.95) и 17.73%.

По данным *турбидиметрического титрования* ДС было определено массовое соотношение ДС:ХЗ, при котором графики турбидиметрического титрования при добавлении хитозана к ДС и ДС к хитозану пересекаются (см. рис. 1). Данное массовое соотношение оказалось равно 0.7 г/г. Это означает, что для взаимодействия всех положительно заряженных аминогрупп 1г ХЗ с отрицательно заряженными сульфогруппами ДС, необходимо 0.7 г ДС. Исходя из этого соотношения была определена массовая доля серы в ДС (18.27%) и степень сульфирования ДС (2.24).

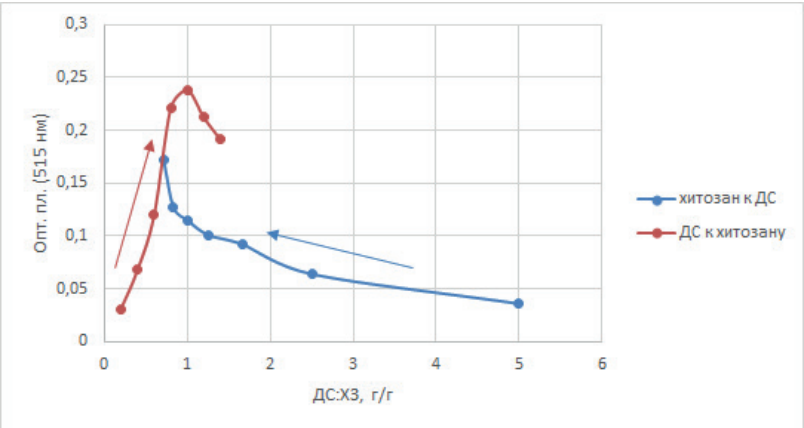


Рисунок 1. Зависимость оптической плотности от массового соотношения ДС:ХЗ

1Н ЯМР спектры были получены сотрудниками группы спектроскопии полимеров ИВС РАН. Регистрацию спектра осуществляли с образца, содержащего 10 мг/мл ДС в D_2O. Отнесение сигналов представлено на рисунке 2. Сигналы протонов при атомах углерода C_2-C_6 образуют плохо разрешенную группу сигналов в области химических сдвигов от 3.5 ppm до 4.8 ppm, они перекрываются с сигналом в воды (4.7 ppm). В литературе [6] описано, что по сигналам аномерных протонов, находящихся у атома углерода C_1, можно судить о характере замещения: H_1 сдвигается в область слабого поля при замещении гидроксогрупп декстрана на сульфогруппы в декстран сульфате. Полученный ЯМР-спектр образца ДС, использованного в работе, был сравнен с ЯМР-спектрами образцов ДС с различной степенью замещения сульфогруппами, приведенными в работе Neville G.A. и др. [6]. В результате было определено, что используемый в работе образец ДС обладает высокой степенью сульфирования. На ЯМР-спектре присутствует два неразрешенных пика *c* и *d*. Пик *c* характерен для ДС, сульфированного при атоме углерода C_2, но не сульфированного при атоме углерода C_3. Пик *d* характерен для ДС, сульфированного при атоме углерода C_2 и C_3 одновременно.

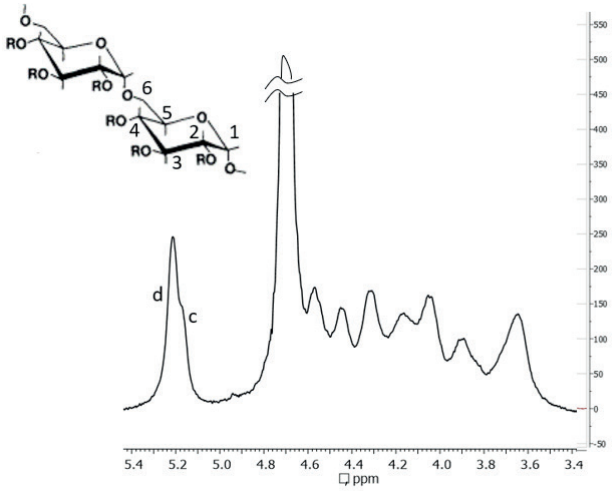


Рисунок 2. ЯМР-спектр ДС

Регистрацию спектра ГПТМАХ осуществляли с образца, содержащего 10 мг/мл ГПТМАХ в D_2O. Полученный ЯМР-спектр образцов ГПТМАХ с различной степенью замещения был сравнен с ЯМР-спектром незамещенного хитозана. Пик *a* на рисунке 3 является сигналом аномерного протона, входящего в состав дезацетилированного звена хитозана. Пик *a'* – сигнал аномерного протона в ацетилированном звене хитозана. Пик *a''* – сигнал аномерного протона замещенного звена. При интегрировании пика *a''* было определено, что степень алкилирования хитозана данным заместителем составляет 13%. При интегрированни пика *g*, характеризующего сигнал атомов водорода, входящих в состав трех метильных групп заместителя, было получено значение, равное 1.18. Если это значение поделить на количество атомов водорода, входящих в состав трех метильных групп, равное девяти, будет получено значение, равное 0.13. Эти данные подтверждают предположение о том, что пик *a''* является сигналом аномерного протона замещенного звена, и что значение степени алкилирования хитозана данным заместителем равно 13%.

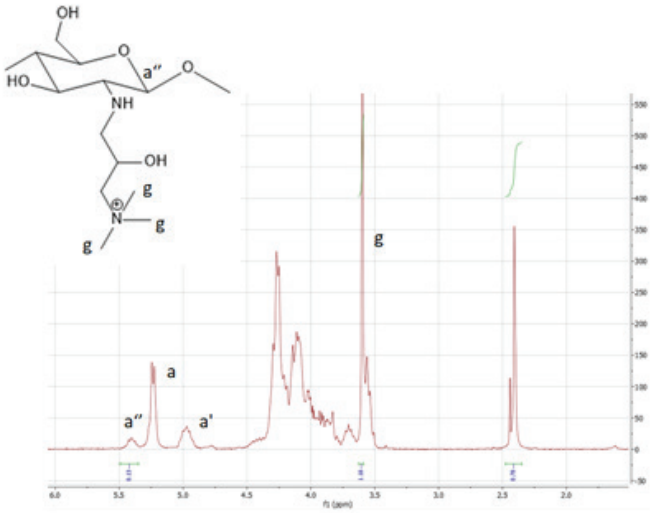


Рисунок 3. ЯМР-спектр ГПТМАХ

По данным измерения дзета-потенциала при последовательном добавлении ГПТМАХ к ДС до массового соотношения ДС:ГПТМАХ 5:12 был построен график зависимости дзета-потенциала от мольного соотношения серы к азоту (см. рис. 4). Переход от отрицательных значений дзета-потенциала к положительным наблюдается при мольном соотноше-

нии n(s)/n(N) = 0,5 моль/моль. Т.е. для нейтрализации всех сульфогрупп ДС необходимо в 2 раза большее количество азота ГПТМАХ.

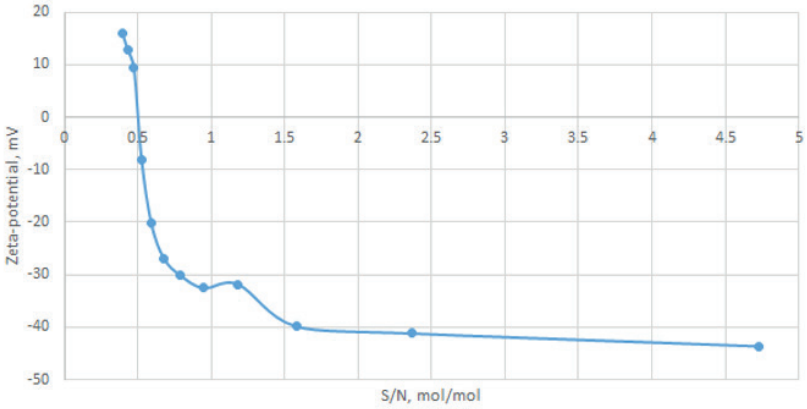


Рисунок 4. График зависимости значений дзета-потенциала от мольного соотношения серы ДС к азоту ГПТМАХ

Результаты измерения гидродинамического радиуса ПЭК ДС-ГПТМАХ для трех образцов ГПТМАХ с различной степенью замещения (10%, 35%, 80%) представлены на рисунке 5. Было определено, что размер частиц не зависит ни от соотношения компонентов, ни от степени замещения ГПТМАХ.

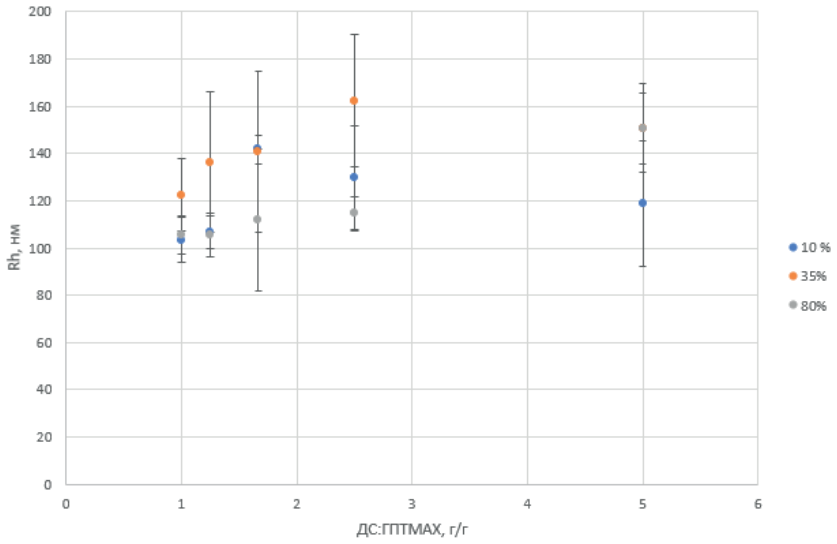


Рисунок 5. Зависимость гидродинамического радиуса от массового соотношения ДС:ГПТМАХ

Данные измерения гидродинамического радиуса, дзета-потенциала и определения загрузки (LE) КТ в ПЭК ДС:ГПТМАХ:КТ при разной СЗ ГПТМАХ приведены в таблице 1. Было определено, что гидродинамический радиус и дзета-потенциал не зависят от степени замещения ГПТМАХ, загрузка КТ в данный ПЭК полная.

Таблица 1 – Характеристика ПЭК ДС:ГПТМАХ:КТ при разной СЗ ГПТМАХ

СЗ ГПТМАХ, %	ДС:ГПТМАХ:КТ, масс.	Rh, нм	ζ-потенциал, мВ	LE,%
10	5:1:1	109	-33,0	100
35	5:1:1	104	-32,7	100
60	5:1:1	105	-31,8	100

Полученные данные по гидродинамическому радиусу, дзета-потенциалу и загрузке КТ в ПЭК ДС:ГПТМАХ:КТ при различном массовом соотношении КТ приведены в таблице 2. Гидродинамический радиус практически не зависит от количества добавленного КТ, а дзета-потенциал при добавлении КТ постепенно увеличивается, так как КТ имеет положительный заряд. Эффективность загрузки КТ составляет 100%.

Таблица 2 – Характеристика ПЭК ДС:ГПТМАХ:КТ при разном массовом соотношении КТ

ДС:ГПТМАХ(10%):КТ, масс.	Rh, нм	ζ-потенциал, мВ	LE, %
5:1:1	138	-32,3	100
5:1:2	106	-30,2	100

ДС:ГПТМАХ(10%):КТ, масс.	Rh, нм	ζ-потенциал, мВ	LE, %
5:1:4	137	-26,2	100
5:1:6	116	-22,2	100

Опыты по кинетике высвобождения КТ проводили для ПЭК с массовым соотношением ДС:ГПТМАХ:КТ 5:1:1; 5:2:1; 5:4:1. Результатом было полное отсутствие высвобождения КТ. Также было проведено высвобождение КТ в присутствии низкомолекулярного электролита (NaCl 0,25-1,5 М), однако разрушить прочно образованный комплекс на сегодняшний день не удалось.

Заключение

В данной работе было показано, что КТ способен образовывать прочный ПЭК с ДС и ГПТМАХ, причем этот комплекс имеет малые размеры, способные проникать через естественные барьеры. А, значит, данный ПЭК можно использовать в качестве системы доставки КТ. На данный момент ведутся работы по подбору условий для высвобождения КТ, а также идет проверка проявления антимикробных свойств КТ в составе ПЭК.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 19-73-20157).

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
31.25.00 Химия высокомолекулярных соединений

ЛИТЕРАТУРА

1. Vardakas K.Z., M.E. Falagas. Colistin versus polymyxin B for the treatment of patients with multidrug-resistant Gram-negative infections: a systematic review and meta-analysis // International Journal of Antimicrobial Agents. 2017. Vol. 49(2). P. 233-238. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.07.023

2. Challenges and strategies in drug delivery systems for treatment of pulmonary infections / D.-K. Ho [et al.] // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2019. Vol. 144. P. 110-124.

3. Falagas M.E., Kasiakou S.K. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studie // Critical Care. 2006. Vol. 10(1). P. R27.

4. Shahbazi F., Dashti-Khavidaki S. Colistin: efficacy and safety in different populations // Expert Review of Clinical Pharmacology. 2015. Vol. 8(4): p. 423-448.

5. Dai C., et al., Molecular Mechanisms of Neurotoxicity Induced by Polymyxins and Chemoprevention. ACS Chemical Neuroscience. 2019. 10(1). P. 120-131.

6. Abed N., Couvreur P. Nanocarriers for antibiotics: A promising solution to treat intracellular bacterial infections // International Journal of Antimicrobial Agents. 2014. Vol. 43(6). P. 485-496.

7. Polymeric nanoparticle constructs as devices for antibacterial therapy / O.I. Parisi [et al.] // Current Opinion in Pharmacology. 2017. Vol. 36. P. 72-77.

8. Characterization and differentiation of some complex dextran sulfate preparations of medicinal interest / G.A. Neville [et al.]// J Pharm Sci. 1991. Vol. 80(3). P. 239-44.

SUMMARY

COLISTIN DELIVERY SYSTEM BASED ON POLYELECTROLYTE COMPLEX N,O-(2-HYDROXYPROPYL-3-TRIMETHYLAMMONIUM)-CHITOSAN-DEXTRAN SULPHATE

Pestereva J.O., 4th year student
Academic advise: **Skorik Y.A.**, Candidate of chemical sciences, head of laboratory IMC RAS
(ORCID: 0000-0002-9731-6399, ResearcherID: A-8128-2008)
Raik S.V., junior researcher IMC RAS,
Assistant of the Department of Mathematics and Natural Sciences IME NMRC named after Almazov
(ORCID: 0000-0002-4094-6058, ResearcherID: D-8004-2017)
Kotova N.V., Associate Professor of the Department of Biotechnology SPCPU
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St, St. Petersburg, 197376, Russian Federation
IME NMRC named after Almazov
2, st. Akkuratova, St. Petersburg, 197341, Russian Federation
E-mail: yuliya.pestereva@spcpu.ru

Various delivery systems are being developed to improve the safety and efficacy of existing antimicrobials, as well as to combat microbial resistance. The purpose of this study was to develop a colistin (CT) delivery system based on polyelectrolyte complex (PEC) to reduce the deficiencies of CT. PEC was obtained by interpolymeric interactions between the dextran sodium sulfate (DS)

polyanion and the N,O-(2-hydroxypropyl-3-trimethylammonium)-chitosan (HPTMAC) polycation, with simultaneous inclusion of positively charged CT molecules into the resulting complex. . The developed PEC had a hydrodynamic radius of 103-109 nm and a negative surface charge (ζ-potential = −32 mV). The loading efficiencies were 100%.

Keywords: *colistin, sodium dextran sulfate, chitosan, polyelectrolyte complex, drug delivery system, nanoparticles.*

REFERENCES

1. Vardakas K.Z., M.E. Falagas. Colistin versus polymyxin B for the treatment of patients with multidrug-resistant Gram-negative infections: a systematic review and meta-analysis // International Journal of Antimicrobial Agents. 2017. Vol. 49(2). P. 233-238. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.07.023

2. Challenges and strategies in drug delivery systems for treatment of pulmonary infections / D.-K. Ho [et al.] // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2019. Vol. 144. P. 110-124.

3. Falagas M.E., Kasiakou S.K. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studie // Critical Care. 2006. Vol. 10(1). P. R27.

4. Shahbazi F., Dashti-Khavidaki S. Colistin: efficacy and safety in different populations // Expert Review of Clinical Pharmacology. 2015. Vol. 8(4): p. 423-448.

5. Dai C., et al., Molecular Mechanisms of Neurotoxicity Induced by Polymyxins and Chemoprevention. ACS Chemical Neuroscience. 2019. 10(1). P. 120-131.

6. Abed N., Couvreur P. Nanocarriers for antibiotics: A promising solution to treat intracellular bacterial infections // International Journal of Antimicrobial Agents. 2014. Vol. 43(6). P. 485-496.

7. Polymeric nanoparticle constructs as devices for antibacterial therapy / O.I. Parisi [et al.] // Current Opinion in Pharmacology. 2017. Vol. 36. P. 72-77.

8. Characterization and differentiation of some complex dextran sulfate preparations of medicinal interest / G.A. Neville [et al.]// J Pharm Sci. 1991. Vol. 80(3). P. 239-44.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ЦЕЛЕВОГО ПРОДУКТА ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ *E.COLI* ПРИ ПОМОЩИ ЛАКТОЗЫ И ИЗОПРОПИЛ-B-D-1-ТИОГАЛАКТОПИРАНОЗИДА

Писевич М.М., маг. 1 года обучения, **Сафи А.С.**
Руководитель: **Рабдано С.О.**, к.ф.-м.н., Руководитель Центра исследований и разработки СПбНИИВС
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
СПбНИИВС
198320, Санкт-Петербург, г. Красное Село, ул. Свободы, д. 52
E-mail: pisevich.mihail@spcpu.ru

Штаммы *E.coli* BL21(DE3), BL21(DE3) pLysS, Rosetta(DE3) и Rosetta(DE3) pLysS были трансформированы плазмидами pET-29b(+) или pET-24(+) с генами, кодирующими белки niivs_1, niivs_2, niivs_3 и niivs_4 с различными методами оптимизации кодонов. Для полученных штаммов-продуцентов проведено сравнительное исследование эффективности индукции с помощью лактозы и изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид (*ИПТГ).*

Ключевые слова: *индукция, лактоза, изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид, ИПТГ, E.coli, целевой белок.*

Целью данной работы было провести сравнение уровня экспрессии целевых продуктов при помощи двух индукторов: лактозы и изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозида (ИПТГ). В работе рассмотрены два способа индукции экспрессии белка в штамме продуценте *E.coli,* содержащем систему экспрессии белков под контролем промотора бактериофага T7, для ряда рекомбинантных белков.

Каскад взаимодействий белков и субстратов позволяет реализовать для уровня экспрессии белка систему положительной обратной связи с концентрацией индуктора и отрицательной обратной связи с концентрацией глюкозы. Лактозный оперон состоит из трех структурных генов: промотора, оператора и терминатора. В состав оперона входит также ген-регулятор, который кодирует белок-репрессор. Структурные гены лактозного оперона – LacZ, LacY и LacA. LacZ кодируют экспрессию фермента β-галактозидазы, которая расщепляет дисахарид лактозу на глюкозу и галактозу. LacY кодирует фермент β-галактозид пермеазу, мембранный транспортный белок, который переносит лактозу внутрь клетки. LacY кодирует β-галактозид трансацетилазу, фермент, переносящий ацетильную группу от КоА на бета-галактозиды. Механизм его работы хорошо изучен [1-5]. Экспрессия нормального гена-регулятора Lac-оперона проявляется в наработке с постоянной скоростью субъединиц белка-репрессора. Белковая молекула Lac-репрессора состоит из четырех идентичных субъединиц. Репрессор – продукт гена-регулятора – обладает высокой специфичностью к соответствующему операторному локусу. Оператор – это определенный участок последовательности двуцепочечной ДНК, участвующий в регуляции транскрипции структурных генов. Оператор находится между промотором, к которому перед началом транскрипции присоединяется ДНК-зависимая РНК-полимераза, и началом гена LacZ – структурного гена (β-галактозидазы). Присоединившись к оператору, репрессор препятствует транскрипции структурных генов LacZ, LacY и LacA. Таким об-

разом, репрессор является негативным регулятором; в его присутствии подавляется экспрессия LacZ, LacY и LacA-генов. Молекулы белка репрессора, как связанные с оператором, так и находящиеся в свободном виде в цитоплазме, обладают специфичностью к молекулам индуктора – лактозе, поступающей в клетку. Связывание индуктора (лактозы) с молекулой репрессора, прикрепленной к операторному локусу, вызывает конформационные изменения структуры репрессора и приводит к диссоциации его комплекса с ДНК. В некоторых случаях, когда с помощью лактозы нельзя добиться достаточной индукции, ее можно заменить на синтетический изосахарид изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид. *Разница в том, что наличие глюкозы блокирует связывание аллолактозы с белком-репрессором и индукция может пройти только в отсутствии ее, а ИПТГ проникает в клетку и запускает механизм индукции не зависимо от наличия глюкозы.*

В рамках данного исследования были проведены эксперименты для сравнений уровней экспрессии целевого белка при индукции лактозой и ИПТГ.

Материалы и методы

Плазмиды для экспрессии изучаемых целевых белков были заказаны у Twist Bioscience и трансформированы в штаммы *E.coli* методом электропорации. Полученные штаммы приведены в таблице 1. Родительские штаммы *E.coli* были высеяны на чашки Петри с агаризованной LB-средой и инкубировались при температуре 37°С на протяжении 12-16 часов. Затем была собрана обособленная колония и пересеяна в жидкую LB-среду, без использования антибиотика, объемом 4 мл в фальконе 15 мл при той же температуре на 12-16 часов. По истечению времени культивирования был осуществлен пересев культуры в свежую LB-среду объемом 5 мл, до оптической плотности, при длине волны 600 нм, OD_{600}=0,1. Далее культура подращивалась до OD_{600}=0,6-0,9. По достижению данной оптической плотности было отобрано 2 мл культуральной жидкости для создания электрокомпетентных клеток. Проводится процесс центрифугирования при условиях +4 °С, 5000 об/мин, 10 минут. Над осадочная жидкость сливается, а осадок биомассы ресуспендируется в 1 мл стерильной, очищенной холодной воде. После отмывки проводится центрифугирование при условиях +4 °С, 7000 об/мин, 10 минут. Процесс промывки клеток повторяется три раза. На завершающем этапе, после удаления над осадочной жидкости, осадок ресуспендируется в 100 мкл стерильной, очищенной холодной воде. Далее к электрокомпетентным клеткам добавляется 2 нг соответствующей плазмиды. Электрокомпетентные клетки с добавленными плазмидами в объеме 50 мкл перемещаются в охлажденную кювету для электропорации и помещается в электропоратор. Для электропорации была выбрана 0,1 см кювета при 1,8 кВ. Сразу после электропорации в кювету вносится 450 мкл теплой, 37 °С, SOC среды (триптон 20г/л, дрожжевой экстракт 5г/л, NaCl 0,5 г/лl) и аккуратно ресуспендируется. Весь объем ресуспендированных клеток переносится в пробирку объемом 1,5 мл и помещается в инкубатор при 37 °С и 220 об/мин минимум на час. По истечению времени клетки собирают центрифугированием при комнатной температуре на 8000 об/мин в течение 5 минут. Над осадочная жидкость сливается, а клетки ресуспендируются в 100 мкл SOC среды. Подготовленные клетки высеваются на чашку Петри с агаризированной LB-средой при участии селективного маркера, закодированного в плазмиде, в данном случае – канамицин. Каждый штамм высевается на 2 чашки, на первую наносится 5 мкл культуральной жидкости, а на вторую – 50 мкл. Далее равномерно производтся рассев по всей площади чашки с помощью шпателя. Чашки Петри с засеянными трансформированными штаммами инкубируются при 37 °С в течение 12-16 часов. По истечении заданного времени собираются обособленные, ярко выраженные колонии в трех повторностях и пересеваются в LB-среду с селективным маркером на скрининг экспрессии.

Таблица 1 – Использованные штаммы и целевые белки

Штаммы *E.coli*	Целевые белки
Rosetta(DE3)	niivs_4 wt, niivs_1 wt, niivs_2 wt
Rosetta(DE3) pLysS	niivs_3 wt, niivs_4 wt, niivs_1 wt, niivs_2 wt
BL21(DE3)	niivs_4 auto, niivs_2 auto, niivs_2 manual, niivs_3 manual, niivs_1, niivs_4 manual
BL21(DE3) pLysS	niivs_3 auto, niivs_2 manual, niivs_3 manual, niivs_1 manual, niivs_4 manual

Экспрессия белков при автоиндукции лактозой

Для проведения этого анализа была использована LB-среда и подпидка 5052 включающая в себя глюкозу, лактозу и глицерин [4]. Трансформированные колонии в питательной среде объемом 4 мл помещаются в инкубатор на 12-16 часов при 37 °С и 180 об/мин. По истечении времени культивирования измеряется оптическая плотность при длине волны 600 нм и пересевается в автоиндукционную среду, 4 мл LB-среды + 80 мкл 50х подпитки 5052 + селективный маркер, закодированный в плазмиде. Индукция проводится в течение 12-16 часов.

После времени индукции 1 мл клеток собирают центрифугированием при 6000 об/мин в течение 5 минут. Надосадочную жидкость сливают, а биомассу растворяют в эквивалентном объеме лизирующего буфера (10 mM трис, 5 mM ЭДТА, 1% додецилсульфат натиря). Смесь проваривают при 95 °С в течение 5 минут. Клеточный лизат центрифугируют при 12000 об/мин в течение 5 минут. Отбирают 15 мкл надосаточной жидкости и смешивают с 5 мкл 4х Леммли буфера. Пробы наносят на подготовленный 12.5% полиакриламидный гель для проведения электрофореза в полиакриламидном геле в восстанавливающих условиях.

Оценка экспрессии целевых белков была проведена при помощи программного обеспечения ImageLab, посредством которого были оценены интенсивности бендов соответствующих по молекулярной массе целевым белкам. Молекулярная масса целевых белков для niivs_1 – 55,6 кДа, niivs_2 – 55,8 кДа, niivs_3 – 59,5 кДа, niivs_4 – 63,8 кДа.

Результаты анализа методом электрофореза приведены на рис. 1-4.

Экспрессия белков при индукции ИПТГ

Для проведения этого анализа была использована LB-среда и ИПТГ. Колонии выросшие на чашках Петри после трансформации переносятся в 4 мл питательной среды и помещаются в инкубатор на 12-16 часов при 37 °С и 180 об/мин. По истечении времени культивирования измеряется оптическая плотность при длине волны 600 нм и проводится пересев в свежую LB-среду с антибиотиком канамицин. Культура подращивается до OD_{600}=0,8-1,2, отбирается проба 1 мл до индукции, затем индуцируется ИПТГ *до конечной концентрации в растворе 1 мМ и культура помещается в шейкер-инкубатор при 37 °С и 220 об/мин. Индукция проводится в течении 4 часов.* После этого 1 мл клеток собирают центрифугированием при 6000 об/мин в течении 5 минут. Надосадочную жидкость сливается, а биомасса ресуспендируется в эквивалентном объеме лизирующего буфера до оптической плотности OD_{600}=5. Смесь инкубируют при 95 °С в течении 5 минут. Клеточный лизат центрифугируют при 12000 об/мин в течении 5 минут. Отбирают 15 мкл надосадочной жидкости и смешивают с 5 мкл 4х Леммли буфера DTT. Пробы наносят на подготовленный 12.5% полиакриламидный гель для проведения электрофореза в полиакриламидном геле в восстанавливающих условиях.

Полученные результаты приведены на рис. 5-10.

Результаты и обсуждение

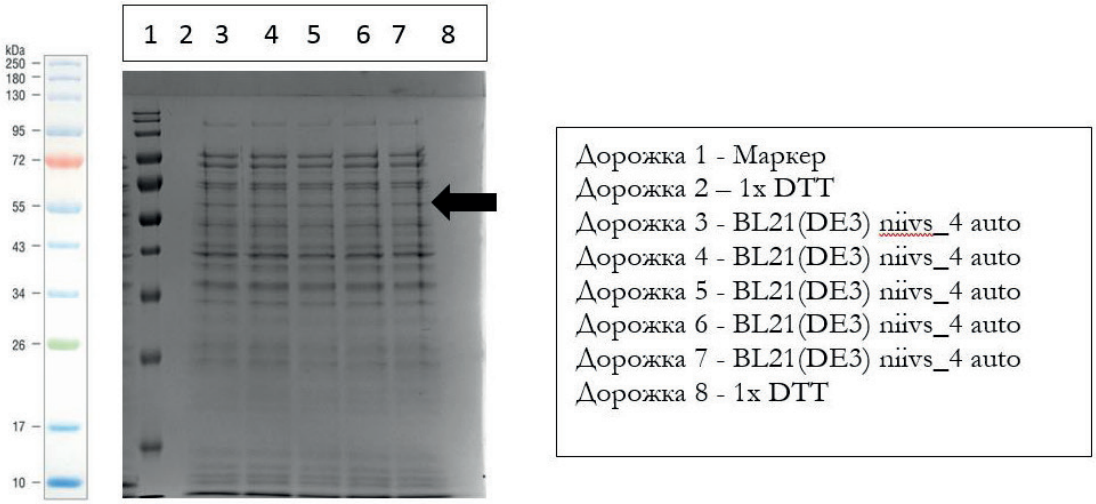


Рисунок 1. Экспрессия целевого белка BL21(DE3) niivs_4 auto с помощью лактозы

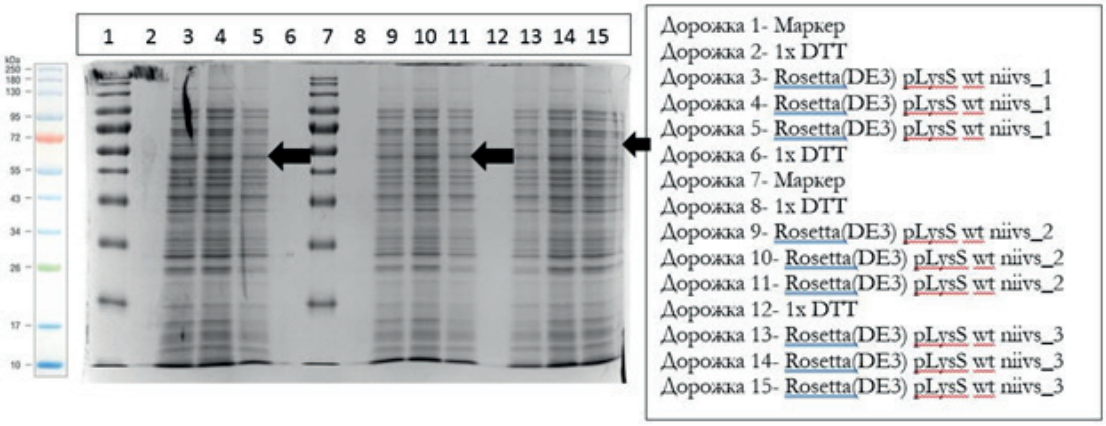


Рисунок 2. Экспрессия целевого белка Rosseta(DE3) pLysS wt niivs_1, niivs_2, niivs_3 с помощью лактозы

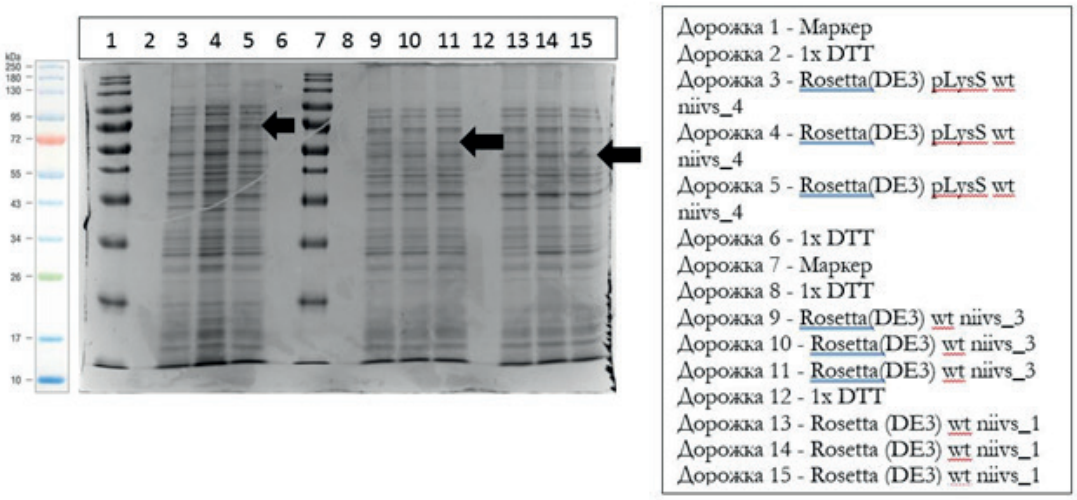


Рисунок 3. Экспрессия целевого белка Rosseta(DE3) pLysS wt niivs_4, Rosetta(DE3) wt niivs_3, niivs_1 с помощью лактозы

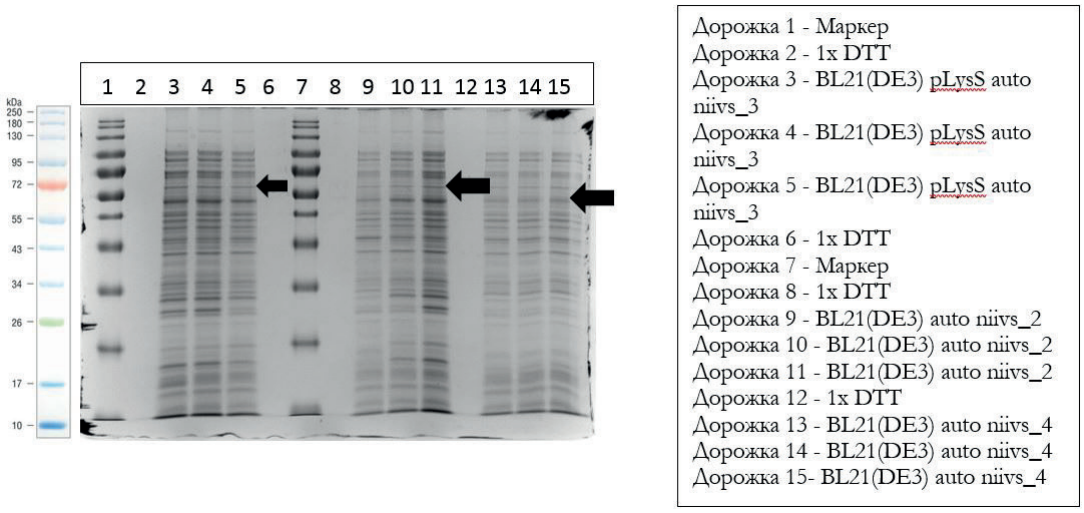


Рисунок 4. Экспрессия целевого белка BL21(DE3) pLysS auto niivs_3, BL21(DE3) auto niivs_2, auto niivs_4 с помощью лактозы

По результатам анализа SDS-page можно увидеть слабую экспрессию целевого белка. Лучший результат показали штаммы Rosetta(DE3) pLysS wt, продуцирующий белок niivs_4; Rosetta(DE3) wt, продуцирующий белок niivs_1; Rosetta(DE3) pLysS wt, продуцирующий белок niivs_1; Rosetta(DE3) pLysS wt, продуцирующий белок niivs_2. Видно, что в трех из четырех штаммов с наилучшей экспрессией белка имеется плазмида pLysS и они дикого типа. Ожидаемая индукция исследуемых штаммов с помощью лактозы не была достигнута.

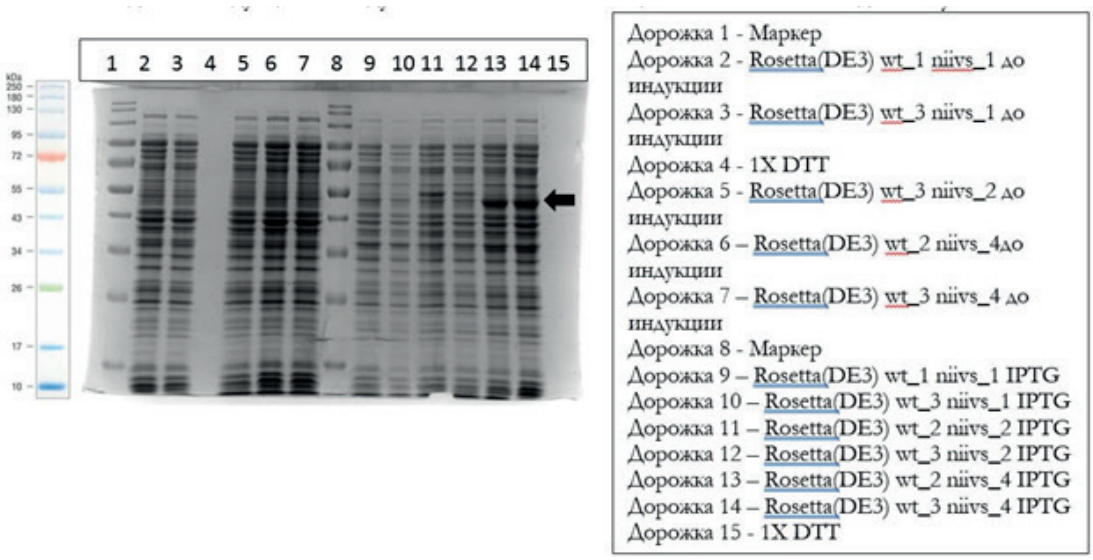
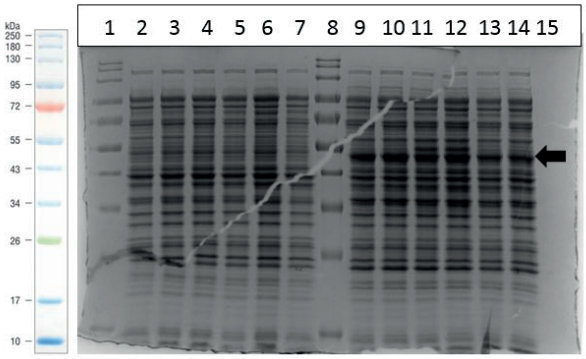
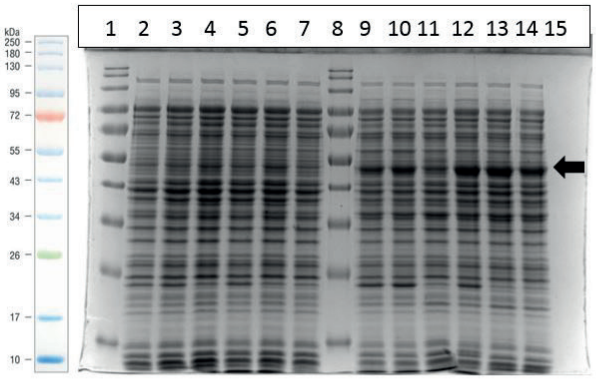


Рисунок 5. Экспрессия целевого белка Rosseta(DE3) wt niivs_1, niivs_2, niivs_3 до и после индукции с помощью IPTG



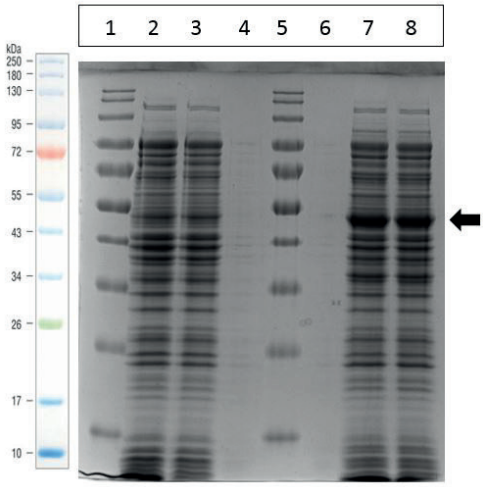
Дорожка 1 – Маркер
Дорожка 2 – Rosetta(DE3) pLysS wt_1 niivs_1 до индукции
Дорожка 3 – Rosetta(DE3) pLysS wt_2 niivs_1 до индукции
Дорожка 4 – Rosetta(DE3) pLysS wt_2 niivs_2 до индукции
Дорожка 5 – Rosetta(DE3) pLysS wt_1 niivs_2 до индукции
Дорожка 6 – Rosetta(DE3) pLysS wt_1 niivs_3 до индукции
Дорожка 7 – Rosetta(DE3) pLysS wt_3 niivs_3 до индукции
Дорожка 8 – Маркер
Дорожка 9 – Rosetta(DE3) pLysS wt_1 niivs_1 IPTG
Дорожка 10 - Rosetta(DE3) pLysS wt_2 niivs_1 IPTG
Дорожка 11 - Rosetta(DE3) pLysS wt_2 niivs_2 IPTG
Дорожка 12 - Rosetta(DE3) pLysS wt_1 niivs_2 IPTG
Дорожка 13 – Rosetta(DE3) pLysS wt_1 niivs_3 IPTG
Дорожка 14 - Rosetta(DE3) pLysS wt_3 niivs_3 IPTG
Дорожка 15 - 1X DTT

Рисунок 6. Экспрессия целевого белка Rosseta(DE3) pLysS wt niivs_1, niivs_2, niivs_3 до и после индукции с помощью IPTG



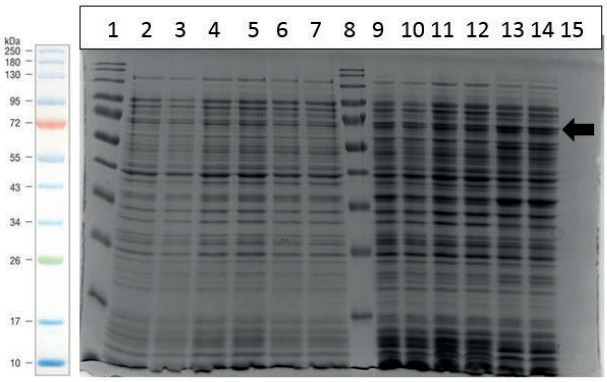
Дорожка 1 – Маркер
Дорожка 2 – Rosetta(DE3) pLysS wt_2 niivs_4 до индукции
Дорожка 3 – Rosetta(DE3) pLysS wt_3 niivs_4 до индукции
Дорожка 4 – BL21(DE3) auto_1 niivs_2 до индукции
Дорожка 5 - BL21(DE3) auto_2 niivs_2 до индукции
Дорожка 6 – BL21(DE3) auto_1 niivs_4 до индукции
Дорожка 7 – BL21(DE3) auto_3 niivs_4 до индукции
Дорожка 8 – Маркер
Дорожка 9 – Rosetta(DE3) pLysS wt_2 niivs_4 - IPTG
Дорожка 10 – Rosetta(DE3) pLysS wt_3 niivs_4 IPTG
Дорожка 11 - BL21(DE3) auto_1 niivs_2 IPTG
Дорожка 12 - BL21(DE3) auto_2 niivs_2 IPTG
Дорожка 13 – BL21(DE3) auto_1 niivs_4 IPTG
Дорожка 14 - BL21(DE3) auto_3 niivs_4 IPTG
Дорожка 15 - 1X DTT

Рисунок 7. Экспрессия целевого белка Rosseta(DE3) pLysS wt niivs_4, BL21(DE3) auto niivs_2, niivs_4 до и после индукции с помощью IPTG



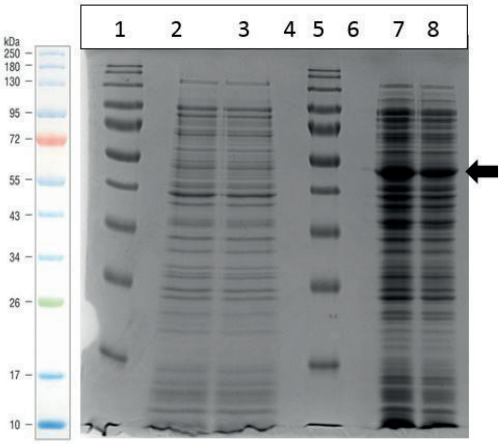
Дорожка 1 – Маркер
Дорожка 2 – BL21(DE3) pLysS auto_1 niivs_3 до индукции
Дорожка 3 – BL21(DE3) pLysS auto_2 niivs_3 до индукции
Дорожка 4 –1X DTT
Дорожка 5 - Маркер
Дорожка 6 –1X DTT
Дорожка 7 – BL21(DE3) pLysS auto_1_niivs_3 IPTG
Дорожка 8 – BL21(DE3) pLysS auto_2 niivs_3 IPTG

Рисунок 8. Экспрессия целевого белка BL21(DE3) pLysS auto niivs_3, до и после индукции с помощью IPTG



Дорожка 1 – Маркер
Дорожка 2 – BL21(DE3) man_2 niivs_1 до индукции
Дорожка 3 – BL21(DE3) man_3 niivs_1 до индукции
Дорожка 4 – BL21(DE3) man_1 niivs_2 до индукции
Дорожка 5 - BL21(DE3) man_3 niivs_2 до индукции
Дорожка 6 – BL21(DE3) man_1 niivs_3 до индукции
Дорожка 7 – BL21(DE3) man_2 niivs_3 до индукции
Дорожка 8 – Маркер
Дорожка 9 – BL21(DE3) man_2 niivs_1 IPTG
Дорожка 10 - BL21(DE3) man_3 niivs_1 IPTG
Дорожка 11 - BL21(DE3) man_1 niivs_2 IPTG
Дорожка 12 - BL21(DE3) man_3 niivs_2 IPTG
Дорожка 13 – BL21(DE3) man_1 niivs_3 IPTG
Дорожка 14 - BL21(DE3) man_2 niivs_3 IPTG
Дорожка 15 - 1X DTT

Рисунок 9. Экспрессия целевого белка BL21(DE3) man niivs_1, niivs_2, niivs_3 до и после индукции с помощью IPTG



Дорожка 1 – Маркер
Дорожка 2 – BL21(DE3) pLysS man_1 niivs_2 до индукции
Дорожка 3 – BL21(DE3) pLysS man_3 niivs_2 до индукции
Дорожка 4 –1X DTT
Дорожка 5 - Маркер
Дорожка 6 –1X DTT
Дорожка 7 – BL21(DE3) pLysS man_1 niivs_2 IPTG
Дорожка 8 – BL21(DE3) pLysS man_3 niivs_2 IPTG

Рисунок 10. Экспрессия целевого белка BL21(DE3) pLysS man niivs_2 до и после индукции с помощью IPTG

Результаты анализа электрофореграмм показали ярко выраженную экспрессию целевого белка. Наименее выраженный результат индукции виден у Rosetta(DE3) wt продуцирующий белок niivs_1 и niivs_2. Наилучшие результаты показали штаммы Rosetta(DE3) pLysS wt продуцирующий белок niivs_1 и niivs_2; BL21(DE3) auto продуцирующий белок niivs_2 и niivs_4; BL21(DE3) pLysS auto продуцирующий белок niivs_3; BL21(DE3) pLysS man продуцирующий белок niivs_2. Заметно, что почти все штаммы-продуценты показали хороший уровень индукции. Ожидаемая индукция исследуемых штаммов с помощью ИПТГ была достигнута.

Сравнение экспрессии белков с помощью индукции лактозой и ИПТГ

Был проведен сравнительный анализ экспресии целевого белка штаммов-продуцентов BL21(DE3), Rosetta(DE3) pLysS, BL21(DE3) pLysS, при помощи двух индукторов. Результаты проведенных экспериментов показали, что при выбранных условиях наилучший результат показывает индукция при помощи ИПТГ.

Таблица 2 – Сравнительный анализ экспрессии целевого продукта в штаммах-продуцентах *E.coli*

Штамм	Продукт	Оценка индукции при лактозе	Оценка индукции при IPTG
BL21(DE3) auto	Niivs_4	+	+++
	Niivs_2	+-	+++
Rosetta(DE3) pLysS wt	Niivs_1	++	+++
	Niivs_2	+	+++
	Niivs_3	+-	+++
	Niivs_4	+	+++
BL21(DE3) pLysS auto	Niivs_3	+	+++
Rosetta(DE3) wt	Niivs_1	+-	+
	Niivs_2	нп	+
	Niivs_3	+	нп
	Niivs_4	нп	+++
BL21(DE3) man	Niivs_1	нп	++
	Niivs_2	нп	++
	Niivs_3	нп	++
BL21(DE3) pLysS man	Niivs_2	нп	+++

Где (+-) – минимальная индукция; (+) – индукция прошла, но экспрессия белка минимальна; (++) – средний, ожидаемый результат индукции; (+++) – результат выше ожидаемого.

Заключение

Исследование показало невысокую, но детектируемую экспрессию целевых белков при использовании лактозы в качестве индуктора. При использовании ИПТГ индукция прошла значительно лучше. Несмотря на то, что индукция с помощью ИПТГ показывает лучшие результаты, стоит проверить разные условия культивирования для оптимизации схемы индукции лактозой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Practical protocols for production of very high yields of recombinant proteins using Escherichia coli / A. Sivashanmugam [et al.] // Protein Sci. 2009. Vol. 18(5). P. 936-48 DOI: 10.1002/pro.102

2. Process strategies to improve heterologous protein production in Escherichia coli under lactose or IPTG induction / B.V. Kilikian [et al.] // Process Biochemistry. 2000. N 35. P.1019–1025

3. Studier F. W. Protein production by auto-induction in high-density shaking cultures// Protein Expression and Purification. 2005. Vol. 41(1). P. 207-234

4. A self-inducible heterologous protein expression system in Escherichia coli / L. Briand [et al.] //Scientific Reports. 2016. N 6. P. 33037. doi: 10.1038/srep33037

5. Optimization of the overexpression of glutamate mutase S component under the control of T7 system by using lactose and IPTG as the inducers / Yi-Ping Weng [et al.] // Enzyme and Microbial Technology. 2006. N 38. P. 465–469

SUMMARY

ANALYSIS OF THE EXPRESSION OF THE TARGET PRODUCT OF E.COLI PRODUCING STRAINS USING LACTOSE AND ISOPROPYL- β-D-1-THIOGALACTOPYRANOSIDE

Pisevich M.M., M.S. 1 years, **Safi A.S.**

Head: **Rabdano S.O.**, PhD, Head of the Center for Research and Development of SPbNIIVS

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

SPbNIIVS

52, Svobody st., Krasnoe Selo, St. Petersburg, 198320, Russian Federation

E-mail: pisevich.mihail@spcpu.ru

E. coli strains BL21(DE3), BL21(DE3) pLysS, Rosetta(DE3) and Rosetta(DE3) pLysS were transformed with plasmids pET-29b(+) or pET-24(+) with genes encoding proteins niivs_1, niivs_2, niivs_3 and niivs_4 with different codon optimization methods. For the obtained strains a comparative study of the effectiveness of induction with lactose and isopropyl-β-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) was carried out.

Keywords: *induction, lactose, isopropyl-β-D-1-thiogalactopyranoside, IPTG, E.coli, target protein.*

REFERENCES

1. Practical protocols for production of very high yields of recombinant proteins using Escherichia coli / A. Sivashanmugam [et al.] // Protein Sci. 2009. Vol. 18(5). P. 936-48 DOI: 10.1002/pro.102
2. Process strategies to improve heterologous protein production in Escherichia coli under lactose or IPTG induction / B.V. Kilikian [et al.] // Process Biochemistry. 2000. N 35. P.1019–1025
3. Studier F. W. Protein production by auto-induction in high-density shaking cultures// Protein Expression and Purification. 2005. Vol. 41(1). P. 207-234
4. A self-inducible heterologous protein expression system in Escherichia coli / L. Briand [et al.] //Scientific Reports. 2016. N 6. P. 33037. doi: 10.1038/srep33037
5. Optimization of the overexpression of glutamate mutase S component under the control of T7 system by using lactose and IPTG as the inducers / Yi-Ping Weng [et al.] // Enzyme and Microbial Technology. 2006. N 38. P. 465–469

УДК 577.218

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ CRISPR/CAS9 ДЛЯ СОЗДАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Пятиизбянцев Т.А., студ. маг. 2 курса
(ORCID: 0000-0003-1837-189X, Science ResearcherID: ABN-8846-2022)
Руководитель: **Мадера Д.А.**, PhD, ст. преп.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: tim.fivehuts@gmail.com

В статье рассмотрены этапы получения модельной клеточной линии U87 MG с loss-of-function мутацией в локусе гена *SMN1* путём получения генетических конструкций для проведения модификации клеточного генома, и возможности использования данной клеточной линии в качестве модели при создании и исследовании препаратов для лечения спинальной мышечной атрофии.

Ключевые слова: *CRISPR/CAS9, SMN1/2, редактирование генома, генетическая конструкция, плазмидная ДНК,* sgRNA*, спинальная мышечная атрофия.*

CRISPR/Cas9 или «биологические ножницы» – не единственный, но самый удобный из существующих сегодня инструментов редактирования генома, выделенный из Streptococcus pyogenes (SpCas9). Технология позволяет удалять ненужные гены из ДНК любых организмов, вставлять на их место другие, а также мутировать гены направленно или вносить в них случайные мутации [1,2].

Важнейшей проблемой при изучении многих наследственных заболеваний человека является недостаток адекватных модельных систем, которые охватывали бы весь спектр наблюдаемых явлений на молекулярном и клеточном уровнях. Одно из решений данной проблемы заключается в получении клеточных моделей данных заболеваний [2].

С помощью CRISPR/Cas9 можно получить клеточные модельные системы различных наследственных заболеваний человека нокаутированием гена-интереса. CRISPR/Cas – бактериальный аналог адаптивного иммунитета, нашедший широкое применение в редактировании генома. Принцип его работы заключается в распознавании чужеродной (фаговой, плазмидной) ДНК комплексом Cas-белков и так называемой crRNA за счёт комплементарности последней некоторому участку чужеродной ДНК. CrRNA транскрибируется с CRISPR-кассеты, содержащей в себе фрагменты фаговых ДНК, с которыми уже сталкивалась данная клетка. За встраивание в CRISPR-кассету новых фрагментов также отвечают Cas-белки, кодируемые в том же локусе. Для того, чтобы crRNA могла взаимодействовать с Cas-нуклеазой, ей необходима ещё одна молекула: трансактивирующая РНК (tracrRNA), создающая интерфейс взаимодействия между Cas белком и crRNA. Для удобства использования, иногда crRNA и tracrRNA искусственно соединяют в одну молекулу РНК, называемую в этом случае гидовой РНК (sgRNA). Важную роль в распознавании цели играет PAM – консервативная последовательность, находящаяся в целевой ДНК со стороны 3'-конца спейсера и необходимая для различения чужеродной ДНК и собственной CRISPR-кассеты: в CRISPR-кассету встраиваются фрагменты, примыкающие к PAM в исходной ДНК, но в самой CRISPR-кассете PAM отсутствует [3].

Поэтому целью данной работы является – получение клеточной модели U87 с точечной мутацией в локусе гена SMN1 для моделирования отдельных аспектов спинальной мышечной атрофии (spinal muscular atrophy, SMA). SMA – это генетическое заболевание, поражающее центральную нервную систему, периферическую нервную систему и произвольные движения мышц (скелетных мышц). SMA включает потерю нервных клеток, называемых моторными нейронами в спинном мозге, и классифицируется как заболевание моторных нейронов [4,5].

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

1. Подбор последовательности праймеров для кодирования sgRNA;
2. Получение рабочей плазмидной ДНК;

3. Трансформирование плазмид в компетентные клетки *E. coli*;
4. Трансфекция полученной плазмиды в клетки U87;
5. Получение моноклонов U87 проточной цитофлуориметрией;
6. Проверка нокаутирования гена *SMN1* с помощью RT-PCR;
7. Верификация клеточной линии методом ИФА.

Материалы и методы

В качестве целевого гена для редактирования был выбран ген *SMN1* (ген выживаемости моторных нейронов 1), повреждение которого является причиной развития спинальной мышечной атрофии. В экзонах исследуемого гена были выбраны три участка, примыкающих к последовательности PAM.

Для экспрессии нуклеазы в клетках U-87 MG были получены три генетических конструкций, содержащих ген *SpCas9*.

Клонирование sgRNA осуществляли посредством встраивания последовательностей sgRNA, полученных *de novo*, в вектор, содержащий ген *SpCas9*, связанный через элемент T2A с геном e*GFP*, и остальные необходимые элементы, с помощью рестриктазно-лигазного метода. Полученные конструкции трансформировались в клетки *Escherichia coli*, после чего клетки, несущие плазмиды, отбирали по устойчивости к ампициллину, ген устойчивости к которому находился в генетических конструкциях. Правильность последовательностей полученных плазмид подтверждали секвенированием по Сэнгеру, после чего осуществляли их наработку в необходимом для трансфекции клеток U-87 MG количестве.

Для проведения трансфекции клетки U-87 MG за 6 часов до начала трансфекции засевали в 12-луночный планшет с плотностью 50 000 кл/см^2. Клетки были транзиентно трансфицированы 750 нг плазмиды с 1,5 мкл Lipofectamine 3000 и 1,75 мкл реагента P3000 на лунку. В качестве флуоресцентного маркера для оценки эффективности трансфекции методом проточной цитометрии использовали усиленный зеленый флуоресцентный белок (eGFP). Через 72 часа после трансфекции клетки собирали и осуществляли выделение геномной ДНК (гДНК) с помощью набора DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN) согласно инструкции производителя.

Помимо общего пула клеток после трансфекции, для увеличения количества клеток, экспрессирующих нуклеазу SpCas9, проводили обогащение клеток, экспрессирующих GFP с использованием флуоресцентно-активированной сортировки клеток (FACS) с помощью клеточного сортера. В данном случае клетки через 72 часа после трансфекции ресуспендировали в среде EMEM и сортировали, после чего из них также выделяли геномную ДНК.

Полученную гДНК далее использовали в качестве матрицы для ПЦР-амплификации участков гена *SMN1*, содержащих целевые сайты нуклеазы SpCas9, в 2 этапа (nested PCR). Двухстадийная вариация ПЦР необходима для снижения количества неспецифичных продуктов реакции после амплификации с гДНК. Для обеспечения наибольшей точности амплификации использовали Q5 ДНК-полимеразу с технологией «горячего старта» (NEB).

Гомодуплексные (состоящие из двух полностью комплементарных цепей) продукты ПЦР денатурировали и регибридизировали с использованием понижающих условий отжига для получения гомо – и гетеродуплексов (образовывающихся в случае, если геномная матрица подверглась редактированию). Смесь дуплексов обрабатывали T7 эндонуклеазой I (NEB), расщепляющей только участки ДНК с некомпементарными основаниями, в течение 30 мин при +-37°C. Реакцию останавливали, используя 1,5 мкл 0,25 M ЭДТА, и продукты анализировали электрофорезом в 3% агарозном геле (90 В, 90 мин).

Расчет теоретического количества разрезанной фракции (fraction cleaved expected) определяли по формуле:

$$\text{fraction cleaved expected} = 2 \times (\frac{\%}{100}) \times (1 - (\frac{\%}{100})$$

где % – доля образца с последовательностью отличающуюся от исследуемой на несколько нуклеотидных пар в пробе в пробе.

Расчет относительного количества генных модификаций (% gene modification) производили по формуле:

$$\%\ \text{gene modification} = 100 \times (1 - (1 - \text{fraction cleaved})^{0.5})$$

Разрезанную фракцию (fraction cleaved) находили по формуле:

$$\text{fraction cleaved} = \frac{\text{molar ratio 2}}{\text{molar ratio 1} + \text{molar ratio 2}}$$

$$\text{molar ratio 1} = \frac{\text{Intensity 1}}{\text{size 1}}$$

$$\text{molar ratio 2} = \frac{\text{Intensity 2}}{\text{size 2}}$$

где molar ratio 1 – молярное соотношение, рассчитанное для мажорного бенда; molar ratio 2 – молярное соотношение, рассчитанное для минорного бенда; Intensity 1 – пиксельное значение площади пика мажорного бенда; Intensity 2 – пиксельное значение площади пика специфичного бенда; size 1 – размер мажорного бенда, составляет 1013 bp (для Sp1 и Sp2) и 1101 bp (для Sp3); size 2 – размер специфичного бенда, составляет 443 bp (для Sp1 и Sp2) и 401 bp (для Sp3).

Результаты и обсуждение

В данном исследовании были подобраны 3 варианта PAM-последовательности sgRNA для SpCAS9: Sp1 – CGG; Sp2 – AGG и Sp3 – TGG, по которым были найдены последовательности в *SMN1* гене человека в 1, 1 и 4 экзонах соответственно (табл. 1).

Таблица 1 – Нуклеотидные последовательности в гене человека *SMN1*

№	Exon	crRNA/PAM
1	1	GATTCCGTGCTGTTCCGGCG CGG
2	1	GTGCTGTTCCGGCGCGGCAC AGG
3	4	GTTGTGGTTTACACTGGATA TGG

После встройки нуклеотидных последовательностей рестриктазно-лигазным методом в коммерческие плазмиды ЗАО «БИОКАД» была произведена трансформация компетентных *Escherichia coli*, скрининг клонов с помощью ПЦР и подтверждение последовательности положительных клонов секвенированием. (рис. 1).

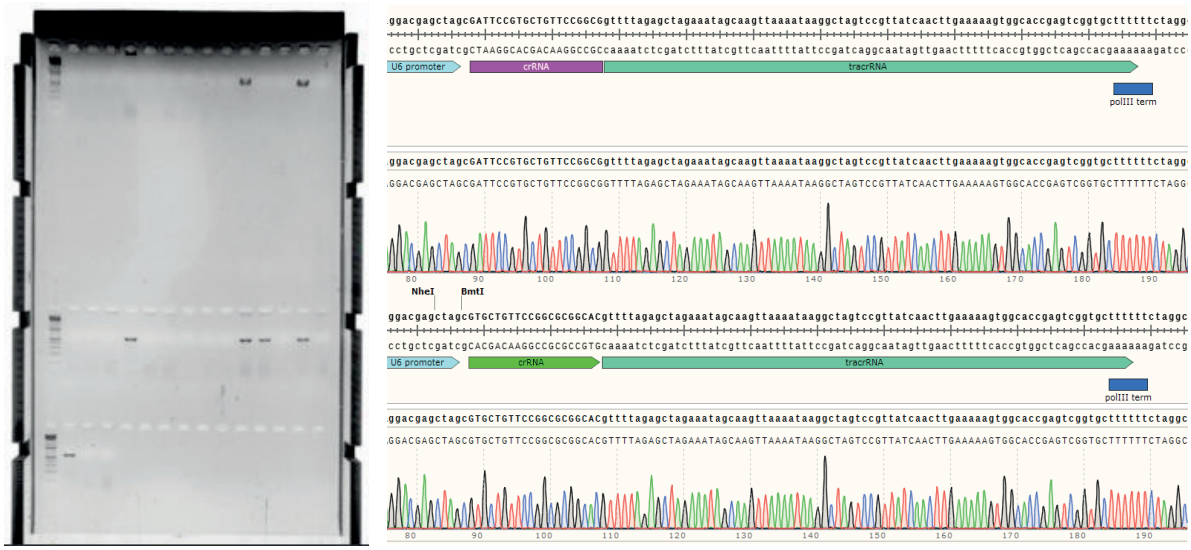


Рисунок 1. Скрининг трансформированных E. coli (слева) и секвенирование плазмидных ДНК Sp1, Sp2 и Sp3 (справа сверху-вниз, соответственно)

Затем отобранными плазмидными ДНК проводилась трансфекция клеточных линий U-87 реагентом Lipofectamine® 3000. Удовлетворительным был результат трансфекции с эффективностью от 10 и более процентов методом проточной цитометрии (рис. 2).

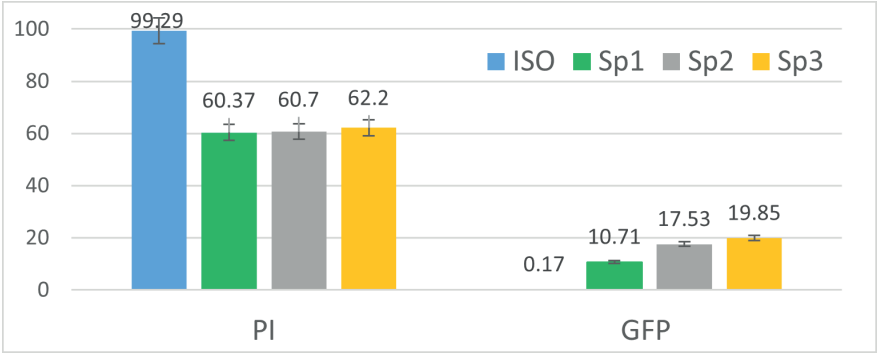


Рисунок 2. Эффективность трансфекции методом проточной цитометрии (PI – жизнеспособность клеток после метода, GFP – эффективность трансфекции)

Так как эффективность трансфекции оценивается по GFP+ клеткам, данная оценка не позволяет получить информацию по эффективности модификации генома, так как встройка плазмиды в клетку может сопровождаться свечением без необходимого нокаута гена *SMN1*. Поэтому для определения процента модифицированных локусов после трансфекции U-87 MG (клеточной линии глиобластом, клетки нейронального ряда) в контрольном локусе SMN, возникающих в результате репарации двуцепочечных разрывов в геноме, необходимо было выделить геномную ДНК и провести анализ с помощью T7 Эндонуклеазы I (T7EI). С помощью этого анализа можно выявлять долю молекул-гетеродуплексов с некомплементарными участками, крестообразных структур ДНК, возникающих в результате редактирования генома и внесения случайных мутаций в целевую последовательность.

На первом этапе анализа необходимо получить апмликоны геномной ДНК, содержащей целевой локус. Это делали с помощью гнездовой ПЦР (Nested PCR), в трех повторностях, а далее проводили анализ T7EI с полученными фрагментами при определенных концентрациях и условиях (рис. 3).

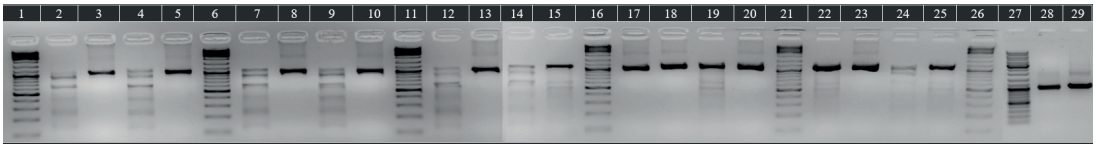


Рисунок 3. Электрофорез после обработки фрагментов T7EI (чередование исследуемого образца с обработкой T7EI и без обработки)

Денситометрический анализ цифровых фотографий гелей был проведен при помощи программного обеспечения ImageJ, посредством которого были определены значения интенсивности (Intensivity) окраски бендов выделенных областей интереса на изображениях. В область интереса включаются мажорный бенд, соответствующий изначальному размеру фрагмента, и один из бендов интереса, образованный в результате специфичного действия T7 эндонуклеазы (рис. 4).

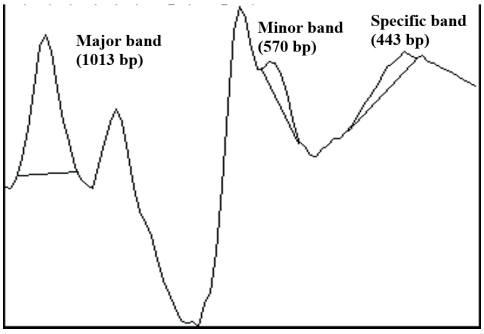


Рисунок 4. Пример измерения интенсивности Sp2.2 при помощи программного обеспечения ImageJ

Для всех образцов, обработанных T7 эндонуклеазой, при электрофорезе в агарозном геле наблюдаются дополнительные бэнды, размеры которых как соответствуют предусмотренным дизайном эксперимента продуктам активности T7EI, так и нет. В негативных контролях присутствуют неспецифичные бенды, которые не были предсказаны теоретически. Скорее всего, они появились из-за того, что клетки были гетерогенными (т. е. содержали более одного варианта локуса *SMN1*), поэтому расчёт проводился, исключая из исследуемых образцов неспецифичные бенды, которые находились, как и в образцах, так и в негативном контроле. Гетерогенность также могла возникнуть из-за различий в последовательностях между *SMN1* и *SMN2*, оба из которых могут амплифицироваться с использованными праймерами. Количество копий *SMN1* и *SMN2* в клетках U-87 MG неизвестно.

Таблица 2 – Интенсивность бендов на электрофореграмме

№ПЦР	Sp 1.1	Sp 1.2	Sp 1.3	Sp 2.1	Sp 2.2	Sp 2.3	Sp 3.1	Sp 3.2	Sp 3.3
Major band	309	2684	2581	906	2110	3429	4951	9447	10336
Specific band	104	876	677	501	500	477	183	251	261

Таблица 3 – Данные расчета относительного количества генных модификаций, детектируемых T7EI

Исследуемый образец	molar ratio 1	molar ratio 2	fraction cleaved	% gene modification
Sp 1.1	0,30	0,25	0,45	26,10
Sp 1.2	2,64	2,1	0,44	25,59
Sp 1.3	2,54	1,65	0,39	22,10
Sp 2.1	0,89	1,22	0,57	34,99
Sp 2.2	2,08	1,21	0,36	20,58
Sp 2.3	3,38	1,16	0,25	13,73
Sp 3.1	4,49	0,45	0,092	4,72
Sp 3.2	8,58	0,62	0,067	3,46
Sp 3.3	9,38	0,65	0,064	3,29

Расчетные показатели доли разрезанной фракции (fraction cleaved) и относительного количества генных модификаций обработанных T7EI образцов доказывают, что все плазмиды, используемые для трансфекции клеток, успешно экспрессируют белок SpCas9 и гидовые РНК, а также что эти компоненты успешно вносят разрывы в целевом локусе, которые после репарации превращаются в мутации.

Процент внесенных модификаций после проведенной трансфекции:
ΔGM % (Sp1) = 24,60 %
ΔGM % (Sp2) = 23,10 %
ΔGM % (Sp3) = 3,82 %.

Заключение

На основании вышесказанного можно сделать вывод, что sgRNA из плазмиды Sp3 показала самую малую эффективность при внесении генетических модификаций в клетки U-87, в дальнейших исследованиях она принимать участие не будет. Остальные плазмиды пригодны для модификации локуса *SMN1* и будут взяты в работу для получения модифицированных клеток по гену *SMN1* – модели генетического заболевания SMA.

Работа выполнена при финансовой поддержке ЗАО «БИОКАД».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.37.00 Прикладная генетическая инженерия
76.03.39 Медицинская генетика

ЛИТЕРАТУРА

1. Системы редактирования геномов TALEN и CRISPR/Cas инструменты открытий / А. А. Немудрый [и др.] // Acta Naturae (русскоязычная версия). 2014. №3 (22). С. 20-42.
2. A TALEN genome editing system for generating human stem cell-based disease models / Ding Q. [et al.] // Cell Stem Cell. 2013. Vol. 12(2). P. 238—251. DOI: 10.1016/j.stem.2012.11.011
3. Increasing the efficiency of precise genome editing with CRISPR-Cas9 by inhibition of nonhomologous end joining / Maruyama T. [et al.] // Nature biotechnology. 2015. Vol. 33(5). P. 538. DOI: 10.1038/nbt.3190
4. Heidenreich M., Zhang F. Applications of CRISPR–Cas systems in neuroscience // Nature Reviews Neuroscience. 2016. Vol. 17(1). P. 36. DOI: 10.1038/nrn.2015.2
5. CRISPR/Cas9-mediated heterozygous knockout of the autism gene CHD8, characterization of its transcriptional networks in neurodevelopment / Wang P. [et al.] // Mol. Autism. 2015. Vol. 6. P. 55. DOI: 10.1186/s13229-015-0048-6

SUMMARY

USING CRISPR/CAS9 TECHNOLOGY TO CREATE CELLULAR MODELS OF GENETIC DISEASES

Pyatizbyantsev T.A., 2nd year undergraduate
(ORCID: 0000-0003-1837-189X; Science ResearcherID : ABN-8846-2022)
Academic advice: **Madera D.A.**, PhD, Senior Lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: tim.fivehuts@gmail.com

The article discusses stages required to obtain a model cell line based on U87 GM cells with a point mutation in the *SMN1* gene locus. A functional plasmid DNA suitable for genetic modification of the isolated DNA was constructed, and its efficiency in *SMN1* mutagenesis was demonstrated. These data opens a possibility of using this cell line in the production and research of new drugs for spinal muscular atrophy.

Keywords: *CRISPR/CAS9, SMN1/2, plasmid DNA, sgRNA, spinal muscular atrophy.*

REFERENCES

1. Valetdinova K. R., Medvedev S. P., Zakian S. M. Genome editing systems TALEN and CRISPR/Cas discovery tools / A. A. Nemudry [et al.] // Acta Naturae (Russian version). 2014. N 3(22). P. 20-42. (in Russian)
2. A TALEN genome editing system for generating human stem cell-based disease models / Ding Q. [et al.] // Cell Stem Cell. 2013. Vol. 12(2). P. 238—251. DOI: 10.1016/j.stem.2012.11.011
3. Increasing the efficiency of precise genome editing with CRISPR-Cas9 by inhibition of nonhomologous end joining / Maruyama T. [et al.] // Nature biotechnology. 2015. Vol. 33(5). P. 538. DOI: 10.1038/nbt.3190
4. Heidenreich M. Applications of CRISPR–Cas systems in neuroscience / Heidenreich M., Zhang F. // Nature Reviews Neuroscience. 2016. V. 17(1). P. 36. DOI: 10.1038/nrn.2015.2
5. CRISPR/Cas9-mediated heterozygous knockout of the autism gene CHD8, characterization of its transcriptional networks in neurodevelopment / Wang P. [et al.] // Mol. Autism. 2015. Vol. 6. P. 55. DOI: 10.1186/s13229-015-0048-6

УДК 57.021

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКА SMN

Роденков Е.М., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Кожемякина Н.В.**, канд. биол. наук. доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация,
руководитель отдела биологических исследований «БИОКАД»
198515, Санкт-Петербург, п. Стрельна, ул. Связи, д. 34 лит. а, Российская Федерация
Зонис Ю.А., руководитель лаборатории перспективных биоисследований отдела биологических исследований «БИОКАД»
198515, Санкт-Петербург, п. Стрельна, ул. Связи, д. 34 лит. а, Российская Федерация
E-mail: rodenkovjj@mail.ru

Снижение экспрессии SMN белка приводит к развитию спинальной мышечной атрофии (СМА). Целью данного исследования является разработка функционального теста SMN белка, который позволил бы оценить качество продукта генной терапии СМА. В результате проведенного исследования мы показали, что трансфекция клеточных линий Hela, MCF-7 и HepG2 малой интерферирующей РНК к гену SMN1 (siSMN1) приводит к значительному снижению экспрессии белка SMN, то есть позволяет смоделировать заболевание СМА. Мы также показали, что экспрессия SCP и жизнеспособность клеток снижались в модельных клеточных линиях после нокдауна SMN1, и разработали стабильные аналитические тесты для измерения этих параметров.

Ключевые слова: *СМА, генотерапевтические препараты, биологическая активность, SMN белок, SCP белок, антипролиферативная активность.*

Генотерапевтические препараты позволяют лечить редкие заболевания, большинство которых вызвано дефектом одного гена. Одна из наиболее частых причин детской смертности, вызванной наследственными заболеваниями – спинальная мышечная атрофия (СМА) [1].

СМА – это моногенное нейродегенеративное заболевание. СМА возникает при недостатке белка SMN (Survival of Motoneuron) в результате делеции или мутации гена SMN1. Однако у всех людей есть почти идентичный ген SMN2, который кодирует белок SMNΔ7. SMN2 отличается от SMN1 заменой цитозина на тимин в экзоне 7. Это приводит к вырезанию 7 экзона во время сплайсинга [2].

В целом ген SMN2 способен скомпенсировать только 10-15% белка SMN, что в действительности недостаточно для выживаемости моторных нейронов [1].

SMN белок – это многофункциональный белок, экспрессирующийся во всех типах клеток. SMN белок участвует в сборке малых ядерных рибонуклеопротеиновых комплексов (snRNP комплексов), которые регулируют этап реализации генетической информации – созревание пре-мРНК [3].

SMN белок в комплексе с другими белками увеличивает ассоциацию комплекса RAD51-оцДНК (одноцепочечная ДНК) с гетерологичной дцДНК (двуцепочечной ДНК) при репарации 2-ух цепочечных разрывов. В результате снижения экспрессии SMN белка начинается накопление 2-ух цепочечных разрывов в клетке, маркером которых служит увеличение уровня фосфорилирования гистона H2AX [4].

Также уровень SMN белка может влиять на экспрессию белков пути mTOR, ROCK белка, количество телец Кахаля в клетке [4].

Понимание функций белка SMN необходимо, в частности, для разработки функциональных тестов при оценке биологической активности генотерапевтических препаратов согласно рекомендациям регуляторных органов. По возможности все тесты необходимо проводить в in vitro условиях в соответствии с принципами 3R (Reduction – снижение использования животных, Refinement – улучшение условий при использовании животных, Replacement – замена животных).

Биологическая активность препарата – способность оказывать определённый биологический эффект. Количественная мера биологической активности – специфическая активность (potency).

Анализы специфической активности имеют решающее значение для оценки производственных серий, стабильности продукта, предоставления доказательств сопоставимости после изменений в производственном процессе, эффективности и безопасности.

На сегодняшний день одобрено 3 препарата от СМА – это Spinraza (Biogen), Evrysdi (Roche) и Zolngensma (Novartis) [2]. Компания «Биокад» занимается разработкой отечественного препарата от СМА на основе аденоассоциированного вируса. Разработка функционального теста для контроля препарата может стать одним из преимуществ при выходе в том числе и на международный рынок.

На начальных этапах разработки достаточно определять уровень экспрессии белка, на более поздних этапах разработки необходимо показывать функциональную активность трансгена, то есть SMN белка.

В связи с вышесказанным целью исследования является разработка анализа *in vitro*, способного определить уровень функциональной активности белка SMN в условиях его дефицита, то есть в условиях приближенных к СМА.

Для достижения поставленной цели необходимо выполнить следующие задачи:

1) Определить уровень содержания белка SMN после проведения трансфекции (нокдауна) siSMN1 в исследуемых клеточных линиях для моделирования СМА;

2) Определить влияние уровня белка SMN на уровень экспрессии белка SCP (SMN complex protein);

3) Определить жизнеспособность (антипролиферативную активность) клеточных линий после проведения трансфекции siSMN.

Материалы и методы

Культивирование клеток

Клетки Hela, HepG2, MCF-7 (ATCC, США) пересевали при достижении 70–90% конфлюентности. В исследовании использовали адгезионные клеточные линии, поэтому для диссоциации клеток использовали рекомбинантные ферменты TrypLE (Gibco, США). Среда культивирования Hela – DMEM (ПанЭко, Россия) с 5% инактивированной бычьей эмбриональной сывороткой (Gibco, США), MCF-7 – DMEM (ПанЭко, Россия) с 10% неинактивированной бычьей эмбриональной сывороткой (Hyclone, США) и с инсулином (SIGMA, США) с конечной концентрацией 0,01 мг/мл, HepG2 – DMEM (ПанЭко, Россия) с 10% неинактивированной бычьей эмбриональной сывороткой (Hyclone, США). Во все среды добавляли глутамин (ПанЭко, Россия), конечная концентрация которого 2 мМ.

Трансфекция клеточной линии

Для проведения трансфекции осуществляли пересев клеточной линии с плотностью 10000 клеток/см^2 на 6-и луночный планшет для последующего иммуноферментного анализа или вестерн-блот анализа и на 96-и луночный планшет для проведения антипролиферативной активности. Трансфекцию осуществляли с использованием Opti-MEM (Gibco, США), Lipofectamine 3000 (invitrogen, США), негативный контроль siNeg (ThermoFisher Scientific, США) и siSMN1 (ThermoFisher Scientific, США) в соответствии с инструкциями производителя, за исключением времени инкубации, которое составляет 5 дней с момента проведения трансфекции.

Приготовление клеточных лизатов

Для приготовления клеточных лизатов использовали лизирующий буфер из набора иммуноферментного анализа (SMN ELISA kit, abcam, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Съём клеток с 6-и луночного планшета осуществляли на 5-й день после трансфекции с использованием рекомбинантных ферментов TrypLE (Gibco, США).

Иммуноферментный анализ

Анализ проводили в соответствии с инструкциями производителя набора иммуноферментного анализа («сэндвич» метод) по определению SMN белка (SMN ELISA kit, abcam, США). Полученные клеточные лизаты разводили в assay buffer (Abcam, США) до концентрации 10 мкг/мл общего белка и добавляли по 100 мкл в лунки планшета из набора с иммобилизованными антителами к SMN белку. Инкубировали час и промывали 4 раза по 300 мкл в лунку Wash Buffer (Abcam, США). После добавляли антитела против SMN (Abcam, США) по 100 мкл на лунку и инкубировали в течение часа. Осуществляли промывку как описано выше и затем добавляли по 100 мкл антивидовых антител, конъюгированных с пероксидазой хрена (Abcam, США), инкубировали в течение 30 минут. Промывали планшет и инкубировали хромогенный субстрат TMB (Abcam, США), добавленный в объёме 100 мкл на лунку, в течение 30 мин. Реакцию останавливали раствором Stop Buffer (Abcam, США) и измеряли оптическую плотность при 450 нм. Содержание белка SMN в образце определяли по калибровочному графику, построенному с использованием данных оптической плотности стандартных растворов с известной концентрацией белка SMN.

Western blotting

Электрофорез белков проводили в 10% разделяющем и 6% концентрирующем гелях в электродном буфере с pH 8,3 при постоянном напряжении 90В. Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану осуществляли при постоянной силе тока 200 мА в течение часа. После переноса белков мембрану обрабатывали 3% раствором бычьего сывороточного альбумина в течение часа при 37 ^{0}C, далее мембрану обрабатывали раствором первичных кроличьих антител к SCP (LSBio, США), SMN (abcam, США) и к vinculin (abcam, США), затем мембрану промывали в растворе Phosphate-Buffered Saline (SIGMA, США) с 0,05% Tween (AppliChem, США). Для последующей детекции обрабатывали мембрану раствором вторичных козьих антител против иммуноглобулинов кролика, которые конъюгированы со щелочной фосфатазой (abcam, США). Промывали мембрану от вторичных антител как описано выше. Детекцию осуществляли с использованием набора AP Conjugate Substrate Kit (Bio-Rad, США). Мембраны анализировали визуально и с использованием программного обеспечения для обработки изображений.

Анализ антипролиферативной активности

Для определения жизнеспособности клеток использовали реактив AlamarBlue (Invitrogen, США) в соответствии с рекомендациями производителя. На 3, 4, 5, 6 день после проведения трансфекции в лунки с клетками вносили раствор витального красителя на основе резазурина AlamarBlue (ThermoFisher Scientific, США) до конечной концентрации 10%. Резазурин представляет собой нефлуоресцентный индикаторный краситель, который подвергается химическому восстановлению до флуоресцентного резоруфина в метаболически активных клетках. Инкубировали клетки до появления ярко-красного окрашивания и измеряли уровень флуоресценции при длине поглощения 530–560 нм и длине эмиссии света 590 нм. Уровень сигнала флуоресценции пропорционален количеству живых клеток.

Результаты и обсуждение

В результате проведения трансфекции siSMN в клеточных линиях Hela, HepG2, MCF-7 наблюдали значительное уменьшение содержания белка SMN1. Клетки инкубировали в течение 5 дней, так как это позволяет добиться максимального снижения экспрессии белка SMN и использовать данную методику для проведения трансдукции препаратом.

Результат нокдауна SMN1 представлен на рисунке 1.

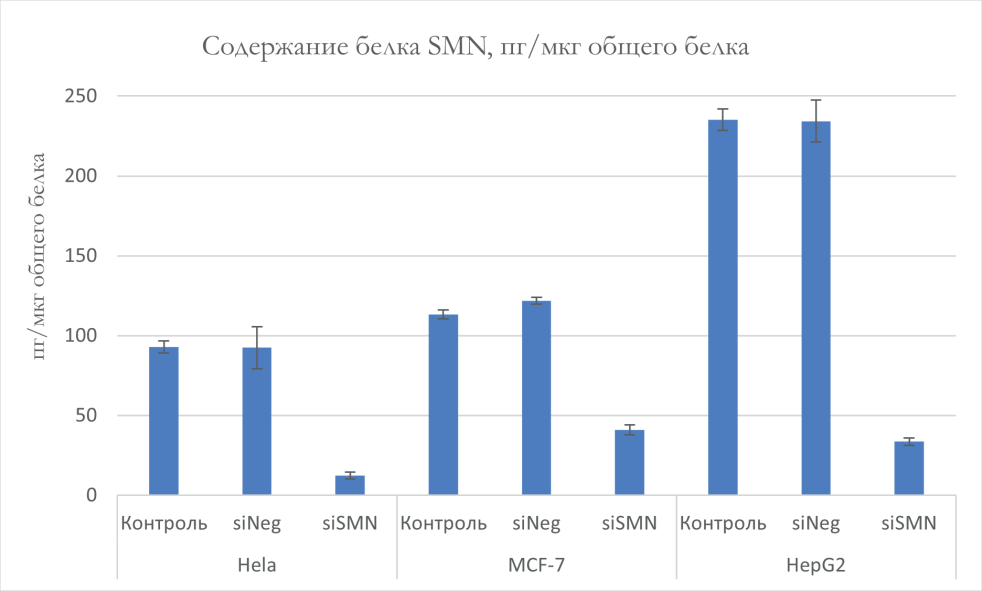


Рисунок 1. Гистограмма содержания белка SMN в клеточных лизатах

Таким образом данные клеточные возможно использовать в качестве модели СМА.

SCP участвует в сборке snRNP комплексов в качестве ключевого компонента SMN комплекса, а именно влияет на включение целевых РНК в snRNP [3]. В моторных нейронах экспрессия уровня SCP зависит от уровня экспрессии белка SMN [5]. Более того уровень экспрессии SMN белка не зависит от уровня SCP, то есть зависимость наблюдается только в одном направлении [6]. Эти данные позволяют оценивать функциональную активность SMN белка посредством измерения уровня экспрессии SCP. После проведения нокдауна SMN1 определяли уровень экспрессии белка SCP. Результаты определения уровня SCP после нокдауна SMN1 представлены на рисунке 2.

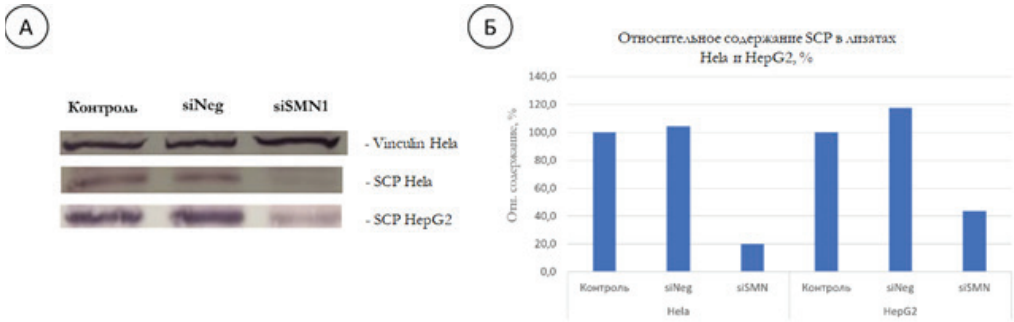


Рисунок 2. А) Нитроцеллюлозная мембрана с проявленными белками Vinculin, SCP клеточных лизатов Hela и HepG2; Б) Гистограмма относительного содержания SCP в клеточных лизатах Hela и HepG2

При нокдауне SMN белка в клеточной линии MCF-7 уровень SCP не снижался (результаты не показаны).

Так как при СМА происходит деградация моторных нейронов [1], то ожидается, что после трансфекции siSMN1 в модельных клеточных линиях будет снижение жизнеспособности, то есть снижение SMN белка влияет на пролиферацию клеточных линий. При определении антипролиферативной активности после проведения трансфекции siSMN1 в исследуемых клеточных линиях снижение жизнеспособности было зафиксировано в клеточных линиях MCF-7 и HepG2 на 3, 4, 5, и 6 дни. Результаты измерения антипролиферативной активности представлены на рисунке 3.

В клеточной линии Hela уровень жизнеспособных клеток не изменялся (результаты не показаны).

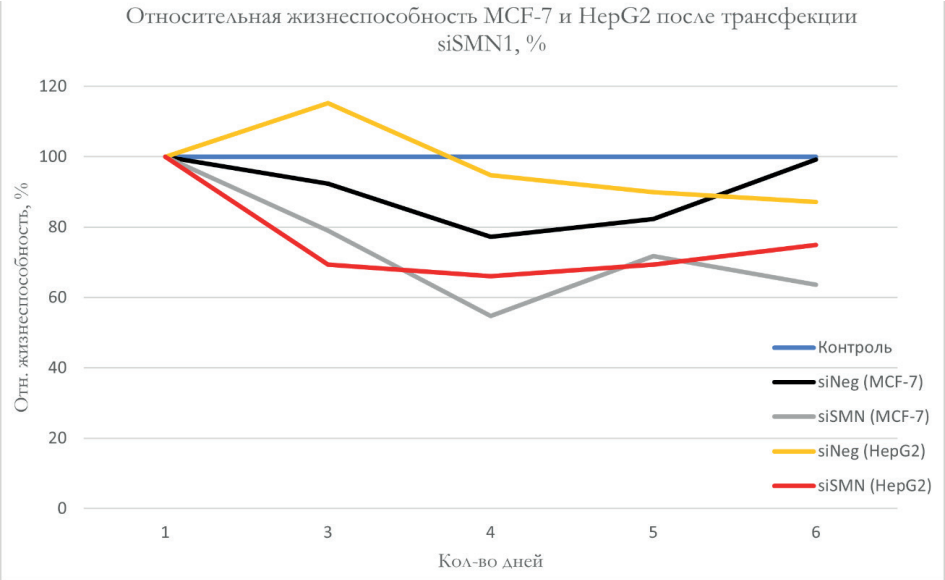


Рисунок 3. График относительной жизнеспособности клеточной линии MCF-7 после нокдауна SMN белка

Заключение

В ходе данного исследования было показано, что после проведения трансфекции siSMN1 в клеточных линиях Hela, HepG2 и MCF-7 происходит значительное снижение белка SMN. Нокдаун SMN1 позволил смоделировать условия СМА в исследуемых клеточных линиях, что необходимо для постановки тестов по определению функциональной активности белка SMN.

В результате снижения белка SMN в клеточных культурах Hela и HepG2 зафиксировано сопоставимое снижение белка SCP.

Также при проведении нокдауна белка SMN установлено значимое (>20%) снижение жизнеспособности клеток в линиях HepG2 и MCF-7.

По результатам выполнения задач исследования были разработаны тесты по определению белка SCP и жизнеспособности клеток в in vitro условиях при значительном снижении белка SMN. Следующим шагом необходимо провести трансдукцию исследуемых клеточных линий препаратом и проверить восстанавливается ли уровень экспрессии SCP и жизнеспособность клеток, что позволит использовать разработанные методики для определения функциональной активности белка SMN.

ЛИТЕРАТУРА

1. Talbot K., Tizzano E., 2017. The clinical landscape for SMA in a new therapeutic era // Gene Therapy. 2017. Vol. 24(9). P.529-533. DOI: 10.1038/gt.2017.52

2. Al-Zaidy, S., Mendell, J. From Clinical Trials to Clinical Practice: Practical Considerations for Gene Replacement Therapy in SMA Type 1 // Pediatric Neurology. 2019. Vol. 100. P.3-11. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2019.06.007

3. Reconstitution of the human U snRNP assembly machinery reveals stepwise Sm protein organization / N. Nils [et al.] // The EMBO journal. 2015. Vol. 34(14). P. 1925–1941. DOI: 10.15252/embj.201490350

4. Diverse role of survival motor neuron protein. / R. Singh [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Regulatory Mechanisms. 2016. Vol. 1860(3). P. 299-315. DOI:10.1016/j.bbagrm.2016.12.008

5. Evidence for a modifying pathway in SMA discordant families: reduced SMN level decreases the amount of its interacting partners and Htra2-beta1 / C . Helmken [et al.] // Human Genetics. 2003. Vol. 114(1). P. 11-21. DOI: 10.1007/s00439-003-1025-2

6. Shpargel K, Matera A. Gemin proteins are required for efficient assembly of Sm-class ribonucleoproteins // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2005. Vol. 102(48). P. 17372-17377. DOI: 10.1073/pnas.0508947102

SUMMARY

MEASUREMENT OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE SMN PROTEIN

Rodenkov E.M., 2nd year MS student
Academic adviser: **Kozhemiakina N.V.**, candidate of biological sciences, docent,
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popov St., Russian Federation, Bioassay Department leader «BIOCAD»
198515, St. Petersburg, settlement Strelna, Svyazi St., 34, litera a, Russian Federation
Zonis J.A., Advanced Bioassay Division leader of Bioassay Department «BIOCAD»
198515, St. Petersburg, settlement Strelna, Svyazi St., 34, litera a, Russian Federation
E-mail: rodenkovjj@mail.ru

Decrease of Smn protein expression leads to a spinal muscular atrophy (SMA). The aim of this study it to develop a functional test for SMN protein activity, which would allow to evaluate the quality of SMA gene therapy product. As a result of this study,

we showed that transfection of small interfering RNA to the SMN1 gene (siSMN) in cells lines Hela, MCF-7 and HepG2 leads to significant decrease in Smn protein expression, thus allowing us to use in as a SMA disease model. We also showed that SCP expression and cell viability was decreased in model cell lines after Smn knockdown and developed stable analytical assays to measure these parameters.

Keywords: *SMA, gene therapy products, biological activity, SMN protein, SCP, antiproliferative activity.*

REFERENCES

1. Talbot K., Tizzano E., 2017. The clinical landscape for SMA in a new therapeutic era // Gene Therapy. 2017. Vol. 24(9). P.529-533. DOI: 10.1038/gt.2017.52

2. Al-Zaidy, S., Mendell, J. From Clinical Trials to Clinical Practice: Practical Considerations for Gene Replacement Therapy in SMA Type 1 // Pediatric Neurology. 2019. Vol. 100. P.3-11. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2019.06.007

3. Reconstitution of the human U snRNP assembly machinery reveals stepwise Sm protein organization / N. Nils [et al.] // The EMBO journal. 2015. Vol. 34(14). P. 1925–1941. DOI: 10.15252/embj.201490350

4. Diverse role of survival motor neuron protein. / R. Singh [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Regulatory Mechanisms. 2016. Vol. 1860(3). P. 299-315. DOI:10.1016/j.bbagrm.2016.12.008

5. Evidence for a modifying pathway in SMA discordant families: reduced SMN level decreases the amount of its interacting partners and Htra2-beta1 / C . Helmken [et al.] // Human Genetics. 2003. Vol. 114(1). P. 11-21. DOI: 10.1007/s00439-003-1025-2

6. Shpargel K, Matera A. Gemin proteins are required for efficient assembly of Sm-class ribonucleoproteins // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2005. Vol. 102(48). P. 17372-17377. DOI: 10.1073/pnas.0508947102

УДК 577.151.4

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕКВЕНИРОВАНИЯ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ON-TARGET ЭФФЕКТОВ ГЕНОМНЫХ НУКЛЕАЗ

Романова Д.А., маг. 2 года обучения
Руководитель: **Мадера Д.А.**, PhD, старший преподаватель НОЦ ТРБ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: romanova.darya@pharminnotech.com

В статье рассматривается использование секвенирования следующего поколения (next generation sequencing, NGS) для детекции on-target эффектов геномных нуклеаз. Представлен процесс получения конструкций для редактирования генома с использованием технологии CRISPR/Cas, а также оценка эффективности нуклеаз для нокаутирования гена *SMN1/2* на основании данных NGS. Оценка редактирования показана на примере клеточной линии глиобластомы человека U87-MG.

Ключевые слова: *редактирование генома, SpCas9, PaCas9, NGS, Illumina, CRISPR/Cas9.*

В настоящее время разработаны различные технологии редактирования генома: ZFN, TALEN, CRISPR/Cas9 и др. Данные инструменты применяются для лечения наследственных, как правило, моногенных заболеваний (гемофилии, спинальной мышечной атрофии, дистрофии сетчатки), заболеваний, вызванных соматическими мутациями (в основном онкологических), и в попытках лечения ВИЧ-инфекции [1].

Наиболее перспективным подходом является использование CRISPR/Cas9. Основное отличие данной технологии от упомянутых выше состоит в том, что место связывания нуклеазы с ДНК определяется не белковыми мотивами, а химерной РНК (single guide RNA, sgRNA). Таким образом появляется возможность нацелить нуклеазу практически на любые последовательности [2].

После внесения нуклеазой Cas9 двуцепочечного разрыва в ДНК клеточная система репарации восстанавливает целостность молекулы. Преобладающим механизмом репарации в клетках эукариот является NHEJ (Non-Homologous End Joining). Это стабильный и быстрый механизм, который в то же время часто приводит к мутациям. Возникающие модификации (делеции, инсерции и замены) способны сдвигать рамку считывания и нарушать процесс трансляции. В связи с этим нуклеазы Cas9 могут эффективно использоваться для нокаутирования гена.

Успех редактирования определяется точностью наведения нуклеазы, а также отсутствием нецелевых воздействий. Оценить эффективность редактирования генома возможно с помощью секвенирования. На сегодняшний день наиболее распространенным и относительно простым методом расшифровки нуклеотидной последовательности является секвенирование по Сэнгеру. Однако при анализе ДНК, выделенной из гетерогенной клеточной популяции, данный подход малоэффективен. Необходимо производить глубокое (многократное) прочтение генетического материала, что возможно достичь с помощью методов NGS [3].

Целью данного исследования является определение on-target эффектов, возникающих при геномном редактировании клеток U-87 MG нуклеазами (под on-target эффектами подразумевают наличие целевой активности нуклеазы). Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. Определить эффективность трансфекции клеток плазмидами, несущими гены нуклеаз.

2. Провести количественную и качественную оценку модификаций, возникающих в таргетном локусе, при редактировании генома клеток нуклеазами.

Материалы и методы

Объектами исследования в данной работе являются нуклеазы, относящиеся к системам CRISPR/Cas II типа – SpCas9 и PaCas9. Эти ферменты содержат два эндонуклеазных домена, которые поодиночке вносят одноцепочечные разрывы, а, действуя совместно, разрезают обе цепи ДНК.

Нуклеаза SpCas9 выделена из бактерии *Streptococcus pyogenes*. Известно, что сайт ее узнавания (определяемый sgRNA) состоит из 20 нуклеотидов, а PAM (protospacer adjacent motif), узнаваемый нуклеазой, имеет консенсусную последовательность – (5'-NGG-3'). SpCas9 вносит двуцепочечный разрыв на расстоянии 3 п.н. от PAM.

Нуклеаза PaCas9 была выделена из бактериального метагенома губки *Homoeodictya palmata*. Данный фермент обладает высокоспецифичным сайтом узнавания в 16-20 нуклеотидов. Несмотря на то, что в проведенных ранее экспериментах была показана возможность использования PaCas9 в качестве инструмента для редактирования генома, на сегодняшний день нуклеаза нуждается в дополнительной характеризации [4].

На первом этапе исследования были получены плазмидные векторы для доставки генов и направляющих нуклеаз в клетки эукариот. В них содержались следующие генетические элементы: точка начала репликации, ген резистентности к ампициллину, промоторы для экспрессии в прокариотических и эукариотических клетках, ген зеленого флуоресцентного белка (GFP), ген нуклеазы (SpCas9 или PaCas9), транс-активирующая CRISPR РНК (tracrRNA) под промотором РНК-полимеразы III и другие.

Совместно с коллегами автором статьи были подобраны по 2 варианта последовательностей наводящей crRNA (входит в состав sgRNA) для геномных нуклеаз SpCas9 и PaCas9. При выборе crRNA учитывалась возможность связывания данной РНК с одним из первых пяти экзонов гена *SMN1/2* человека. ДНК-фрагменты с последовательностью crRNA, получали *de novo* с помощью полимеразной-цепной реакции (ПЦР). Сборку плазмидного вектора осуществляли рестриктазно-лигазным методом.

Далее проводили трансформацию тепловым шоком компетентных клетки *E. coli* (NEB, C3040H). Клетки, содержавшие плазмиду, приобретали устойчивость к ампициллину и прорастали на среде с антибиотиком. Для отбора целевых рекомбинантных клонов после трансформации проводили процедуру скрининга. Для этого определенное число колоний проверяли на наличие плазмиды со вставкой crRNA методом ПЦР. Пересеяв положительные клоны на жидкую питательную среду, нарабатывали плазмидные векторы в достаточном для дальнейшего анализа количестве. Методом секвенирования по Сэнгеру подтверждали нуклеотидную последовательность выделенных плазмид.

На втором этапе исследования проводили трансфекцию полученными плазмидами культуры клеток U-87 MG с помощью липофектамина. В лунки с отрицательными контрольными образцами вносили все агенты для трансфекции, кроме плазмидной ДНК. В качестве положительного контроля использовали плазмиду, несущую только ген GFP. Оценивали эффективность трансфекции методом проточной цитофлуориметрии. Жизнеспособность клеток определяли по флуоресценции пропидий йодида, а экспрессию плазмиды по флуоресценции белка GFP.

На заключительном этапе выделяли геномную ДНК из клеток и проводили амплификацию отдельных фрагментов гена *SMN1/2*. Проверку качества и длины ПЦР-фрагментов осуществляли на системе автоматизированного электрофореза 2100 Bioanalyzer. Расшифровывали последовательности ампликонов на генетическом анализаторе Illumina MiSeq. Обработку данных проводили с помощью следующих программных обеспечений: FastQC, Trimmomatic, Samtools, bwa, CRISPResso [5].

Результаты и обсуждение

Результаты оценки эффективности трансфекции плазмидными векторами культуры клеток U-87 MG представлены на диаграмме (рис. 1). Из графика видно, что во всех группах процент жизнеспособных клеток достаточно высок. Незначительное снижение жизнеспособности в группе положительного контроля (К(+)) коррелирует с высоким уровнем экспрессии белка GFP и может быть объяснено токсичным действием плазмиды на клетки.

Процент GFP-положительных клеток во всех группах значительно больше, чем в группе отрицательного контроля (К(-)). В сравнении с положительным контролем в анализируемых группах наблюдается невысокий уровень экспрессии GFP. Вероятно, это связано с тем, что ген флуоресцентного белка в кассете связан с трансгеном через T2A, а значит транслируется с меньшей эффективностью.

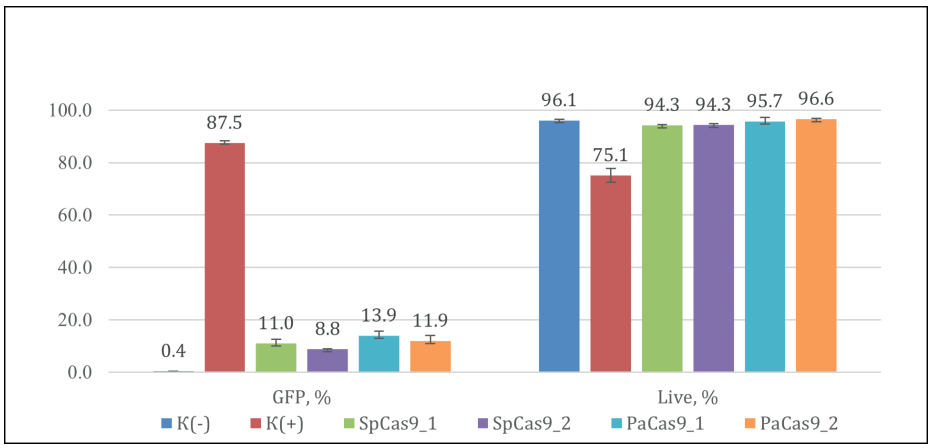


Рисунок 1. Оценка эффективности трансфекции плазмидными векторами культуры клеток U-87 MG
(GFP – уровень экспрессии GFP; Live – уровень жизнеспособности)

В целом, полученные результаты свидетельствуют об успешной доставке плазмидных векторов в клетки эукариот. Дополнительным подтверждением может служить снимок трансфецированных клеток, полученный на флуоресцентном микроскопе (рис. 2).

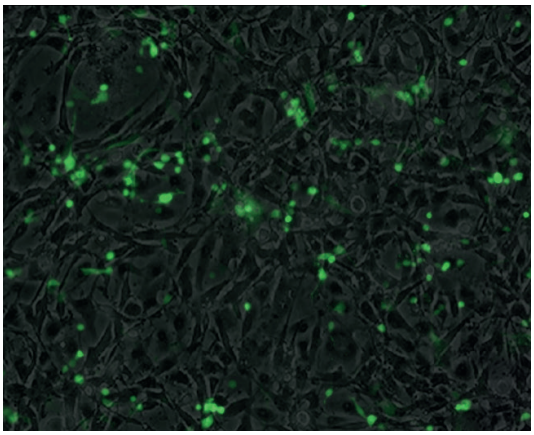


Рисунок 2. Снимок с флуоресцентного микроскопа клеток U-87 MG через 72 часа после трансфекции плазмидой SpCas9_1

Далее представлены результаты секвенирования таргетных локусов гена SMN1/2 методом NGS.

С помощью программного обеспечения CRISPResso определен процент модификаций в ДНК после редактирования (в ампликоне длиной 210 нуклеотидов). Результаты определения представлены в таблице. Так как в ходе NGS анализировался весь пул клеток после трансфекции, для адекватной оценки результатов процент модификаций был пересчитан с учетом эффективности трансфекции. Полученные данные свидетельствуют о том, что геном клеток, экспрессирующих нуклеазу SpCas9_2, был модифицирован сильнее всего.

Таблица – Оценка результатов редактирования генома в области интереса

Нуклеаза	Процент модификации без учета эффективности трансфекции	Процент модификации с учетом эффективности трансфекции
SpCas9_1	3,82	34,72
SpCas9_2	6,28	71,36
PaCas9_1	7,11	51,15
PaCas9_2	6,51	54,71

Для оценки непосредственно on-target эффектов были проанализированы модификации, возникшие в непосредственной близости от места предполагаемого связывания нуклеазы с ДНК.

На рисунке 3 показано распределение нуклеотидов вблизи места связывания sgRNA (область интереса выделена серым пунктиром). Снизу представлена референсная последовательность. Сверху – последовательность, полученная при выравнивании прочтений. В каждой позиции указан процент встречаемости нуклеотида из референсной последовательности в прочтениях. Цветом выделены мутации (замены нуклеотидов = зеленый, оранжевый, желтый, фиолетовый; инсерции = коричневый, делеции = черный).

Как видно из рисунка, воздействие нуклеазы SpCas9_1 приводит к наибольшему число мутаций в области связывания sgRNA. Чаще всего встречаются делеции и замены. На расстоянии 3-х нуклеотидов от PAM количество модификаций

максимально. Это согласуется с литературными данными, свидетельствующими о том, что SpCas9 вносит двуцепочечный разрыв в ДНК именно в этом положении.

В образце, обработанном нуклеазой SpCas9_2, значимых модификаций в целевой области не обнаружено.

Модификации в образце с PaCas9_1 представлены преимущественно делециями. Выпавшие нуклеотиды в определенных положениях встречаются примерно в 5% прочтений.

Интересная закономерность наблюдается в образце, модифицированном PaCas9_2. Частота мутаций увеличивается в направлении к 5'-концу фрагмента ДНК. При этом на конце таргетного участка частота делеций равна 25%.

Приведенные результаты свидетельствует о том, что нуклеазы с соответствующими sgRNA SpCas9_1, PaCas9_1 и PaCas9_2 способны приводить к возникновению on-target эффектов.

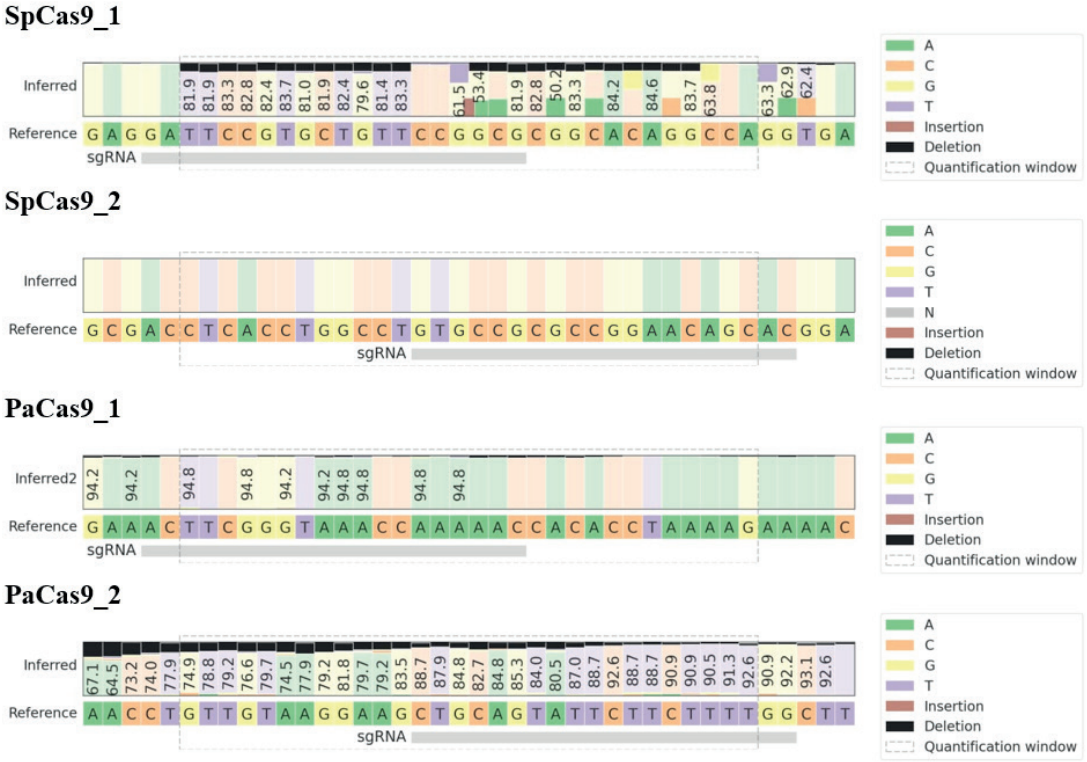


Рисунок 3. Распределение нуклеотидов вблизи места связывания sgRNA

На рисунке 4 представлены распределения различных видов модификаций по всей длине анализируемого ампликона. Области интереса выделены серым цветом, инсерции – красным, делеции – фиолетовым, замены – зеленым.

Как видно из рисунка, для образцов с SpCas9_1 и PaCas9_1 модификации сконцентрированы внутри таргетной области. В образцах с SpCas9_1 и PaCas9_1 наблюдается значительное увеличение числа делеций в области 5'-конца от sgRNA. Возникновение нецелевых эффектов нуждается в дополнительном изучении.

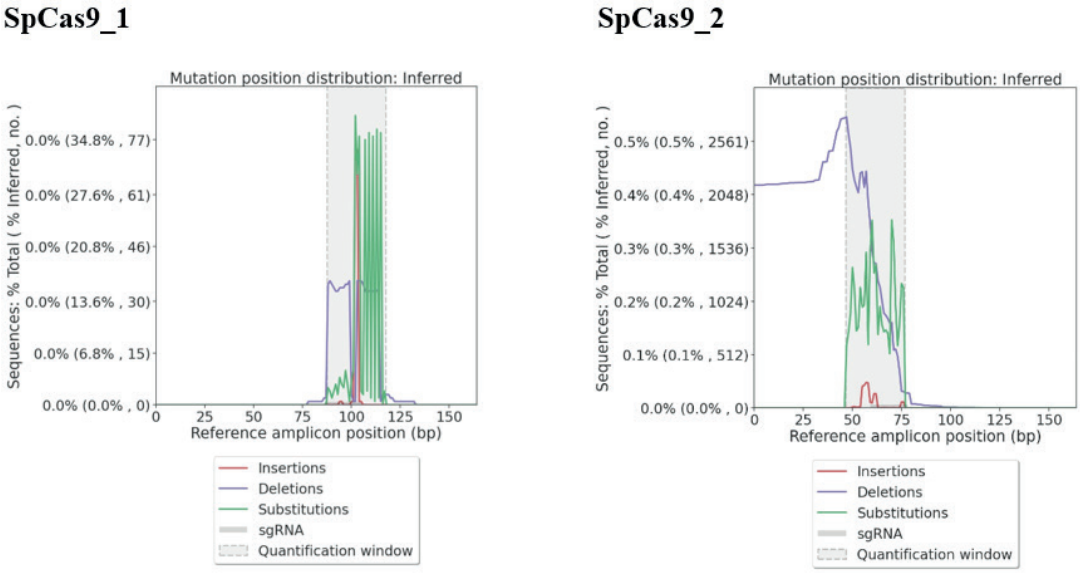


Рисунок 4. Частота модификаций относительно нуклеотидной позиции в ампликоне

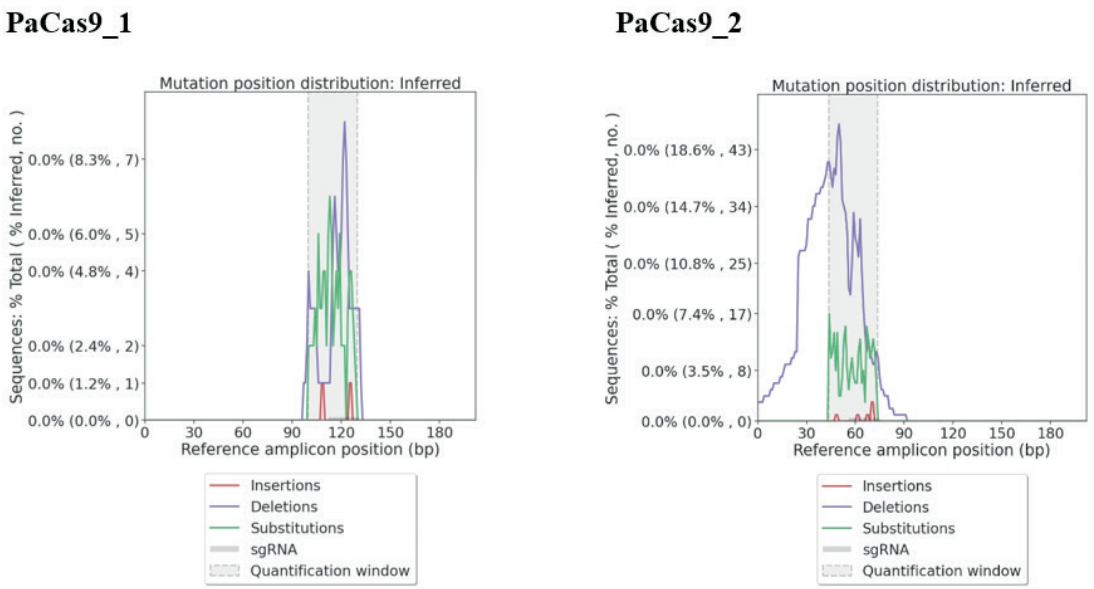


Рисунок 4. Частота модификаций относительно нуклеотидной позиции в ампликоне (продолжение)

Заключение

В ходе проделанной работы была определена эффективность трансфекции клеток плазмидами, несущими гены нуклеаз, а также проведена количественная и качественная оценка модификаций, возникающих в таргетном локусе, при редактировании генома клеток нуклеазами.

Данные, полученные в ходе исследования, свидетельствуют о том, что нуклеазы SpCas9_1, PaCas9_1 и PaCas9_2 демонстрируют наличие таргетной активности при редактировании генома клеток U-87 MG. Кроме того, установлено, что нуклеазы SpCas9_2 и PaCas9_2 обладают нецелевой активностью.

Работа выполнена при финансовой поддержке АО «Биокад».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00 Биотехнология

62.37.00 Прикладная генетическая инженерия

ЛИТЕРАТУРА

1. Rebrikov D.V. Human genome editing // Bulletin of RSMU. 2016. №3. P. 4-14 DOI: 10.24075/brsmu.2016-03-01

2. Nucleotide sequence of the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in Escherichia coli, and identification of the gene product / Y. Ishino [et al.] // J. Bacteriol. 1987. Vol. 169. P. 5429—5433.

3. McCombie WR, McPherson JD, Mardis ER. Next-Generation Sequencing Technologies // Cold Spring Harb Perspect Med. 2019. Vol. 9(11) P. a036798. doi: 10.1101/cshperspect.a036798.

4. База патентов. [Электронный ресурс]. URL: https://patentrt.ru/intellectual_properties/693027?locale=ru (дата обращения 28.02.2022)

5. Analyzing CRISPR genome-editing experiments with CRISPResso / L. Pinello [et al.] // Nat Biotechnol. 2016. Vol. 34(7). P. 695-7. doi: 10.1038/nbt.3583.

SUMMARY

DYNAMICS OF MOTIVATION OF SPCPU STUDENTS TO LEARNING AND NEXT-GENERATION SEQUENCING USED FOR DETECTION OF ON-TARGET EFFECTS GENERATED BY GENOMIC NUCLEASES

Romanova D.A., 2nd year undergraduate
Supervisor: **Madera D.A.**, PhD, senior lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: romanova.darya@pharminnotech.com

The article discusses the use of next generation sequencing (NGS) for the detection of on-target effects of genomic nucleases. The process of obtaining nucleases by molecular cloning methods is presented, as well as an assessment of their effectiveness for knocking out the SMN1/2 gene based on NGS data. Editing evaluation is shown in the U87-MG human glioblastoma cell line. Nuclease targeting was performed using CRISPR/Cas9 technology.

Keywords: *genome editing, SpCas9, PaCas9, NGS, Illumina, CRISPR/Cas9.*

REFERENCES

1. Rebrikov D.V. Human genome editing // Bulletin of RSMU. 2016. №3. P. 4-14 DOI: 10.24075/brsmu.2016-03-01

2. Nucleotide sequence of the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in Escherichia coli, and identification of the gene product / Y. Ishino [et al.] // J. Bacteriol. 1987. Vol. 169. P. 5429—5433.

3. McCombie WR, McPherson JD, Mardis ER. Next-Generation Sequencing Technologies // Cold Spring Harb Perspect Med. 2019. Vol. 9(11) P. a036798. doi: 10.1101/cshperspect.a036798. 4. Patent database. [Internet]. URL: https://patentrt.ru/intellectual_properties/693027?locale=ru (Date of treatment 28.02.2022).

5. Analyzing CRISPR genome-editing experiments with CRISPResso / L. Pinello [et al.] // Nat Biotechnol. 2016. Vol. 34(7). P. 695-7. doi: 10.1038/nbt.3583.

УДК 615.361

ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОГО РЕЖИМА ЭКСТРАКЦИИ БЕЛКОВ ИЗ ФАБРИЦИЕВОЙ СУМКИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Руди Р.В., магистрант 1 года обучения
Научный руководитель: **Глазова Н.В.**, к.х.н, доцент кафедры биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: richard_rudi@mail.ru

В результате проведенных экспериментов, были установлены оптимальные условия проведения экстракции, при которых наблюдается наибольший выход белков, которые содержатся в фабрициевой сумке цыплят-бройлеров. Полученные данные в последствии будут использованы для уточнения компонентного состава экстракта при хроматографическом изучении.

Ключевые слова: *фабрициева сумка, иммуногенез, экстракция, хроматографический анализ, элютивная хроматография, сефадекс.*

С каждым годом все больше широкое применение находят препараты белковой природы, получаемых из сырья животного происхождения, особенно это связанно с бурным развитием фармацевтической и пищевой биотехнологии. Промышленное производство белково-ферментных препаратов началось около 100 лет назад и активно продолжает модернизироваться и развиваться. В самом начале оно было основано на извлечении ферментов из различных видов сырья (растительного, животного и микробного). Дальнейший анализ белковых компонентов позволит определить их значимость в ряду применяемых активных биотехнологических субстанций (АБТС) и тем самым даст возможность разработать наиболее эффективную технологию процесса их выделения с использованием отходов сырья пищевой промышленности.

Фабрициевая сумка является отходом птицефабрик, так как она не используется в пищевых целях и просто идет на утилизацию вместе с остальными органами, которые не представляют ценности для пищевой промышленности. Поэтому изучение данного сырья и в последствии разработка технологии, при помощи которой можно будет получать ценные ферменты и белки, содержащиеся в сумке, позволит использовать данный источник сырья для производства лекарственных средств и БАДов.

Целью данного исследования являлось определение оптимальных условий проведения экстракции, при которых наблюдается максимальных выход белковых компонентов из отхода пищевой промышленности.

Задачами данного исследования являлись:

1. Определение размера измельчения сырья;
2. Подбор pH экстракции;
3. Подбор температурного режима экстракции;
4. Установление длительности экстракции.

Первое упоминание данной сумки встречается в рукописи «De Formatione Ovi et Pulli» автора Джироламо Фабрици еще в 1621 году [1]. Описание данной сумки было следующей: «Третья вещь, которую следует отметить в подексе – это двойной мешок [сумка], который в своей нижней части выступает в сторону лобковой кости и появляется видимым для наблюдателя, как только уже упомянутая матка предстает перед глазами» [2]. С тех пор данному органу было присвоено название – фабрициевая сумка. Он покрывает дорсальную поверхность терминальная часть кишечника у птиц (рис. 1). Фабрициева бурса птиц является непарным полостным органом в виде дивертикула дорсальной стенки проктодеума кпоаки, с которым соединяется коротким, узким протоком. Дорсальная поверхность органа прилежит к пояснично-крестцовой кости. Вентральная – направлена к дорсальной стенке клоаки и соприкасается с ней. Латеральные поверхности бурсы прилежат к мочеточникам, у самцов – к семяпроводам, а у самок слева – к скорлуповой части яйцевода. Форма бурсы может отличаться у птиц разных видов и пород Так к примеру, у кур она шаровидная, у индеек – изменяется с возрастом, у уток и гусей- удлиненно-овальная, у диких птиц она шаровидная, грушевидная, сердцевидная. В процессе возрастной инволюции органа происходит изменение формы бурсы. Сперва она уменьшается в раз-

мере, характерном для данного вида птицы, а затем и вовсе происходит уменьшение органа со стороны краниального конца, позже орган имеет вид маленького бугорка на самой клоаке, а затем вовсе исчезает. В процессе роста цыпленка, на 5-6-день она начинает развиваться в виде дорсо-каудального выпячивания вблизи клоаки, которое принимает форму срединной пластинки энтодермального эпителия, пронизанной сферическими вакуолями различных размеров, которые в конечном итоге сливаются, образуя просвет [3]. Бурса значительно увеличивается в процессе развития и меняет форму с круглой на овальную. Гипертрофия мезодермы, окружающей бурсальный эпителий, приводит к образованию продольных складок, выступающих в его просвет. Между 13-м и 15-м днями эпителиальные клетки, выстилающие складки, утолщаются и распространяются в собственную оболочку в виде эпителиальных рецепторов (почек). Затем эти почки отделяются от эпителия. Лимфопоэз активен в тех, которые образуют внутреннюю оболочку бурсального фолликула [4]. В фабрициевой сумке всего 8000–12000 фолликулов, каждый из которых состоит из внутренней поверхности органа, сердцевины, кортикомедуллярной границы и фолликул ассоциированного эпителия [5]. Присутствие М-клеток в этом эпителии объясняет перемещение антигена из просвета в продолговатый мозг, где развиваются незрелые В-клетки [6]. Также, в ходе исследований было определено, что сердцевина бурсы состоит из эпителиальных клеток, дендритных клеток, макрофагов и лимфоцитов, а также небольшого количества плазматических клеток в бурсальной слизистой.

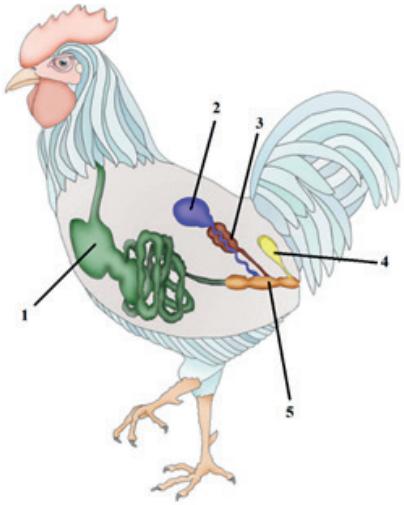


Рисунок 1. Схематичное изображение органов курицы. 1 – гатроинтестинальный тракт, 2 – репродуктивная система, 3 – мочевыделительная система, 4 – бурса фабрициева, 5 – клоака

В декабре 1952 года, ученный Брюс Глик доказал, что фабрициева сумка развивается быстро в течение 3 недель после вылупления. Далее для того, чтобы понять функциональное назначение данного органа, необходимо было провести бурсоэктомию (удаление сумки) для того, чтобы определить, как будет происходит развитие курицы при отсутствии данной сумки. После проведения бурсоэктомии у цыплят, за ними наблюдали в течение нескольких лет, но никаких изменений с курицами не происходило. Далее в 1954 году, аспиранту Тимоти С. Чану понадобились птицы для получения антител против сальмонеллы, но в доступности тогда оказались только бурсоэктомированные курицы Глика, Тимоти ввел им антиген сальмонеллы как предположительно, делал это ранее для получения антител для работы. Все курицы погибли и никаких антител в крови не было обнаружено. Этот факт Глик взял во внимание и для подтверждения гипотезы, провел два контрольных эксперимента с введением антигена S. Typhimurium бурсоэктомированным курицам и курицам, которые не были подвергнуты операции. Исход данных испытаний был следующим: курицы с удаленной сумкой также погибали из-за неспособности вырабатывать антитела, курицы с сумками вырабатывали антитела и не погибали [7]. Эти данные позволили сформировать гипотезу о том, что фабрициева сумка является одним из ключевых органом иммуногенеза у птиц, и уровень ее функциональной активности служит важнейшим морфологическим критерием состояния организма в целом.

Пролиферация и дифференцировка В-лимфоцитов обеспечивается уникальным микроокружением бурсы. Во время эмбрионального развития между 8-м и 14-м днем лимфоидные предшественники, полученные из внебурсальной ткани, вторгаются в бурсу [8]. Бурсальные экстракты вызывают раннюю дифференцировку В- и Т-лимфоцитов, с более значительным эффектом на В-клетки, что было продемонстрировано в исследовании in vitro на цыплятах [9]. В бурсальных фолликулах клетки-предшественники, не экспрессирующие поверхностные иммуноглобулины, уничтожаются путем апоптоза, а те, которые их экспрессируют, отбираются для расширения клонов, что приводит к производству отдельных молекул антител [10]. Бурсин является дифференцирующим гормоном, ответственным за дифференцировку предшественников В-клеток [11]. Основным типом клеток, присутствующих как в коре, так и в сердцевине, являются В-лимфоциты (около 98%). Большинство В-лимфоцитов являются клетками-предшественниками во время эмбрионального развития, и только те, что находятся в парааортальных очагах и костном мозге, являются зрелыми клетками [15]. В фолликулах В-лимфоциты из медуллы и коры экспрессируют иммуноглобулин М (IgM), в то время как только те, что из коры, также экспрессируют главный комплекс гистосовместимости (МНС) класса II. Экспрессия IgM обнаруживается

с 12-го дня инкубации, а с момента вылупления большинство В-лимфоцитов являются зрелыми. В библиотеке химических соединений были найдены два пептида с названием бурсин (рис. 2 и 3) [12, 13]. Молекулярные механизмы действия этих пептидов пока не установлены.

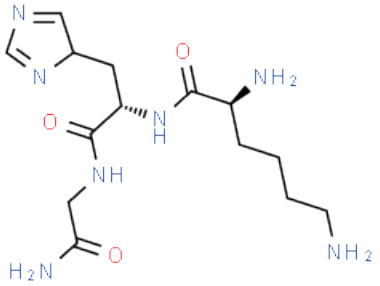


Рисунок 2. Бурсин №1 (L-лизил-3-(4H-имидазол-4-ил)-L-аланилглицинамид)

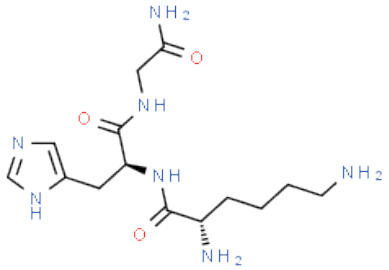


Рисунок 3. Бурсин №2 (L-лизил-L-гистидилглицинамид)

Материалы и методы

Как было сказано во введении, основной задачей этого исследования было определение оптимальных условий экстракции (времени, температуре и pH), т. к. белковые соединения крайне чувствительны к внешнему воздействию. Под действием физических факторов (температура, pH среды и др.) они могут денатурировать, выпадать в осадок в изоточке, а белки-ферменты – терять свою активность. Поэтому при проведении экстракции белковых молекул из сырья важно правильно подобрать такие параметры как измельченность сырья, pH экстрагента, температурный режим экстракции и ее длительность, а также скорость перемешивания при проведении процесса.

Для увеличения площади контакта экстрагента с сырьем замороженные бурсы цыплят-бройлеров измельчали при помощи ножа до размера частей сырья 1 мм. Измельченное сырье переносили в плоскодонную колбу, заливали экстрагентом в соотношении 3:10 (на 30 г замороженного измельченного сырья приходилось 100 мл экстрагента).

Так как белковые компоненты хорошо растворимы в водной среде, то в ходе эксперимента были использованы экстрагенты с различным pH для установления того значения, при котором из сырья в раствор переходит наибольшее количество белка. Для этого готовили ацетатные буферные растворы со значениями pH от 2,0 до 6,0 и фосфатные буферы со значениями pH 7,0 и 8,0 (допустимые отклонения значения pH растворов составляли ±0,02).

Для проведения экстракции были выбраны следующие режимы:

- от +15 °C до +25 °C – экстракция при комнатной температуре;
- от +2 °C до +8 °C – экстракция на холоде.

Колбы с измельченным сырьем, залитым экстрагентами с различным значением pH, устанавливали в шуттель-аппарат. Начинали экстракцию при комнатной температуре и скорости перемешивания 120 об/мин. Отбор проб из всех колб проводили через 1, 2, 4 и 24 часа после начала экстракции. Каждую пробу фильтровали для удаления механических частиц. В предварительно разведенном в 50 раз фильтрате определяли концентрацию белка по методу Лоури с использованием реактива Фолина фирмы Merck KGaA.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты представлены в таблице 1. Изменение количества белков в экстракте в зависимости от длительности экстракции представлено на рисунке 4.

Таблица 1 – Результаты экстракции белков из фабрициевой сумки при комнатной температуре

pH экстрагента	Длительность экстракции, ч	Оптическая плотность D_{750}	Общая концентрация белков, мг/мл
2	1	0,170	9,29
2	2	0,145	7,92
2	4	0,169	9,24
2	24	0,303	16,56

pH экстрагента	Длительность экстракции, ч	Оптическая плотность D_{750}	Общая концентрация белков, мг/мл
3	1	0,086	4,70
3	2	0,122	6,67
3	4	0,138	7,54
3	24	0,191	10,44
4	1	0,146	7,1
4	2	0,137	6,6
4	4	0,075	3,65
4	24	0,290	14,1
5	1	0,115	5,6
5	2	0,163	7,95
5	4	0,082	4
5	24	0,278	13,5
6,0	1	0,212	10,5
6,0	2	0,182	8,85
6,0	4	0,217	10,55
6,0	24	0,284	13,8
7,0	1	0,280	13,6
7,0	2	0,321	15,6
7,0	4	0,307	14,85
7,0	24	0,297	14,45
8,0	1	0,111	5,4
8,0	2	0,245	11,9
8,0	4	0,286	13,9
8,0	24	0,361	17,55

На рисунке 4 видно, что наибольшее количество белков переходит в экстракт при значении pH экстрагента 7,0 уже на втором часу, а при pH 8,0 только спустя 24 часа. Для дальнейшего проведения экстракции на холоде был выбран экстрагент именно с этим значением pH. По окончанию процесса экстракции при помощи электронного pH-метра установили, что pH полученного экстракта равен 6,77.

Результаты экстракции на холоде представлены в таблице 2. Рисунок 5 демонстрирует изменений количества белков в экстракте в зависимости от длительности процесса на холоде.

Таблица 2 – Результаты экстракции белков из фабрициевой сумки на холоде

pH экстрагента	Длительность экстракции, ч	Оптическая плотность D_{750}	Общая концентрация белков, мг/мл
7,0	1	0,229	12,52
7,0	2	0,268	14,65
7,0	4	0,349	19,07
7,0	24	0,394	21,53

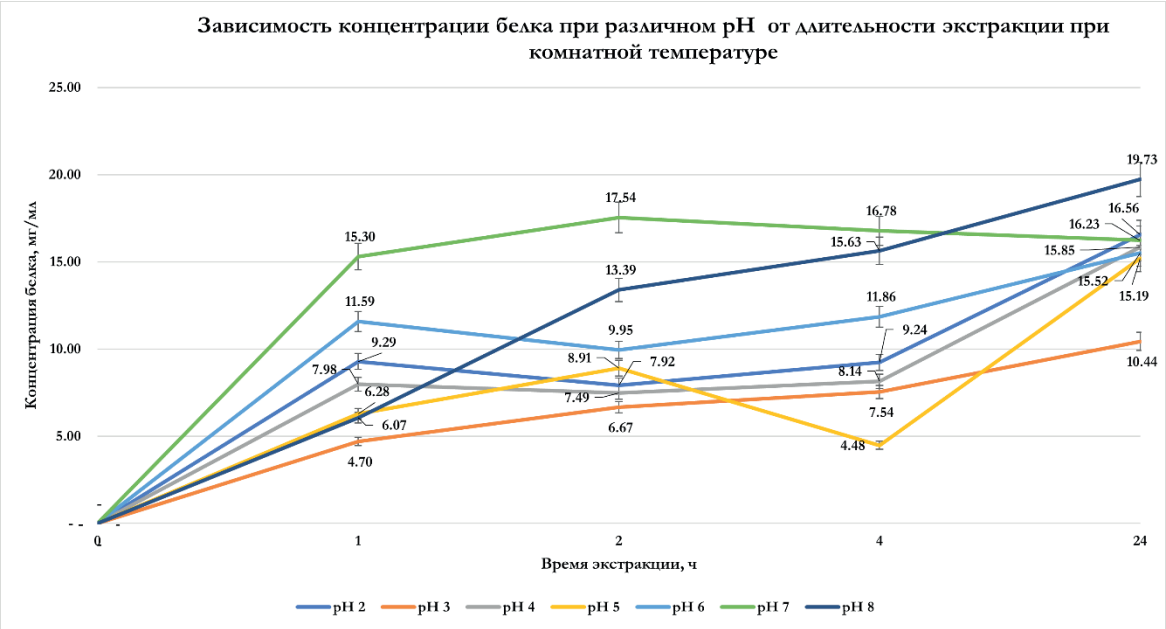


Рисунок 4. Изменение концентрации белков в зависимости от длительности экстракции при комнатной температуре

Рисунок 5. Изменение концентрации белков в зависимости от длительности экстракции на холоде

Подобрав оптимальные условия экстракции белков из измельченной фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, следующим этапом работы является последовательное определение характеристики выделенных белковых компонентов:

- молекулярной массы методами хроматографии (элютивной и ВЖХ);
- установление природы соединения (пептид или белок);
- определение наличие ферментативной активности выделенных белковых компонентов разделенных по массе.

Заключение

В результате проделанной работы были подобраны оптимальные условия экстракции, при которых наблюдался наибольший выход белковых компонентов. Оптимальным размером измельченного исходного сырья является 1 мм, длительность экстракции должна быть не менее 4 часов при pH 7.0 и температуре от +2 до +8 °C..Следующим этапом работы является определение молекулярной массы белков, отделение их от пептидов и установление класса ферментов которые содержатся в полученном экстракте.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.09.99 Прочие виды биотехнологического сырья

ЛИТЕРАТУРА

1. Hieronymus Fabricius ab Acquapendente (1533–1619) / S.B. Smith [et al.] // Clin Anat 2004. Vol. 17(7). P. 540–3. doi: 10.1002/ca.20022.

2. Adelman HB. The Embryological Treatise of Hieronymus Fabricius of Aquapendente. Vol. 1. Ithaca, New York: Cornell University Press, 1967. P. 147–91.

3. Hamilton H.L. Lillie's development of the chick. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1952. 390 p.

4. Ackerman G.A., Knouff R.A. Lymphocytopoiesis in the bursa of Fabricius // Am J Anat 1959. N 104. P. 163–205.

5. Glick B. Bursa Fabricius // Avian Biol. 1983. Vol. 7. P. 443–50.

6. The chicken B-cell receptor complex and its role in avian B-cell development / C.E. Sayesh [et al.] // Immunol Rev. 2000. Vol. 175. P. 187–200.

7. Glick B. The bursa of Fabricus and antibody production. PhD dissertation. Columbus, Ohio: State University, Columbus, 1955. P. 1–102.

8. Ratcliffe M.J., Jacobsen K.A. Rearrangement of immunoglobulin genes in chicken B cell development // Semin Immunol. 1994. Vol. 6(3). P. 175–184.

9. Origin of hemopoietic stem cells in embryonic bursa of Fabricius and bone marrow studied by interspecific chimeras / N.M. Le Douarin [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. 1975. Vol. 72(7). P. 2701–2705.

10. Brand A., Gilmour D.G., Goldstein G. Lymphocyte-differentiating hormone of bursa of Fabricius // Science. 1976. Vol. 193(4250). P. 319–321.

11. McCormack W.T., Tjoelker L.W., Thompson C.B. Avian B-cell development: generation of an immunoglobulin repertoire by gene conversion // Annu Rev Immunol. 1991. Vol. 9. P. 219–241.

12. Tripeptide structure of bursin, a selective B-cell-differentiating hormone of the bursa of Fabricius / T. Audhya // Science. 1986. Vol. 231(4741). P.997–999.

13. Бурсин №1. [Электронный ресурс] URL: https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.168424.html?rid=e942e24e-78ff-4790-beaf-1adb5e8e688e&page_num=0 (дата обращения 19.02.2022)

14. Бурсин №2. [Электронный ресурс] URL: https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5731034.html?rid=e942e24e-78ff-4790-beaf-1adb5e8e688e&page_num=0 (дата обращения: 19.02.2022)

15. Ratcliffe M.J.H. Antibodies, immunoglobulin genes and the bursa of Fabricius in chicken B cell development // Dev Comp Immunol. 2006. Vol. 30(1–2). P. 101–118.

16. Bockman D.E., Cooper M. Pinocytosis by epithelium associated with lymphoid follicles in the bursa of Fabricius, appendix, and Peyer's patches. An electron microscopic study // Am J Anat. 1973. Vol. 136(4). P. 455–477.

17. Age-related changes in the avian primary lymphoid organs (thymus and bursa of Fabricius) / E. Ciriaco [et al.]. // Microsc Res Tech. 2003. Vol. 62(6). P. 482–487

SUMMARY

SELECTION OF THE OPTIMAL MODE OF PROTEIN EXTRACTION FROM THE FABRICATED BAG OF BROILER CHICKENS

Rudi R.V., master's student of the 1st year of study

Supervisor of studies: **Glazova N.V**., Candidate of chemical sciences, associate professor of biotechnology department,

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

197376, St. Petersburg, prof. Popova str. 14, Russian Federation

E-mail: richard_rudi@mail.ru

As a result of experiments, the optimum conditions for extraction were determined, in which the highest yield of proteins contained in the Fabricated bag of broiler chickens was observed. The data obtained will subsequently be used to clarify the component composition of the extract in a chromatographic study.

Keywords: *Fabricated pouch, immunogenesis, extraction, chromatographic analysis, elutive chromatography, cephadex.*

REFERENCES

1. Hieronymus Fabricius ab Acquapendente (1533–1619) / S.B. Smith [et al.] // Clin Anat 2004. Vol. 17(7). P. 540–3. doi: 10.1002/ca.20022.

2. Adelman HB. The Embryological Treatise of Hieronymus Fabricius of Aquapendente. Vol. 1. Ithaca, New York: Cornell University Press, 1967. P. 147–91.

3. Hamilton H.L. Lillie's development of the chick. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1952. 390 p.

4. Ackerman G.A., Knouff R.A. Lymphocytopoiesis in the bursa of Fabricius // Am J Anat 1959. N 104. P. 163–205.

5. Glick B. Bursa Fabricius // Avian Biol. 1983. Vol. 7. P. 443–50.

6. The chicken B-cell receptor complex and its role in avian B-cell development / C.E. Sayesh [et al.] // Immunol Rev. 2000. Vol. 175. P. 187–200.

7. Glick B. The bursa of Fabricus and antibody production. PhD dissertation. Columbus, Ohio: State University, Columbus, 1955. P. 1– 102.

8. Ratcliffe M.J., Jacobsen K.A. Rearrangement of immunoglobulin genes in chicken B cell development // Semin Immunol. 1994. Vol. 6(3). P. 175–184.

9. Origin of hemopoietic stem cells in embryonic bursa of Fabricius and bone marrow studied by interspecific chimeras / N.M. Le Douarin [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. 1975. Vol. 72(7). P. 2701–2705.

10. Brand A., Gilmour D.G., Goldstein G. Lymphocyte-differentiating hormone of bursa of Fabricius // Science. 1976. Vol. 193(4250). P. 319–321.

11. McCormack W.T., Tjoelker L.W., Thompson C.B. Avian B-cell development: generation of an immunoglobulin repertoire by gene conversion // Annu Rev Immunol. 1991. Vol. 9. P. 219–241.

12. Tripeptide structure of bursin, a selective B-cell-differentiating hormone of the bursa of Fabricius / T. Audhya // Science. 1986. Vol. 231(4741). P.997–999.

13. Bursin N1. [Internet] URL: https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.168424.html?rid=e942e24e-78ff-4790-beaf-1adb5e8e688e&page_num=0 (Accessed 19.02.2022)(in Russian)

14. Bursin N2. [Internet] URL: https://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5731034.html?rid=e942e24e-78ff-4790-beaf-1adb5e8e688e&page_num=0 (Accessed: 19.02.2022)(in Russian)

15. Ratcliffe M.J.H. Antibodies, immunoglobulin genes and the bursa of Fabricius in chicken B cell development // Dev Comp Immunol. 2006. Vol. 30(1–2). P. 101–118.

16. Bockman D.E., Cooper M. Pinocytosis by epithelium associated with lymphoid follicles in the bursa of Fabricius, appendix, and Peyer's patches. An electron microscopic study // Am J Anat. 1973. Vol. 136(4). P. 455–477.

17. Age-related changes in the avian primary lymphoid organs (thymus and bursa of Fabricius) / E. Ciriaco [et al.]. // Microsc Res Tech. 2003. Vol. 62(6). P. 482–487

УДК 57.083.1 + 576.535.5

СОЗДАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЕЙ С ABC-ТРАНСПОРТЕР-ОПОСРЕДОВАННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

Сагайдак А.В., аспирант 3 года обучения
Руководитель: **Григорьева Т.А.**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник
Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),
НИЛ «Молекулярная фармакология»
190013, Санкт-Петербург, Московский пр., д. 26, Российская Федерация
E-mail: aleksandrasagaidak@yandex.ru

Клеточные модели с ABC-транспортер-опосредованной устойчивостью активно используются в исследованиях биологической активности противоопухолевых препаратов – ингибиторов белков-транспортеров. В НИЛ «Молекулярная фармакология» методами селекции клеток HCT116 на таксоле, а также трансфекции в клетки HCT116 гена белка BCRP были созданы клеточные модели с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Резистентность полученных клеток оценивали по активности транспортеров МЛУ и уровням экспрессии их генов. Определено, что химиорезистентная клеточная модель характеризуется гиперэкспрессией Pgp и BCRP, при этом трансфецированная модель – только BCRP, однако ее создание требует значительно меньше времени.

Ключевые слова: *множественная лекарственная устойчивость, МЛУ, ABC-транспортеры, Pgp, BCRP, HCT116, таксол, трансфецированные клетки, родамин 123, хекст 33342, тариквидар, ортованадат натрия.*

По данным ВОЗ онкологические заболевания занимают второе место в структуре смертности населения по всему миру. При этом сохраняется рост заболеваемости – около 18 миллионов новых случаев за год [1].

Применение химиотерапевтических препаратов сопряжено с развитием ABC-транспортер-опосредованной множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), являющейся причиной более 90% случаев смерти онкологических больных. МЛУ выражается в повышении активности трансмембранных белков Р-гликопротеина (Pgp) и белка устойчивости рака молочной железы – BCRP – в опухолевых клетках, что приводит к выбросу лекарственных препаратов из клеток, и, соответственно, снижению эффективности противоопухолевых препаратов [2].

В рамках успешной разработки противоопухолевых препаратов, способных предотвращать развитие МЛУ, важное место занимает создание клеточных моделей опухолевых заболеваний, воссоздающих профили резистентности к препаратам различного механизма действия. Оценка биологической активности препаратов на стадии *in vitro* – важный шаг в создании высокоэффективных противоопухолевых лекарств.

Целью проводимого исследования было создание клеточных моделей с ABC-транспортер-опосредованной МЛУ методами селекции на препарате и трансфекции гена белка МЛУ с последующим определением профилей их резистентности.

Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. Создание клеточных линий аденокарциномы толстой кишки человека HCT116, резистентных к цитостатику таксолу;
2. Получение трансфецированной клеточной линии HCT116 с использованием плазмиды, включающей генный материал белка BCRP;
3. Оценка транспортной активности в клеточных линиях;
4. Оценка уровней экспрессии генов ABC-транспортеров в клеточных линиях.

Материалы и методы

Для выведения резистентных штаммов клеточную линию HCT116 дикого типа культивировали в питательной среде DMEM в присутствии таксола. Начальная концентрация препарата составила 0,01 μM. В качестве контроля выступали клетки HCT116 дикого типа, культивируемые без добавления препарата. По мере того, как скорость роста клеток на

препарате выравнивалась со скоростью роста контрольных клеток, осуществляли повышение концентрации препарата в 2-3 раза.

Подготовительные этапы создания трансфецированных клеток HCT116 включали получение электрокомпетентных клеток E. Coli (штамм DH5α), трансформацию бактериальных клеток с использованием плазмиды pSIN4-EF2-ABCG2-IRES-Neo (Addgene #25983), несущей генный материал белка BCRP, с помощью электропоратора MicroPulser, а также культивирование трансформированных бактерий при 37 °C на агаре в среде LB с добавлением ампициллина (100 мг/мл) для наработки плазмидной ДНК. Плазмидную ДНК выделяли с использованием набора GeneJET Plasmid Miniprep Kit, концентрацию полученной ДНК определяли на спектрофотометре NanoPhotometer N60. Непосредственно для трансфекции клетки HCT116 дикого типа за день были высеяны на 96-луночный планшет в количестве 1-2×10^4 клеток в 100 мкл среды DMEM на лунку. В день трансфекции к клеткам была добавлена смесь плазмидной ДНК и реагента FuGENE HD Transfection Reagent, использованного в соотношении с ДНК 3:1 (95 нг ДНК на лунку). После выдерживания клеток в инкубаторе в течение 24 часов при 37 °C клетки культивировали 2 суток в среде DMEM. Для селекции трансфецированных клеток в лунки добавляли раствор таксола – субстрата BCRP – в среде DMEM, в концентрации, вызывающей тотальную гибель HCT116 дикого типа (0,05 мкМ). Клетки, выжившие в результате селективного отбора, считали успешно трансфецированными.

Активность ABC-транспортеров оценивали по накоплению полученными клетками, а также клетками дикого типа, флуоресцентных красителей родамина 123 и хекста 33342 при использовании ингибиторов ABC-транспортеров тариквидара и ортованадата натрия. К опухолевым клеткам в среде Opti-Mem добавляли растворы тариквидара и ортованадата натрия в конечных концентрациях 5 мкМ и 500 мкМ, соответственно, а также растворы родамина 123, либо хекста 33342 (1 мкМ и 1,25 мкМ в лунке, соответственно). После 40-минутного окрашивания родамином 123, либо 30-минутного окрашивания хекстом 33342 в темноте растворы удаляли из лунок и клетки направляли на анализ планшетным ридером CLARIOstar и системой высокосодержательного анализа Operetta с использованием фильтров: brightfield (excit./emmis. – transmission/650-760 нм), rhodamine 123 (excit./emmis. – 460-490 нм/520-560 нм), hoechst 33342 (excit./emmis. – 360-400 нм/410-480 нм). В качестве контроля выступали клетки, окрашенные соответствующим красителем в отсутствие ингибиторов.

Уровни экспрессии генов ABC-транспортеров определяли методом ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР РВ). Полученные клеточные линии, а также клетки дикого типа, подвергали лизису с помощью реагента TRIzol с последующим выделением суммарной РНК. Концентрацию выделенной РНК определяли на спектрофотометре NanoPhotometer N60. Синтез кДНК проводили с использованием набора MMLV RT kit согласно протоколу: в реакционную смесь объемом 20 мкл добавляли 1 мкг РНК. Отжиг Oligo(dT) проводили с помощью амплификатора T100 Thermal Cycler при температуре 70 °C в течение 2 мин. Обратную транскрипцию проводили в аналогичном амплификаторе при температуре 41 °C в течение 60 мин. и 70 °C в течение 10 мин. ПЦР в реальном времени реализовывали на приборе CFX96 Touch Real-Time RCR, используя набор qPCRmix-HS SYBR. Реакционная смесь для ПЦР (25 мкл) включала 0,8 мкл матрицы, 1×смесь для ПЦР в реальном времени и 1 мкл каждого праймера. В роли референсного гена рассматривали ген домашнего хозяйства *GAPDH*. Количественную оценку генов ABC-транспортеров проводили методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$ относительно экспрессии референсного гена *GAPDH* в каждой линии клеток.

Результаты и обсуждение

В ходе рутинного культивирования опухолевых клеток HCT116 в присутствии цитостатика таксола получены клеточные линии, устойчивые к 0,01, 0,03, 0,06, 0,12, 0,24, 0,48, 0,96, 1,92 мкМ таксола. Адаптация клеток к таксолу в концентрации 1,92 мкМ – превышающей первоначальную практически в 200 раз – длится более 9 месяцев, что говорит о достижении предела выработки резистентности опухолевыми клетками к данному препарату. В связи с этим, для дальнейшего анализа были взяты клетки HCT116, устойчивые к 0,96 мкМ таксола, а также полученная трансфецированная линия HCT116.

Оценку транспортной активности белков семейства ABC в клетках осуществляли по накоплению в клетках их субстратов – красителей родамина 123 и хекста 33342. Родамин 123 представляет собой прижизненный митохондриальный флуоресцирующий краситель, который является классическим субстратом Pgp, в то время как ядерный краситель хекст 3342 – субстрат обоих транспортеров – Pgp и BCRP. Для получения эффекта ингибирования транспортеров использовали тариквидар – ингибитор третьего поколения, проявляющий высокое сродство к Pgp, и ортованадат натрия – неселективный ингибитор ABC-транспортеров.

Зафиксировано снижение накопления родамина 123 клетками, резистентными к 0,96 мкМ таксола, на 55 %. В случае трансфецированной линии снижение накопления R123 относительно клеток дикого типа не наблюдалось. Это говорит о повышенной транспортной активности белка Pgp в таксольных клетках в отличие от трансфецированной линии. Pgp-опосредованный механизм резистентности таксольных клеток также подтвержден значительным увеличением накопления красителя клетками при использовании ингибиторов.

При рассмотрении результатов накопления хекста 33342, характеризуемого как субстрат Pgp и BCRP, было выявлено снижение накопления красителя в клетках, резистентных к 0,96 мкМ, а также в трансфецированных клетках на 70 % и 80 %, соответственно. Это можно трактовать как активацию второго транспортера – BCRP – как в химиорезистентной, так и трансфецированной клеточной линии, что подтверждается результатами накопления клетками красителя при использовании ингибиторов различной селективности действия. Обработка таксольных клеток селективным тариквидаром позволила увеличить накопление красителя более чем в 1,5 раза, при этом на трансфецированных клетках эффект ингибирования был в разы меньше. Использование неселективного ортованадата натрия в обоих случаях привело к

увеличению накопления красителя клетками – в 2,3 раза в случае химиорезистентных клеток, в 1,5 раза – трансфецированных клеток.

Оценка уровней экспрессии генов ABC-транспортеров – Pgp (*ABCB1*) и BCRP (*ABCG2*) выявила значительное возрастание экспрессии *ABCB1* в клетках, устойчивых к 0,96 мкМ таксола, относительно аналогичного показателя в HCT116 дикого типа, при этом в трансфецированных клетках уровень экспрессии *ABCB1* не изменялся. В свою очередь, повышение уровня экспрессии гена *ABCG2* относительно уровня экспрессии в клетках дикого типа отмечалось сразу в двух клеточных моделях – в случае химиорезистных клеток больше чем в 50 раз, трансфецированных – больше чем в 1500 раз. Полученные результаты уровней экспрессии белков МЛУ в рассматриваемых линиях в полной мере подтверждают данные, полученные при оценке активности транспортеров.

Полученные результаты говорят о том, что в результате селекции HCT116 на 0,96 мкМ таксола были получены клетки с P-gp- и BCRP-опосредованной резистентностью. В свою очередь, трансфекция HCT116 с использованием плазмиды, включающей генный материал белка BCRP, позволила создать клеточную линию с BCRP-связанной устойчивостью.

Заключение

В результате выполнения работы получены клеточные модели с различной ABC-транспортер-опосредованной множественной лекарственной устойчивостью. Проведены селекция клеток HCT116 на цитостатике таксоле, а также трансфекция HCT116 с использованием плазмиды, включающей ген белка BCRP. Оценка сформированной резистентности осуществлялась посредством анализа транспортной активности, а также уровней экспрессии генов ABC-белков в созданных моделях. Выявлено, что профиль МЛУ таксольных клеток формирует гиперэкспрессия белков Pgp и BCRP, в то время как трансфецированные клетки характеризуются исключительно BCRP-опосредованной устойчивостью.

Созданные клеточные модели будут использоваться для оценки биологической активности как противоопухолевых препаратов, так и непосредственно ингибиторов соответствующих ABC-транспортеров.

Стоит отметить, что создание клеточной модели с МЛУ методом трансфекции имеет преимущество в виду быстрой реализации по сравнению с селекцией химиорезистентных клеток на препарате, однако селекция, в свою очередь, адекватнее отражает процессы, имеющие место в ходе терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 19-73-10150).

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.33.31: Культивирование клеток и тканей человека и животных
34.27.21: Генетика и селекция микроорганизмов

ЛИТЕРАТУРА

1. Mattiuzzi C., Lippi G. Current cancer epidemiology // Journal of epidemiology and global health. 2019. Vol. 9(4). P. 217-222. Doi: 10.2991/jegh.k.191008.001

2. MDM2 inhibitors as a platform for the design of P-glycoprotein inhibitors / T. Grigoreva [et al.] // Bioorganic & Medicinal chemistry letters. 2020. Vol. 30(18). P. 127-424. Doi: 10.1016/j.bmcl.2020.127424.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF CELLULAR MODELS WITH MULTIPLE DRUG RESISTANCE

Sagaidak A.V., postgraduate 3th year student
Academic advise: **Grigoryeva T.A.**, candidate of chemical sciences, senior scientific researcher
St. Petersburg State Institute of Technology (Technical University), Research Laboratory «Molecular Pharmacology»
190013, St. Petersburg, Moskovsky pr., 26, Russian Federation
E-mail: aleksandrasagaidak@yandex.ru

Cellular models with ABC-transporter-mediated resistance are actively used in studies of anticancer drugs, transporter inhibitors, biological activity. According to the HCT116 cells selection using taxol, as well as HCT116 cells transfection using plasmid with BCRP protein gene methods, in the Laboratory of Molecular Pharmacology were established cellular models with multiple drug resistance (MDR). Resistance of developed cells was assessed by activity of MDR transporters and expression levels of their genes. It was determined that chemoresistant cellular model is characterized by Pgp and BCRP proteins overexpression. Transfected cellular model overexpresses only BCRP, but, at the same time, its generation requires less time.

Keywords: *multidrug resistance, MDR, ABC transporters, Pgp, BCRP, HCT116, taxol, transfected cells, rhodamine 123, hoechst 33342, tariquidar, sodium orthovanadate.*

REFERENCES

1. Mattiuzzi C., Lippi G. Current cancer epidemiology // Journal of epidemiology and global health. 2019. Vol. 9(4). P. 217-222. Doi: 10.2991/jegh.k.191008.001

2. MDM2 inhibitors as a platform for the design of P-glycoprotein inhibitors / T. Grigoreva [et al.] // Bioorganic & Medicinal chemistry letters. 2020. Vol. 30(18). P. 127-424. Doi: 10.1016/j.bmcl.2020.127424.

УДК 615:32

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТХОДОВ ЯНТАРНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЛЕЧЕБНОЙ КОСМЕТИКИ

Сергеева Е.О., студ. 4 курса
Руководитель: **Глазова Н.В.**, канд. хим. наук, доц. кафедры биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14 Российская Федерация
E-mail: elena.sergeeva@spcpu.ru

Целью работы является разработка метода сорбционной иммобилизации фермента *а*-амилазы на янтарной пудре. Проведено исследование сорбционных процессов с использованием гидролитического фермента *а*-амилазы на отходах янтарной промышленности (янтарной пудре). Осуществлен анализ способности *а*-амилазы к иммобилизации на янтарной пудре. Исследован процесс сорбции амилазы на мелкодисперсной фракции янтарной пудры, построены изотермы сорбции для одной фракции янтарного носителя.

Ключевые слова: *янтарная пудра, ферменты, сорбция, янтарь, сорбционная иммобилизация, косметические средства.*

Ферменты активно находят свое применение в сфере косметологии, они входят в состав различных косметических средств, которые борются с несовершенствами кожи. В настоящий момент ферменты входят в состав таких средств, как скрабы, энзимные пудры, сыворотки, крема, умывающие средства. Применение ферментов- амилазы, протеазы, липазы, бромелайна, папаина, трипсина, химотрипсина дало толчок к развитию космецевтики, на данный момент именно с этими ферментами ведется работа на кафедре биотехнологии. Амилаза-фермент, получаемый с использованием биотехнологий, а именно микробным синтезом из бактерии *Bacillus Subtilis*, относится к классу гидролаз, в космецевтике применяется как агент, способный расщеплять отмершие клетки эпидермиса, то есть работает на поверхностном слое кожи и не способен проникнуть вглубь и влиять на процессы метаболизма кожи, как и большинство косметических средств. Для достижения лечебного эффекта используется в комплексе с липазой. Липаза-фермент, относящийся к классу гидролаз, катализирует расщепление жиров. Данный фермент также является продуктом биотехнологий. В космецевтике используется Рекомбинантная Липаза PB500, полученная из *Thermus thermophilus* и производится в *E. Coli*, преимуществом которой является отсутствие гормон-чувствительности, в результате чего фермент имеет высокую липолитическую активность. Как известно, липаза действует на клетки жировой ткани (адипоциты), расщепляя триглицериды до глицерола и жирных кислот, при этом клетка адипоцита не разрушается, что позволяет косметическим средствам оказывать мягкое и эффективное воздействие. Липаза используется в антицеллюлитных гелях, средствах для акне и очищения жирной кожи. Протеаза-фермент, относящийся к классу гидролаз, катализирует расщепление белков и пептидов, действует в поверхностном слое кожи (эпидермисе) и не влияет на процессы метаболизма кожи, способна разрушать связи между роговыми чешуйками кожи, оказывая мягкое отшелушивание [1]. Также объектом исследования, кроме ферментов, является янтарная пудра, являющаяся отходом янтарной промышленности, на данный момент она используется в космецевтике в качестве скрабов для кожи. В составе янтарной пудры есть янтарная кислота, которая обладает антиоксидантными свойствами и нейтрализует свободные радикалы, образующиеся за счет действия различных факторов на организм [2]. В сфере биотехнологий янтарная пудра рассматривается в качестве носителя для иммобилизации активных фармацевтических субстанций (ферментов), и иммобилизованные ферменты на янтарном носителе используются в качестве энзимной пудры и скраба.

Целью данной работы является разработка метода сорбционной иммобилизации предварительно очищенной от примесей *а*-амилазы на янтарной пудре.

Задачи работы:

- провести подготовку янтарного носителя к иммобилизации ферментов для получения достоверных результатов;
- провести очистку препарата «Амилосубтилин» с помощью метода «молекулярных сит»;
- изучить зависимость емкости сорбции *а*-амилазы от pH;
- провести сорбционную иммобилизацию *а*-амилазы на мелкодисперсной фракции янтарной пудры;
- провести анализ активности иммобилизованного фермента на носителе.

Материалы и методы

Объект исследования: янтарная пудра одной фракции с размером частиц 50 мкм (производитель ОА «Мединторг»), препарат «Амилосубтилин» ГХЗ ПО «Сиббиофарм».

Амилосубтилин-это технический ферментный препарат, содержащий комплекс нейтральных и щелочных протеаз и сопутствующие ферменты: *а*-амилазу, липазу, *β*-глюконазу, ксиланазу. Получают биосинтезом при культивировании *Bacillus subtilis,* после чего отделяют биомассу, сушат распылительной сушкой и фасуют в брикеты с добавлением большого количества солей во избежание увлажнения.

В процессе работы применялись растворы ацетона 50% и 100% концентрации, буферные растворы (ацетатные с pH=4; 6, фосфатные с pH=7, боратные с pH=9), 1 М раствор NaOH, раствор HCl, модельный раствор *а*-амилазы (готовили из препарата «Амилосубтилин»), 0.5 н раствор NaOH, реактив Фолина фирмы Merck, 0,1 н раствора HCl, рабочий раствор йода.

Были определены концентрации общего белка по методу Лоури, используя реактив Фолина фирмы Merck [3].

Амилолитическая активность определялась по модифицированному методу Рухлядевой. Единицей амилолитической активности является такое количество фермента, которое катализирует расщепление 1 грамма крахмала за 10 минут при 30°С и pH=6 на 30%.

Метод «молекулярных сит» основан на применении сорбентов, содержащих много сшивающего агента, они отделяют большие молекулы, которые не могут проникнуть в сорбент, от малых, остающихся на сорбенте.

Оборудование: центрифуга ОПн-12 фирмы Dastan, сорбционные колонки, шейкер фирмы Biosan, спектрофотометр Shimadzu (ультрафиолетовый спектр), спектрофотометр ПЭ-5400УФ (видимый спектр), водяная баня UT-4313.

Результаты и обсуждение

1. Подготовка носителя для иммобилизации ферментов

Для того, чтобы получить достоверные результаты исследования, необходимо произвести подготовку носителя (янтарной пудры), а именно очистить от примесей белковой природы и загрязнений. Брали навески фракции 50 мкм янтарной пудры массой 100 мг, обрабатывали ацетоном в определенном порядке: сначала обрабатывали 50% раствором ацетона, затем оставляли на 30 минут в 100% ацетоне, далее производили фильтрацию с помощью бумажного фильтра и просушивали. В последующих действиях была проведена кислотная обработка янтарного носителя 1 М раствором HCl, в таком состоянии его оставляли на сутки, после чего производили промывку очищенной водой и корректировали до значений pH=5,5. После кислотной обработки проводили щелочную обработку: янтарную пудру оставляли погруженной на сутки в 1 М раствор NaOH, после чего промывали очищенной водой с корректировкой pH до значений 5,5. После проведения кислотной и щелочной обработки навески янтарного носителя была проведена фильтрация и сушка [4].

2. Очистка препарата «Амилосубтилин» ГХЗ ПО «Сиббиофарм» с помощью метода «молекулярных сит».

Приготовленный раствор Амилосубтилина, помимо низкомолекулярных примесей, содержит большое количество солей. Для решения проблемы был выбран метод «молекулярных сит» – деминерализация на сорбенте КУ-2-20 с последующей нейтрализацией на сорбенте ЭДЭ-10-П.

Уравнение деминерализации:

$$RSO_3H^+ + Me^+X^- + \varepsilon = RSO_3Me^+ + H^+X^- + \varepsilon$$

Уравнение нейтрализации:

$$R^+OH^- + H^+X^- + \varepsilon = R^+ + X^- + H_2O + \varepsilon$$

Готовили раствор препарата «Амилосубитилин», после чего центрифугировали 20 минут при 6000 об/мин на центрифуге, получали фугат и использовали его в работе. Далее была проведена подготовка сорбентов и сорбционных колонок: сорбенты КУ-2-20 и ЭДЭ-10-П заливали водой и оставляли на 15 минут набухать, после чего производили загрузку сорбентов, смывая остатки сорбента водой. Полученный раствор *а*-амилазы после центрифугирования заливали в колонку, где находился сорбент КУ-2-20 в H^+-форме, и проводили деминерализацию. Данный сорбент является гелевым, имеет внутри каналы, в которые проходят малые ионы солей, и не проходят большие молекулы фермента. В процессе деминерализации происходит закисление за счет ионов водорода, которыми обладает сорбент КУ-2-20, поэтому полученный раствор после деминерализации отправляли на вторую колонку с сорбентом ЭДЭ-10-П и проводили нейтрализацию. Данный сорбент используется в ОН-форме для того, чтобы убрать ионы водорода, находящиеся в растворе *а*-амилазы [5].

3. Изучение зависимости емкости сорбции амилазы от pH

Изучение зависимости емкости сорбции ферментов от pH является важным шагом для проведения иммобилизации, так как подбирается такое значение pH, при котором емкость сорбции будет максимальна. Для выявления зависимости сорбционной емкости от pH, был проведен следующий эксперимент: были взяты навески янтарной пудры (фракция 50 мкм) массой 100 мг, каждую из которых погрузили в буферный раствор с определенным значением pH и выдерживали сутки в данном растворе, после чего проводили фильтрацию на бумажном фильтре и сушку навесок. Далее готовили модельный раствор амилазы на фосфатном буфере с pH=6, после чего отбирали по 5 мл данного раствора и заливали им навески обработанной янтарной пудры. Сорбцию проводили в статических условиях на шейкере в течение 24 часов при постоянном перемешивании. После сорбции провели фильтрацию и получили надосадочную жидкость, для которой далее определяли равновесную концентрацию белка в растворе.

Расчет емкости сорбции:

$$m_{\text{сорб}} = \frac{(c_{\text{исх}} - c_{\text{равн}}) \cdot V_{\text{пр}}}{m_{\text{сорбента}}},$$

где $m_{\text{сорб}}$ – емкость сорбции, мг/г;

$c_{\text{исх}}$ – концентрация белка в исходном растворе, мг/мл;

$c_{\text{равн}}$ – концентрация белка в надосадочной жидкости после сорбции, мг/мл;

$V_{\text{пр}}$ – объем пробы, 5 мл;

$m_{\text{сорбента}}$ – масса навески янтарной пудры, 0,1 г.

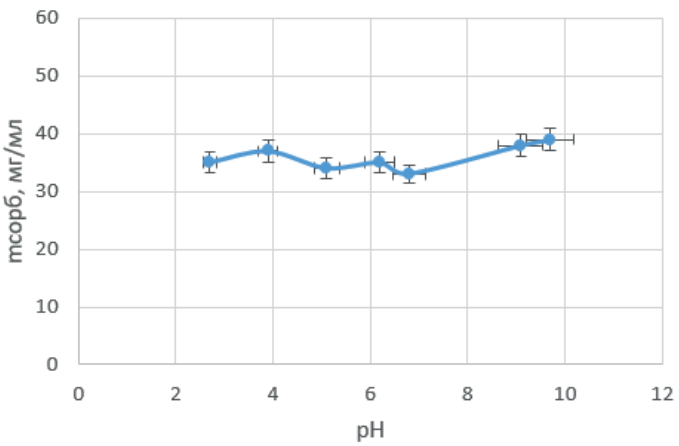


Рисунок 1. Зависимость емкости сорбции одной фракции янтарной пудры от значения pH

По графику очевидно, что емкость сорбции не зависит от pH, из этого следует, что янтарная пудра-молекулярный сорбент.

4. Получение изотерм сорбции α-амилазы

Для получения изотерм сорбции использовали раствор *α*-амилазы, полученный после очистки методом «молекулярных сит». Из данного раствора готовили растворы различных концентраций и активностей. Все исходные концентрации и активности были измерены и проверены до постановки эксперимента. Далее брали навески янтарной пудры (m=100 мг) и заливали их 5 мл растворов разных концентраций и активностей. Сорбцию вели при статических условиях на шейкере в течение 24 часов при температуре 22°С. После проведения сорбции растворы профильтровали и измерили концентрации общего белка и активности в равновесных растворах. Далее была рассчитана концентрация сорбированных на янтарном носителе ферментов:

$$\bar{C} = C_{исх} - C_{равн},$$

где $\bar{C}$ – концентрация сорбированных на янтарном носителе ферментов, мг/мл;
$C_{исх}$ – исходная концентрация фермента в растворе, мг/мл;
$C_{равн}$ – равновесная концентрация фермента в растворе, мг/мл.

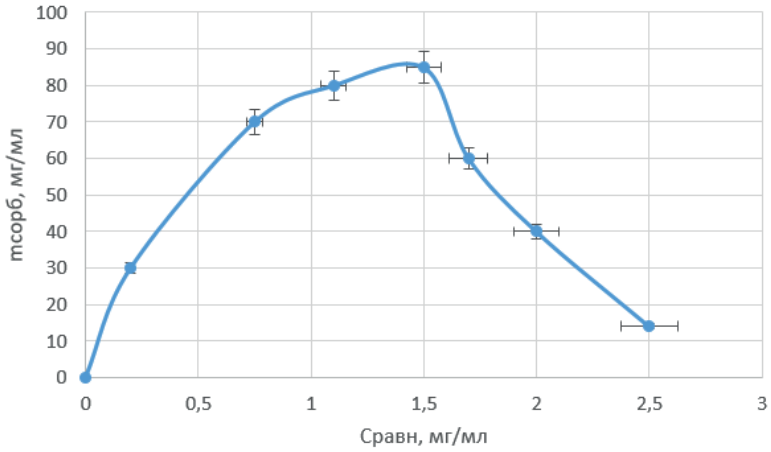


Рисунок 2. Изотерма сорбции раствора *α*-амилазы по белку

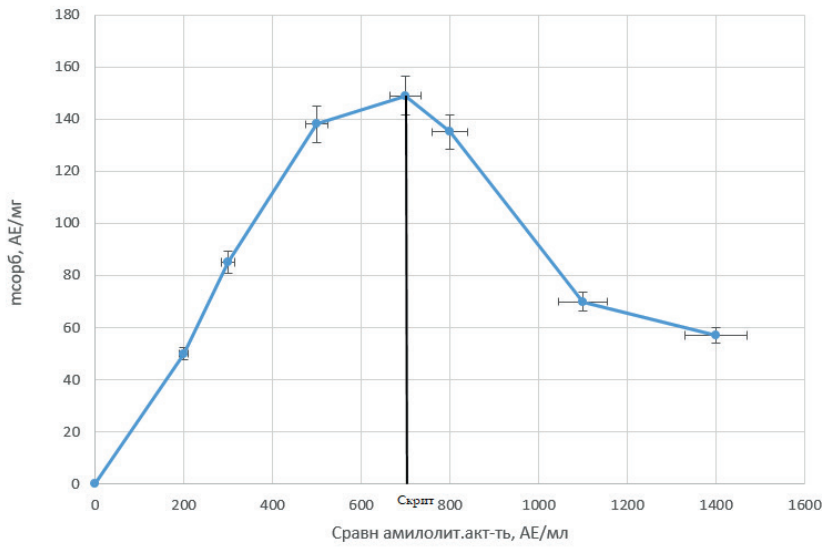


Рисунок 3. Изотерма сорбции раствора *а*-амилазы по амилолитической активности

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что тип изотерм- аномальный, такой тип изотермы, как правило, связан с наличием ассоциатов. Известно, что *а*-амилаза, как и многие белки, способна к ассоциации, поэтому сорбцию необходимо проводить до критической точки образования ассоциатов.

5. Анализ активности иммобилизованного фермента на носителе

После того, как была получена изотерма сорбции *а*-амилазы по амилолитической активности, рассчитали емкость сорбции по активности до критической точки образования ассоциатов. Собрали фракцию с наибольшей удельной активностью (140 АЕ/мг), отфильтровали, просушили и провели эксперимент с проверкой активности иммобилизованного фермента в зависимости от времени и температуры хранения, эксперименты проводились при комнатной температуре (25°С) и на холоду (5°С), так как в состав косметического средства входит фермент, который является лабильным веществом и может инактивироваться при повышенных температурах. В настоящее время активность не менялась в течение месяца. На данный момент эксперимент продолжается.

Таблица – Проверка стабильности фракции с наибольшей удельной активностью

Неделя	1	2	3	4
Активность, АЕ/мг	140	140	140	140

Заключение

Была проведена подготовка янтарного носителя к иммобилизации ферментов. Проведена очистка препарата «Амилосубтилин» с помощью метода «молекулярных сит»-деминерализации и нейтрализации. Изучена зависимость емкости сорбции амилазы от pH, было выяснено, что емкость сорбции не зависит от pH, а янтарная пудра является молекулярным сорбентом. Проведена сорбционная иммобилизация *а*-амилазы на мелкодисперсной фракции янтарной пудры, получены изотермы сорбции по концентрации и амилолитической активности. Проведен анализ активности иммобилизованного фермента-*а*-амилазы на носителе (янтарной пудре). На данный момент планируется продолжение работы по иммобилизации следующих ферментов: протеаза, липаза, лидаза, химопсин, трипсин.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00. Биотехнология
62.09.99. Прочие виды биотехнологического сырья
62.13.41. Биотехнологическое получение ферментных препаратов

ЛИТЕРАТУРА

1. Бызгаева А.В., Балдынова Ф.П. Оценка влияния ферментированной косметической маски на внешний вид кожи: сборник материалов конференций Международной студенческой научной конференции «Поколение будущего», Санкт-Петербург, 28-31 января 2018 г. СПб.: Изд-во ГНИИ «НацРазвитие», 2018. С. 116-212.

2. Балакина М.В. Янтарная косметика на основе природного минерала или синтетических аналогов. – М.: Сырье и упаковка: для парфюмерии, косметики и бытовой химии, 2021. С. 14-16.

3. Protein measurement with Folinphenol reagent / O.H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193(1). P. 265-275.

4. Брюккель А.Г., Федотова А.А. Изучение сорбционной иммобилизации ферментов на молекулярном носителе (янтарной пудре): сборник материалов XI Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным

участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург,15-23 апреля 2021 г. СПб.: Изд-во СПХФА, 2021. С. 277-280.

5. Скоупс Р. Методы очистки белков. Москва: Мир, 1985. С. 240.

SUMMARY

USE OF AMBER INDUSTRY WASTE TO CREATE MEDICINAL COSMETICS

Sergeeva E.O., 4th year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: elena.sergeeva@spcpu.ru

The target of the work is to develop a method of sorption immobilization of α-amylase enzyme on amber powder. A study of sorption processes using the hydrolytic enzyme α-amylase on amber industry wastes (amber powder) was carried out. Analysis of the ability of α-amylase to immobilization on amber powders was carried out. The process of amylase sorption on amber industry wastes was studied; sorption isotherms were constructed for one fraction of amber carrier.

Keywords: *amber powder, enzymes, sorption, amber, sorption immobilization, cosmetics.*

REFERENCES

1. Byzgaeva, A.V., Baldynova, F.P. Evaluation of the effect of fermented cosmetic mask on the appearance of the skin: collection of conference materials of the International student scientific conference «Generation of the future», St. Petersburg, January 28-31, 2018. SPb: Publishing house of the State Research Institute «NatsRazvitiye», 2018. P.116-212. (In Russian)

2. Balakina, M.V. Amber cosmetics based on natural mineral or synthetic analogues / M.V. Balakina. – Moscow: Raw materials and packaging: for perfumery, cosmetics and household chemistry, 2021. – P.14-16. (In Russian)

3. Protein measurement with Folinphenol reagent / O.H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193(1). P. 265-275.

4. Brukkel A.G., Fedotova A.A. Study of sorption immobilization of enzymes on a molecular carrier (amber powder): proceedings of the XI All-Russian Scientific Conference of undergraduate and graduate students with international participation «Young pharmacy – potential of the future», St. Petersburg, April 15-23, 2021 St. Petersburg: Publishing house of SPHFA, 2021. P. 277-280. (In Russian)

5. Scopes R. Protein purification methods. Moscow: Mir, 1985. P.240. (In Russian)

УДК 615:32

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТХОДОВ ЯНТАРЯ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Федотова А.А., студ. 4 курса
Руководитель: **Глазова Н.В.**, канд.хим.наук, доц. кафедры биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14 Российская Федерация
E-mail: aleksandra.fedotova@spcpu.ru

Подобраны условия экстракции БАВ из янтарной пудры. Проведен гель-хроматографический анализ экстрактов, полученных с использованием различных экстрагентов. Показано, что при экстракции в физиологическом растворе содержатся белки различной молекулярной массы и пептиды. При экстракции же органическими растворителями хроматографический анализ не показал наличие белковых фракций, но выявил наличие пептидов и смоляных кислот, которые были детектированы с помощью спектрального анализа.

Ключевые слова: *янтарь, янтарная пудра, экстракция, органический растворитель, хроматографическое разделение, смоляные кислоты.*

Повышенный интерес к исследованию отходов янтарной промышленности, в первую очередь, связан с экономически выгодным расположением месторождений янтаря, а именно – Калининграда и Калининградской области. Основным экспортером янтаря по всему миру является именно Калининград, таким образом, проблема недостатка исходного сырья для исследований исчерпана. В настоящее время янтарь используется не только в качестве косметических средств, но и как ценный биологически активный объект. В составе янтаря содержится довольно много БАВ. Одними из таких БАВ являются и смоляные кислоты, являющиеся монокарбоновыми трициклическими кислотами и соответствующие общей формуле $C_{19}H_nCOOH$. Они различаются друг с другом положением и строением двойных связей в их составе, а также наличием заместителя при углероде в положении С-13. Исследование смоляных кислот началось с абиетиновой кислоты. Впоследствии, установив формулу вышеуказанной, были найдены и другие (неоабиетиновая, левопимаровая

и палюстровая). Ранее смоляные кислоты получали исключительно путем выделения из смолы хвойных деревьев или химическим синтезом, что было связано со сложностью технологического процесса, материалоемкими методами перевода в подходящую форму выделения. Получение практически чистых смоляных кислот не представлялось возможным, так как оказалось экономически невыгодно, выделяли их смесь. [1] В последние годы было показано, что смоляные кислоты, в частности абиетиновая кислота, может обладать антибиотической активностью в отношении Г (+) бактерий. В частности, исследована антибиотическая активность в отношении метициллин-резистентных штаммов Staphylococcus aureus. Стоит также отметить метициллин-резистентный штамм Staphylococcus pseudintermedius, являющийся нормальным обитателем кожи и слизистых здоровых собак и кошек. Данный штамм за последнее десятилетие превратился в критически условно-патогенный для животных, что также влечет за собой опасность для здоровья человека. На практике инфекции, вызванные St. pseudintermedius у человека, очень часто неточно идентифицируют как вызванные штаммом St. aureus. Абиетиновая кислота сильно снижает рост вышеуказанного штамма, проявляя при этом бактериостатическую активность. В сочетании же абиетиновой кислоты с оксациллином чувствительность штаммов к антибиотику значительно возрастает. [2] Поэтому разработка методов выделения смоляных кислот из отходов янтаря является актуальной задачей.

Целью данной работы является разработка условий выделения смоляных кислот методом экстракции и изучение их свойств с помощью хроматографического анализа.

Основными задачами данной работы являются:

• Подобрать наиболее эффективный экстрагент для выделения смоляных кислот;
• Провести гель-хроматографический анализ полученного экстракта с использованием различных носителей;
• Определение молекулярного состава экстракта с помощью элютивной гель-хроматографии;
• Осуществить спектральное детектирование наличия смоляных кислот;

Материалы и методы

Объект исследования: янтарная пудра фракции с размером частиц 50, 150, 200 мкм (производитель ОА «Мединторг»).

Декстрановые гели марки Sephadex (G-75, G-25, G-10) с диапазоном фракционирования соответственно 30-80 кДа, 1-5 кДа и 0-700 Да.

В качестве стандарта смоляных кислот были использованы образцы абиетиновой, палюстровой и неоабиетиновой кислоты, приобретенные у ООО «Кристалл-Сервис».

Таблица 1 – Физико-химические свойства основных смоляных кислот

Наименование кислоты	Молекулярная масса, г/моль	λ, нм	Т.пл., °С
Абиетиновая кислота	302, 45	241	171-172
Неоабиетиновая кислота		250-251	177,5-179
Палюстровая кислота		265-266	167,5-169

Были использованы раствор 0,9 NaCl, раствор 0,5 н NaOH, фосфатный буферный раствор с pH=8, реактив Фолина (ООО «Merck RGaA»), 30% раствор ацетона в фосфатном буфере, 20% раствор спирта в фосфатном буфере. Концентрация общего белка определялась по методу Лоури. [3]

Результаты и обсуждение

1. Подбор условий экстракции

В предыдущей работе был проведён микроскопический анализ фракций, в ходе которого было выяснено, что оптимальным содержанием смоляных кислот обладает фракция 50 мкм. [4] Для анализа оптимальных условий экстракции были выбраны несколько видов растворителей.

1.1 Экстракция в физиологическом растворе (0,9 % NaCl)

Навеска янтарной пудры массой 150 мг была помещена в физиологический раствор, экстракция проводилась на шейкере инкубаторе Biosan при 24°С в течение 24 часов.

В результате экстракции при последующем гель-хроматографическом анализе на Sephadex G-75 были выявлены две пептидные фракции и одна белковая:

Молекулярные массы определялись по предварительно построенным калибровкам хроматографических колонок. Анализ пиков показал следующее распределение молекулярных масс: 1 – 48 000, 2 – 6500 и 3 – менее 5000 Да. Отсутствие смоляных кислот при экстракции с помощью физиологического раствора связано с их способностью переходить в натриевую форму.

Дальнейший подбор других растворителей для экстракции связан с особенностью физико-химических свойств смоляных кислот, а именно их способностью растворяться в органических растворителях.

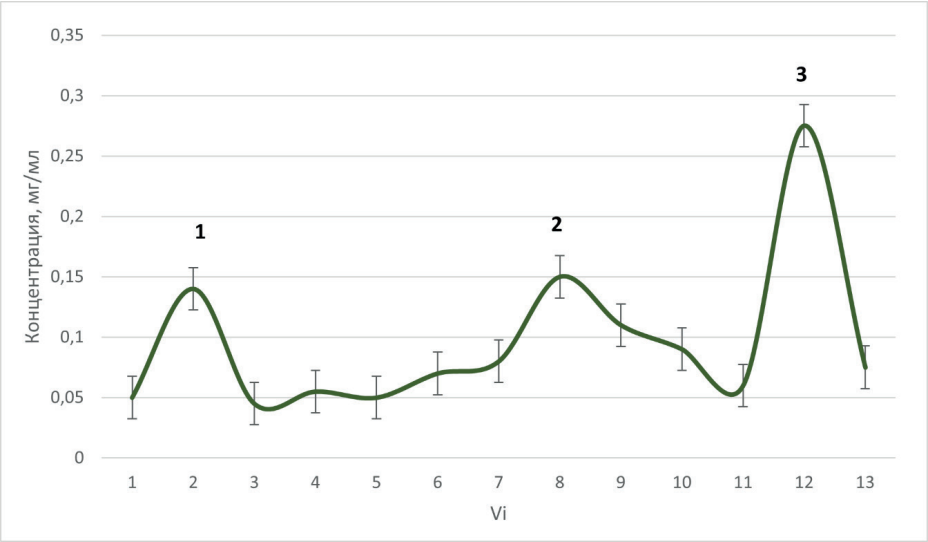


Рисунок 1. Гель-хроматограмма экстракта в 0,9 % NaCl

1.2 Экстракция в 20% растворе спирта в фосфатном буфере (pH=8).

Процесс экстракции был проведен с теми же навесками янтарной пудры при аналогичных условиях. Полученный помутненный экстракт отфильтровывали и определяли концентрацию общего белка по Лоури, которая была минимальна. [3]

1.3 Экстракция в 30% растворе ацетона в фосфатном буфере (pH=8).

Для данного растворителя экспериментально были подобраны оптимальные условия экстракции: температура экстракции была понижена до 22°С, а длительность экстракции увеличена до 48 часов. Из литературных источников известно, что смоляные кислоты хорошо растворимы в полярных органических растворителях, вследствие чего возможна их экстракция из янтарной пудры. В то время как белки не способны экстрагироваться, что позволяет успешно осадить их.

Стоит также отметить, что экспериментальным опытом было показано, что 30 % раствор ацетона в фосфатном буфере не способствует разрушению декстранового носителя во время последующего хроматографического разделения.

2. Гель-хроматографический анализ на различных декстрановых носителях.

Полученный экстракт в 30% растворе ацетона подвергался хроматографическому разделению на декстрановых носителях марки Sephadex различного размера (G-75, G-25, G-10).

Для проведения анализа на каждую колонку, заполненную соответствующим декстрановым носителем, было нанесено 0,5 мл полученного экстракта. В качестве элюента был выбран фосфатный буферный раствор с pH=8. Фракции отбирались при пониженной скорости элюирования: для G-75 по 1 мл 10 фракций, для G-25 по 0,5 мл 15 фракций, а для G-10 по 0,5 мл 20 фракций. Каждая фракция подвергалась анализу концентрации общего белка с целью получения гель-хроматограмм. Полученные кривые зависимости концентрации белка в мг/мл от объема фракции имели вид:

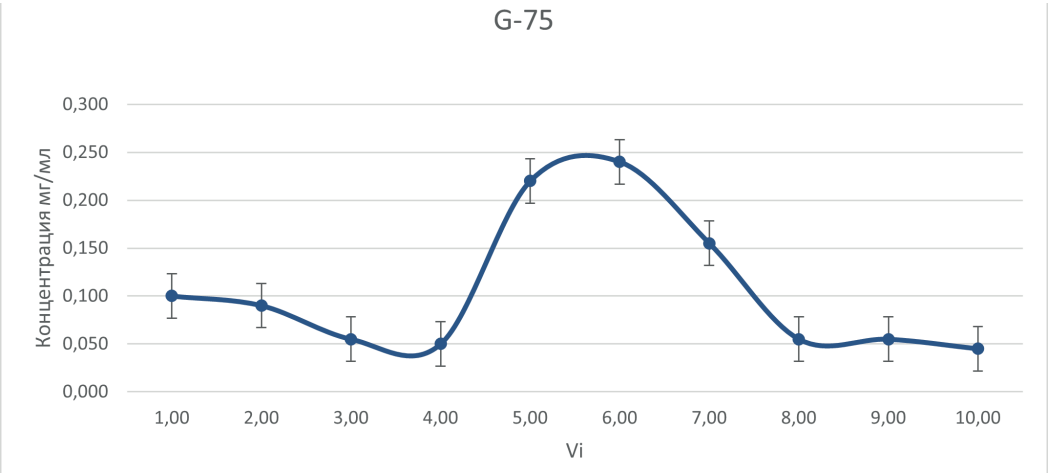


Рисунок 2. Гель-хроматограмма экстракта на декстрановом носителе Sephadex G-75

Полученная хроматограмма имеет выраженный пик между 5 и 6 фракцией и является пептидом с молекулярной массой около 1000 Да. Результаты говорят об эффективности применяемого экстрагента – удалось избавиться от высокомолекулярных примесей. Тем не менее, в силу отсутствия характерного пика для детектирования смоляных кислот, было принято решение провести хроматографическое разделение на других марках Sephadex с меньшим диапазоном фракционирования G-25 – 1-5 кДа и G-10 – 0-700 Да.

Полученные хроматограммы имели вид:

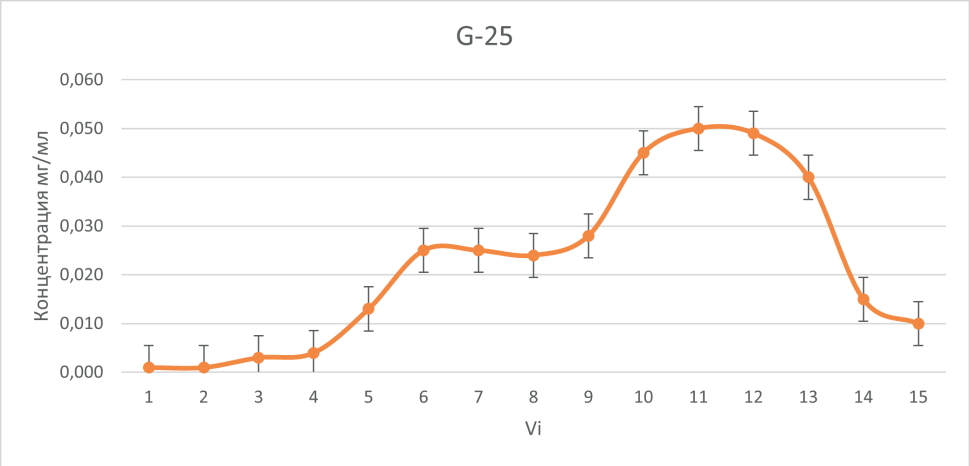


Рисунок 3. Гель-хроматограмма экстракта на декстрановом носителе Sephadex G-25

Из полученной хроматограммы видно, что пик соответствует той же самой фракции пептидов. Анализ был повторен с целью выявления более низкомолекулярных смоляных кислот.

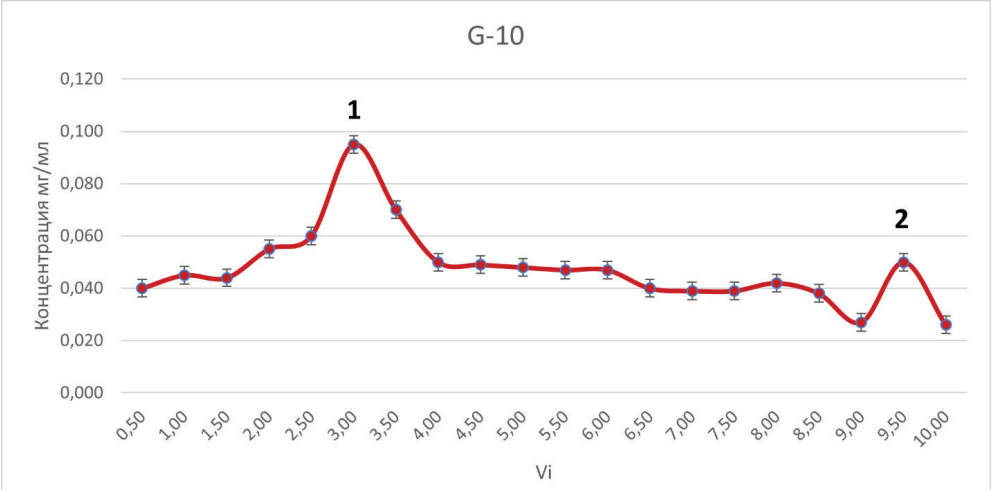


Рисунок 4. Гель-хроматограмма экстракта на декстрановом носителе Sephadex G-10

На данной же хроматограмме виден характерный пик пептидной фракции (1), а также второй пик (2), предположительно, соответствующий смоляной кислоте. С целью подтверждения детектирования наличия смоляных кислот в экстракте, было решено провести спектральный анализ.

3. Спектральный анализ полученного пика в экстракте

В качестве прибора для спектрального детектирования полученной фракции был выбран спектрофотометр Shimadzu UV mini-1240. Получены следующие результаты:

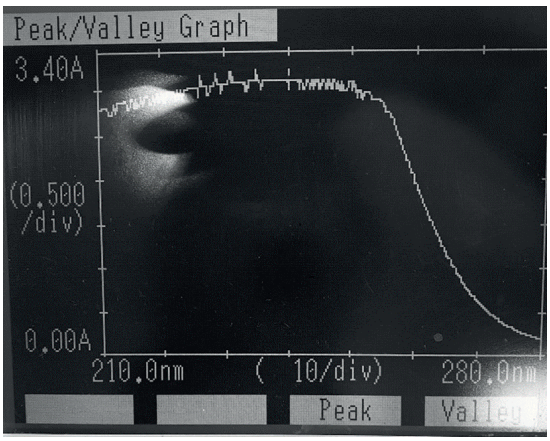


Рисунок 5. Спектр экстракта в 30% растворе ацетона

Из представленного спектра видно, что полученный пик соответствует области детектирования абиетиновой кислоты (241 нм). Значение оптической плотности в максимуме при 241 нм составило 3,405 ABS.

Также с помощью другого спектрофотометра СФ-2000 был проведен расширенный анализ спектра данной фракции экстракта, из которого явно было видно наличие характерного пика для абиетиновой кислоты (241 нм), а также других пиков, соответствующих смоляным кислотам: 250-251 нм – для неоабиетиновой кислоты, 265-266 – для палюстровой.

Последующие экспериментальные данные будут получены с использованием ВЭЖХ для более точного детектирования наличия смоляных кислот в экстракте, полученном предложенным выше способом. Работы по изучению выделения смоляных кислот из отходов янтарной промышленности (янтарной пудры) продолжаются.

Заключение

Подобран наиболее эффективный экстрагент для выделения смоляных кислот. Проведена гель-хроматография полученного экстракта на различных носителях. Получены гель-хроматограммы, иллюстрирующие наличие белковых и пептидных фракций, а также наличие смоляных кислот в экстракте. Осуществлено спектральное детектирование, показавшее наличие абиетиновой, неоабиетиновой и палюстровой кислот в полученном экстракте.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00 Биотехнология

62.09.99 Прочие виды биотехнологического сырья

ЛИТЕРАТУРА

1. Комшилов Н. Ф. Канифоль, ее состав и строение смоляных кислот. М.: Лесная промышленность. 1965. 158 с.

2. Synergistic effect of abietic acid with oxacillin against methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius / E. Buommino [et al.] // Antibiotics. 2021. Vol. 10(1). P. 80. DOI: 10.3390/antibiotics10010080

3. Protein measurement with Folinphenol reagent / O.H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193(1). P. 265-275.

4. Брюккель А.Г., Федотова А.А. Изучение сорбционной иммобилизации ферментов на молекулярном носителе (янтарной пудре): сборник материалов конференции «Молодая Фармация – Потенциал будущего». 2021. Т.1. С. 277-280.

SUMMARY

USE OF AMBER WASTE FOR ISOLATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Fedotova A.A., 4th year student

Academic advise: **Glazova N.V.**, Candidate of Chemical Sciences, Senior Lecturer

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: aleksandra.fedotova@spcpu.ru

The conditions for the extraction of biologically active substances from amber powder have been selected. Gel chromatographic analysis of extracts obtained using various extractants was carried out. It has been shown that after extraction by using the physiological solution, the extract contains proteins of various molecular weights and peptides. When extracted with organic solvents, chromatographic analysis did not show the presence of protein fractions, but revealed the presence of peptides and resin acids, which were detected using spectral analysis.

Keywords: *amber, amber powder, extraction, organic solvent, chromatographic separation, resin acids.*

REFERENCES

1. Komshilov H.F. Rosin, its composition and structure of resin acids. M.: Timber industry. 1965. 158 p. (in Russian)

2. Synergistic effect of abietic acid with oxacillin against methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius / E. Buommino [et al.] // Antibiotics. 2021. Vol. 10(1). P. 80. DOI: 10.3390/antibiotics10010080

3. Protein measurement with Folinphenol reagent / O.H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193(1). P. 265-275.

4. Bryukkel A.G., Fedotova A.A. Study of sorption immobilization of enzymes on a molecular carrier (amber powder): proceeding of conference «Young Pharmacy – Potential of the Future». 2021. Vol.1. P. 277-280. (in Russian)

УДК 57.042.5

ИНДУКТОРЫ БИОСИНТЕЗА ЛИПАЗЫ И КИСЛОЙ ПРОТЕАЗЫ МИКРОМИЦЕТОМ *ASPERGILLUS ORYZAE*

Фитова В.Д., Карандашова С.С., студ. 4 курса
Руководитель: **Топкова О.В.**, канд. биол. наук, доц. каф. Биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: veronika.fitova@spcpu.ru

Изучена регуляция биосинтеза кислой протеазы и липазы культурой микромицета *Aspergillus oryzae* штамм 55 при добавлении в питательную среду индукторов – линолевой кислоты и твина-80. По результатам проведенных исследований установлено, что внесение в питательную среду данных веществ способствует увеличению активности пищеварительных ферментов.

Ключевые слова: *Aspergillus oryzae, культивирование, пищеварительные ферменты, кислая протеаза, липаза, индукторы биосинтеза.*

Темп современной жизни постоянно ускоряется, что влечет за собой неправильное питание и стрессы. Вследствие этого увеличивается количество заболеваний желудочно-кишечного тракта. Важнейшей профилактикой заболеваний ЖКТ является заместительная ферментная терапия. Важнейшими пищеварительными ферментами являются лигазы, к которым относятся протеаза и липаза. Липаза участвует в расщеплении жиров, а протеаза расщепляет пептидную связь между аминокислотами в молекуле белков. Кислая протеаза обладает достаточно высокой кислотоустойчивостью (максимальная активность наблюдается при pH = 2,0-5,0), что делает ее защищенной от кислой среды желудка.

Гриб *Aspergillus oryzae* активно используется в пищевой технологии для приготовления ферментированных продуктов и напитков, кроме того, он используется в фармацевтической промышленности как продуцент ряда ферментов, в том числе кислой протеазы и липазы.

Цель данной работы: повышение ферментативной активности продуцента *Aspergillus oryzae*.

Задачи: исследование путей оптимизации питательных сред и поиск наилучших индукторов для повышения активности ферментов.

Материалы и методы

В качестве посевного материала использовали суспензию спор культуры гриба *Aspergillus oryzae*, выросшего в пробирке на скошенном сусло-агаре. Для получения суспензии спор в пробирку со зрелой культурой асептично добавляли 10 мл стерильного физиологического раствора, суспендировали и стандартизировали, асептично внося в колбу со 100 мл стерильного 0,9% раствора хлорида натрия.

Глубинное культивирование продуцента проводили в колбах Эрленмейера объемом 750 мл с жидкой питательной средой при непрерывном перемешивании на качалке со скоростью вращения 220 об/мин при температуре 28±1 ^{0}C в течение 72 часов. Количество посевного материала, вносимого в колбу, составляло 2,5-3 мл стандартизированной суспензии спор на 100 мл питательной среды. В качестве контрольной питательной среды использовалась регламентная среда следующего состава: глюкоза – 3%, крахмал – 3%, кукурузный экстракт – 3%, соевая мука – 2%, аммоний сернокислый – 0,2 %, кальция карбонат – 0,3%, pH среды до стерилизации – 5,0-5,5.

Индуктором для ферментов является субстрат, на который действует данный фермент и продукты частичного гидролиза субстрата. Для изучения влияния различных индукторов на ферментативную активность кислой протеазы и липазы в состав питательной среды вносили линолевую кислоту в концентрациях от 0,5% до 4%, а также твин-80 в концентрациях от 0,005% до 0,03%.

Для определения активности кислой протеазы использовали модифицированный метод Ансона с использованием в качестве субстрата раствора бычьего гемоглобина. Метод основан на определении количества аминокислоты тирозина, образующейся, как и другие протеиногенные аминокислоты, в процессе гидролиза белков под действием этих ферментов. Калибровочную кривую для определения строили для L-тирозина в концентрации от 0 до 250 нмоль. Из-за трудности определения молярности продукта, образующегося при разложении гемоглобина, пользовались специальными единицами Ансона (AU): 1 AU соответствует количеству фермента, действие которого приводит к появлению окраски, по интенсивности соответствующей одному миллиэквиваленту тирозина в минуту в условиях эксперимента. Активность кислой протеазы определяли по формуле:

$$\frac{\text{мк}\,AU}{\text{мл}} = \frac{D * 2 * \text{P}}{tg * \tau} \quad (1)$$

где D – значение оптической плотности раствора при 750 нм;

P – коэффициент разведения;

tg – значение тангенса угла наклона на калибровочной кривой для определения активности кислой протеазы;

τ – время инкубации, мин.

Липолитическую активность определяли титриметрическим методом по количеству жирных кислот, которые образуются в результате гидролиза субстрата (подсолнечное масло) под действием липаз, содержащихся в культуральной жидкости. За единицу ферментативной активности липазы принимают такое количество фермента, которое освобождает 1 мкмоль подсолнечного масла из 40% эмульсии подсолнечного масла при pH=6,0, t=37±1 ^{0}C, в течение 1 часа.

$$ЛА = \frac{(V2 - V1) * T * 50}{B}, ЛА/мл \quad (2)$$

где V_2 – объем 0,05 н NaOH, пошедший на титрование контроля, мл;
V_1 – объем 0,05 н NaOH, пошедший на титрование опыта, мл;
T – титр 0,05 н NaOH, г/мл;
50 – коэффициент пересчёта в мкмоль жирных кислот;
B – концентрация нативного раствора, г/см^3.

Результаты и обсуждение

Ранее проведенными исследованиями [1] было показано, что внесение в питательную среду столовых растительных масел, таких как подсолнечное и виноградное, возрастает липолитическая активность продуцента – на 63 и 57 % соответственно по сравнению с контрольными условиями. Проведено исследование состава масел по количеству жирных кислот: олеиновой, линолевой и стеариновой [2, 3]. Олеиновая кислота – мононенасыщенная жирная кислота, относится к группе омега-9-ненасыщенных жирных кислот. Линолевая кислота относится к омега-6-ненасыщенным жирным кислотам и имеет в своей структуре две изолированные двойные связи. Стеариновая кислота является насыщенной жирной кислотой и входит в состав клеточной стенки микроорганизмов и животных. В оливковом масле содержится самое большое количество олеиновой кислоты, но активность липазы при добавлении оливковых масел в исходную питательную среду не оказывает столь положительного эффекта на биосинтез. В то время как подсолнечное и виноградное масла содержат в своем составе большое количество линолевой кислоты – 60 г и 58 г на 100 грамм масла соответственно. На основании того, что линолевая кислота – единственная ненасыщенная жирная кислота в составе выбранных столовых растительных масел, имеющая в своей структуре две двойные связи, можно предположить, что микромицет *Aspergillus oryzae* штамм 55 имеет специфичность по субстрату именно к жирным кислотам с таким количеством ненасыщенных связей в своей структуре. На основании этого проводили дальнейшие эксперименты по изучению влияния линолевой кислоты на биосинтез комплекса ферментов.

Было установлено, что при концентрации в питательной среде линолевой кислоты 4% липолитическая активность возрастает на 34% по сравнению с контролем (рис. 1), что подтверждает наши предположения о специфичности продуцента к полиненасыщенным жирным кислотам.

При этом наибольшая активность кислой протеазы была достигнута при концентрации индуктора от 0,5 до 3%. Как видно из рисунка 2 протеолитическая активность возросла в 2 раза. Важно отметить, что при дальнейшем увеличении концентрации линолевой кислоты ферментативная активность резко снижалась, что связано с ухудшением массообмена кислорода и нарушением дыхания культуры гриба в процессе культивирования.

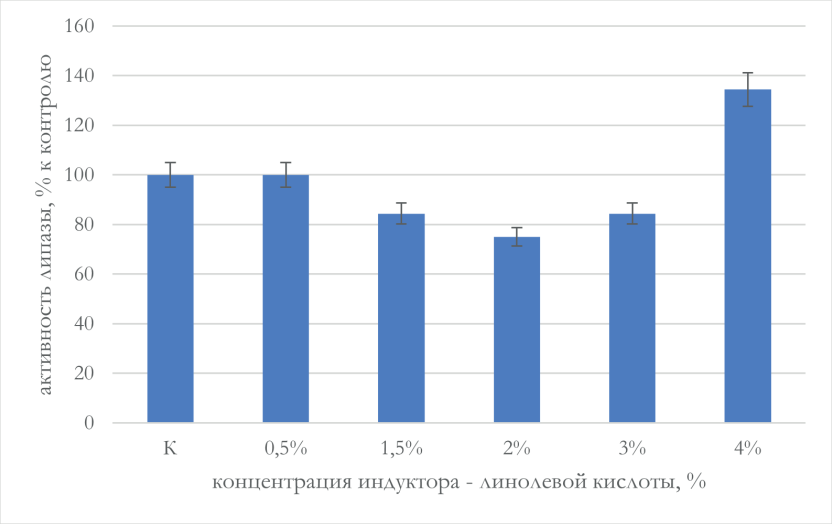


Рисунок 1. Зависимость биосинтеза липазы от концентрации линолевой кислоты в питательной среде

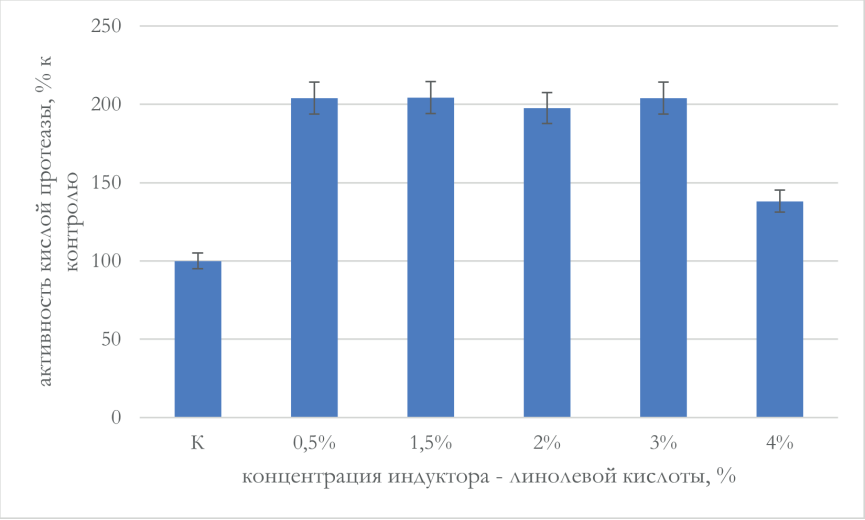


Рисунок 2. Зависимость биосинтеза кислой протеазы от концентрации линолевой кислоты в питательной среде

Из литературных данных известно, что биосинтез липазы стимулируют не только жиры, масла, жирные кислоты, но и их полиоксиэтиленовые эфиры на основе сорбита – твины. Есть данные по добавлению твинов в среды, как отдельного компонента, так и вместе с маслами (в качестве поверхностно-активных веществ). Например, биосинтез липазы *Rhizopus oryzae* 1403 индуцируется как субстратами – триглицеридами, так и продуктами их гидролиза – жирными кислотами и их производными – твинами [4]. По мере возрастания длины углеводородной цепи от 12:0 (Твин 20) до 18:0 (Твин 80) индукция усиливается. Поэтому на следующем этапе исследований мы изучали влияние твина-80 на биосинтез ферментов продуцентом *Aspergillus oryzae*.

Из рисунка 3 видно, что наилучший выход липазы был достигнут при добавлении в питательную среду твина-80 в концентрации 0,02% – 118±5% по отношению к контролю.

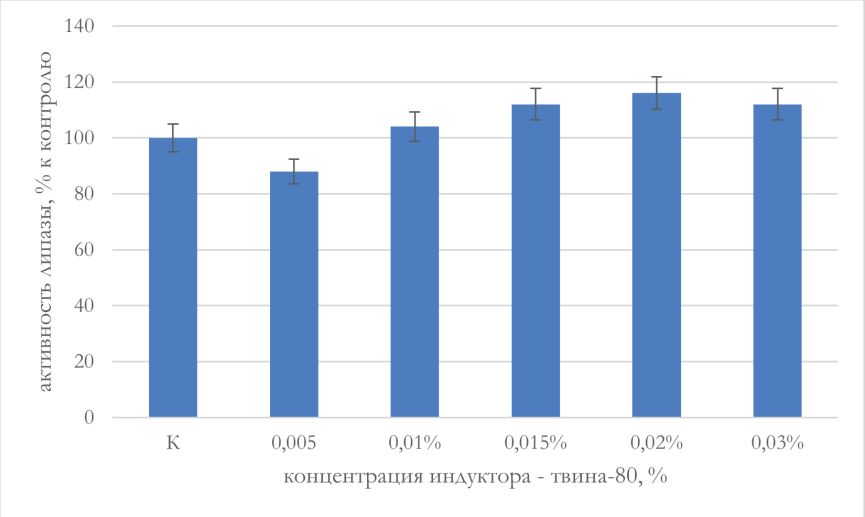


Рисунок 3. Зависимость биосинтеза липазы от концентрации твина-80 в питательной среде

Следует отметить, что при внесении в среду линолевой кислоты и твина-80 наблюдался пеллетный рост, культура интенсивно потребляла питательные вещества и имела хорошие фильтрационные характеристики.

На данный момент проводится исследование с целью оценки влияния твина-80, внесенного в питательную среду в концентрациях от 0,005% до 0,03%, на протеолитическую активность микромицета. Кроме того, в будущем планируется проведение эксперимента, целью которого является изучение совместного влияния линолевой кислоты и твина-80 на биосинтез липазы и протеазы продуцентом *Aspergillus oryzae* штамм 55.

Заключение

По результатам проведенных исследований было установлено, что внесение в питательную среду индукторов пищеварительных ферментов способствует повышению их активности.

Было показано, что содержание линолевой кислоты в исходной питательной среде в количестве 4% (объем.) способствует увеличению биосинтеза липазы продуцентом *Aspergillus oryzae* штамм 55 более чем на 30 % по сравнению с контролем. Твин-80 в концентрации 0,02% увеличивает липолитическую активность почти на 20%. Также было установлено, что добавление в питательную среду линолевой кислоты стимулирует синтез протеазы продуцентом, однако только до определенных пределов, уже при концентрации 4% (объем.) протеолитическая активность начинает резко снижаться.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.13.41 Биотехнологическое получение ферментных препаратов

ЛИТЕРАТУРА

1. Володина Е.В. Оптимизация питательной среды для культуры мицелиального гриба Aspergillus oryzae // Молодежный научный форум: естественные и медицинские науки: электр. сб. ст. по мат. LIII междунар. студ. науч.-практ. конф. № 1(52): сб. статей. Москва, 2018.

2. Коновалова Е.Ю. Ваше здоровое питание. Растительные масла [Электронный ресурс] URL: http://www.pharmacognosy.com.ua/index.php/vashe-zdorovoye-pitanije/rastitelniye-masla.

3. Разуваев Н.И. Комплексная переработка вторичных продуктов виноделия. Пищевая промышленность, 1970. 168 с.

4. Шеламова С.А. Индукция биосинтеза липаз микромицетом // Вестник Оренбургского государственного университета. 2012. N 1(137). С. 172-176.

SUMMARY

INDUCERS OF LIPASE AND ACID PROTEASE BIOSYNTHESIS BY MICROMYCETE *ASPERGILLUS ORYZAE*

Fitova V.D., Karandashova S.S., 4th year students
Supervisor: **Topkova O.V.**, Ph.D. of Biological Sciences, Associate Professor of Biotechnology
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: veronika.fitova@spcpu.ru

Regulation of lipase and acid protease biosynthesis by the culture of micromycete *Aspergillus oryzae* 55 strain was studied by adding inducers, linoleic acid and tween-80, into nutrient medium. According to the results of research, addition of these substances into nutrient medium contributes to increase of enzymatic activity.

Keywords: *Aspergillus oryzae, cultivation, digestive enzymes, lipase, acid protease, inducers.*

REFERENCES

1. Volodina E.V. Optimizaciya pitatel'noj sredy dlya kul'tury micelial'nogo griba Aspergillus oryzae // Molodezhnyj nauchnyj forum: estestvennye i medicinskie nauki: elektr. sb. st. po mat. LIII mezhdunar. stud. nauch.-prakt. konf. № 1(52): sb. statej. Moskva, 2018 (in Russian).

2. Konovalova E.Yu., Vashe zdorovoe pitanie. Rastitel'nye masla [Internet] URL: http://www.pharmacognosy.com.ua/index.php/vashe-zdorovoye-pitanije/rastitelniye-masla (in Russian).

3. Razuvaev N.I. Kompleksnaya pererabotka vtorichnyh produktov vinodeliya. Pishchevaya promyshlennost', 1970. 168 p. (in Russian).

4. Shelamova S.A. Indukciya biosinteza lipaz mikromicetom / S.A. Shelamova, Yu.A. Tyrsin // Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta 2012. N 1(137). P. 172-176. (in Russian).

УДК 61:615.1

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА СОРБЦИИ КОКАРБОКСИЛАЗЫ В СТАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ НА СОРБЕНТАХ РАЗЛИЧНОГО ТИПА

Холодаева С.В., студ. 4 курса, **Пятиизбянцев Т.А.**, маг. 2 года обучения
Руководители: **Красовицкая И.А.**, ст. преп. кафедры биотехнологии,
Котова Н.В., канд. хим. наук, доцент кафедры биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: sofya.holodaeva@spcpu.ru

В работе представлены результаты экспериментов по изучению равновесных и кинетических параметров сорбции кокарбоксилазы на сорбентах различного типа. Показано, что для разработки сорбционного-хроматографического метода выделения и очистки кокарбоксилазы могут быть предложены сульфокатиониты ABER HPR 1100, MN-500, КУ-2-20 и макропористый хелатный сорбент S950 ввиду высокой ёмкости и избирательности данных сорбентов, а также высокой скорости сорбции и эффективности процесса десорбции.

Ключевые слова: *кокарбоксилаза, тиаминдифосфат, тиаминпирофосфат, ТДФ, ТПФ, сорбент, сорбция.*

Кокарбоксилаза (тиаминдифосфат, ТДФ, тиаминпирофосфат, ТПФ) – органическое гетероциклическое соединение, содержащее два кольца – пиримидиновое и тиазоловое, соединенных метиленовой связью (рис. 1).

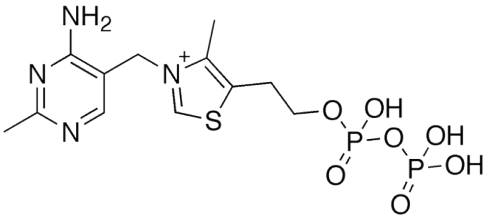


Рисунок 1. Структурная формула кокарбоксилазы (тиаминдифосфата, тиаминпирофосфата)

Тиаминдифосфат – это активная форма витамина В1 (тиамина), образующаяся в организме из поступающего извне тиамина, при его фосфорилировании с участием тиаминпирофосфокиназы, способствующей переносу пирофосфатной группировки от АТФ.

ТПФ является составной часть минимум 5 ферментов, участвующих в промежуточном обмене веществ, входит в состав ферментов декарбоксилирования α-кетокислот пируватдегидрогеназы и α-кетоглутаратдегидрогеназы, которые участвуют в энергетическом обмене. ТПФ участвует в переносе гликоальдегидного радикала от кетосахаров на альдосахара в пентозофосфатном пути. В составе дегидрогеназы разветвленных α-кетокислот, ТПФ участвует в катаболизме лейцина, валина, изолейцина. Опосредованно способствует синтезу нуклеиновых кислот, белков и липидов. Снижает концентрацию молочной и пировиноградной кислот в организме, способствует усвоению глюкозы. Улучшает трофику нервной ткани.[1]

В организме человека от недостатка ТПФ страдает нервная и мышечная ткань. Дефицит кокарбоксилазы в организме приводит к нарушениям периферической чувствительности, невралгиям, слабости сердечной мышцы. При недостатке ТПФ нарушаются окислительные процессы в клетке, что способствует накоплению пирувата и лактата, развитию кетоацидоза.[2]

Самостоятельный препарат Кокарбоксилаза выпускается в форме кокарбоксилазы гидрохлорида (ККГХ). ККГХ применяют в виде раствора внутримышечно или внутривенно при сахарном диабете, нарушениях сердечного ритма, недостаточности коронарного кровообращения, лёгких формах рассеянного склероза [3]. Также кокарбоксилаза может применяться в составе препаратов, оказывающих комплексное действие на многие заболевания.

Скорость распространения сахарного диабета в России и мире превосходит прогнозы специалистов, а на рынке препаратов присутствуют только средства купирующие симптомы, но не устраняющие причину заболевания. Тем не менее более 50% пациентов страдают осложнениями, например, такими как диабетическая полинейропатия. В составе препарата Кокарнит кокарбоксилаза способствует комплексной терапии лечения диабетической полиневропатии у пациентов с сахарным диабетом. Прием препарата приводит к значительному повышению уровня антиоксидантных ферментов и снижению уровня гомоцистеина в крови.[4] Применение комплексной терапии с участием кокарбоксилазы при сахарном диабете ассоциируется с выраженным и умеренным улучшением нейропатичексой симптоматики и общего состояния пациентов.[2]

В случае сердечно-сосудистых заболеваний, которые распространены у пациентов с сахарным диабетом, кокарбоксилаза в составе препарата «Кокарбоксиалаза-форте» эффективно уменьшает проявления оксидативного стресса. В критических состояниях позволяет максимально сохранить жизнеспособность клеток, так как является основным кофактором энергетического обмена.[2]

Также применение кокарбоксилазы прописано в практике скорой медицинской помощи при купировании кардиогенного шока и при острой левожелудочковой недостаточности на догоспитальном этапе. [5]

В скором времени возможно увеличение потребности в ТПФ, так как в августе 2020 года российские ученые МГУ обнаружили, что кокарбоксилаза в высоких дозах может оказывать направленное негативное воздействие на клетки рака легких, который с трудом подается лечению. [6]

Все это указывает на актуальность разработки эффективной и доступной методики выделения и очистки кокарбоксилазы.

Традиционная технология получения кокарбоксилазы, неизменная с 70-х годов прошлого века, имеет ряд недостатков. Химический синтез получения препарата основан на обработке витамина В1 хлорокисью фосфора или смесью пирофосфорной кислоты и фосфорного ангидрида с последующим получением смеси эфиров (моно-, ди- и трифосфорных) и передачей образовавшегося продукта на стадию хроматографической очистки на сорбенте КУ-23. Однако данная технология обладает малым выходом целевого продукта и предполагает использование сорбента, который в настоящее время не производится на территории РФ, а его поставки из других стран затруднены. В виду того, что на сегодняшний день изобретено множество разнообразных сорбентов, поиск замены КУ-23 и совершенствование технологии очистки кокарбоксилазы является перспективным направлением для исследовательской деятельности.

Целью исследования является изучение равновесных и кинетических параметров сорбции кокарбоксилазы на сорбентах различного типа для разработки технологии сорбционно-хроматографической очистки.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования были выбраны макропористый сульфокатионит КУ-23, макропористые сильнокислотные катиониты С150Н, С160Н, гелевый слабокислый катионит С-115Е, гелевый сильноосновный анионит С400

МВ, сульфокатионит на основе сверхшитого полистирола MN-500, гелевый сильнокислотный катионит DVC-8 UPS, сорбент DOW MAR C(H), макропористый хелатный сорбент S950, макропористый молекулярный сорбент MN-202, гелевые сульфокатиониты ABER HPR 1100, КУ-2-8 и КУ-2-20 и гелевые карбоксильные катиониты КБ-2, КБ-4П-2.

Приготовление модельного раствора кокарбоксилазы осуществляли растворением навески субстанции в 1н растворе HCl.

Для определения концентрации кокарбоксилазы в исследуемых растворах проводили разведение пробы цитратным буферным раствором (pH=1,1), после чего измеряли оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре СФ-2000 при длине волны 245 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали цитратный буферный раствор.

Концентрацию кокарбоксилазы определяли по формуле:

$$C_к = \frac{D \times P}{33.6}, мг/мл$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора,

P – разведение раствора в мл,

33,6 – коэффициент пересчета оптических единиц в мг кокарбоксилазы.

Изучение равновесных параметров проводили на модельном растворе кокарбоксилазы объёмом 10 мл в статических условиях при pH=0 и температуре 20-22°С. Перемешивание осуществлялось в шейкере-инкубаторе при n=200 об/мин на протяжении 24 ч. Предварительно навеску сорбента 20 мг заливали различными концентрациями раствора кокарбоксилазы: 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 и 12 мг/мл. Определяли концентрацию в исходных растворах и равновесную концентрацию в растворе после проведения сорбции.

Рассчитывали емкость сорбции по формуле:

$$Q_{сорб} = \frac{C_{исх} - C_{равн}}{n_{сс}} \times V_{пр}, мг/г$$

где $C_{исх}$ – концентрация кокарбоксилазы в исходном растворе, мг/мл,

$C_{равн}$ – концентрация кокарбоксилазы в растворе после сорбции, мг/мл

$V_{пр}$ – объем пробы,

$n_{сс}$ – навеска сухого сорбента.

После проведения сорбции строили графики изотерм сорбции $Q_{сорб}=f(C_{равн})$.

Рассчитывали коэффициент распределения K_d как тангенс угла наклона секущей к точке, соответствующей концентрации, при которой наблюдался выход графика на плато. Рассчитывали выход на стадии сорбции.

После проведения сорбции комплекс сорбента с кокарбоксилазой отфильтровывали и заливали 10 мл элюента. В качестве элюента использовали ацетатный буферный раствор с pH 5,5. Десорбцию проводили при постоянной температуре 20-22°С на шейкере-инкубаторе в течение 2 часов при n=200 об/мин. Определяли содержании кокарбоксилазы в элюате после десорбции. Рассчитывали выход на стадии десорбции.

Исследование кинетики процесса сорбции проводили в статических условиях при pH=0 при температуре 20-22°С и постоянном перемешивании на шейкере-инкубаторе n=180 об/мин. К навеске сорбента 200 мг добавляли 100 мл раствора кокарбоксилазы с концентрацией 12 мг/мл. Определяли концентрацию в исходном растворе, а затем в пробах раствора по истечении 1, 3, 5, 7, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 и 150 минут сорбции. Определяли степень завершенности процесса по формуле:

$$F = \frac{\overline{c}_t}{c_t^{\infty}}$$

где $\overline{c}_t$ – емкость сорбента по веществу, сорбированному к моменту времени t, мг/г,

c_t^{∞} – емкость сорбента по веществу, сорбированному при равновесии, мг/г.

По полученным данным строили зависимость $F=f(\sqrt{t})$.

Коэффициент диффузии рассчитывали по формуле:

$$\overline{D} = A \times tan\, a^2 \times d_ч^2, м^2/с$$

где *A* – числовой коэффициент, зависящий от формы зерна сорбента ($A = \pi/144$),

a – угол наклона начального прямолинейного участка зависимости на графике,

$d_ч$ – диаметр частицы сорбента, м.

Результаты и обсуждение

Полученные изотермы сорбции кокарбоксилазы на сорбентах КУ-23, С-115Е, С150Н, С160Н, С400 МВ, DVC-8 UPS, DOW MAR, MN-202, MN-500, S950, ABER HPR 1100, КБ-2, КБ-4П-2, КУ-2-8, КУ-2-2 представлены на рисунках 2, 3 и 4.

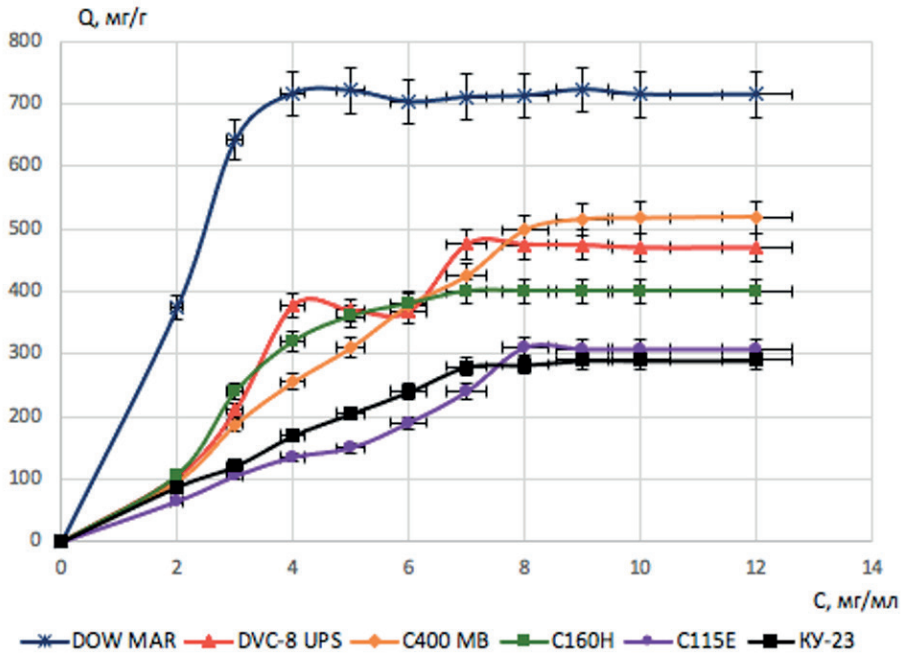


Рисунок 2. Изотермы сорбции кокарбоксилазы на сорбентах КУ-23, C-115E, DVC-8 UPS (Na^+), C160H, C400 MB (OH), DOW MAR C(H)

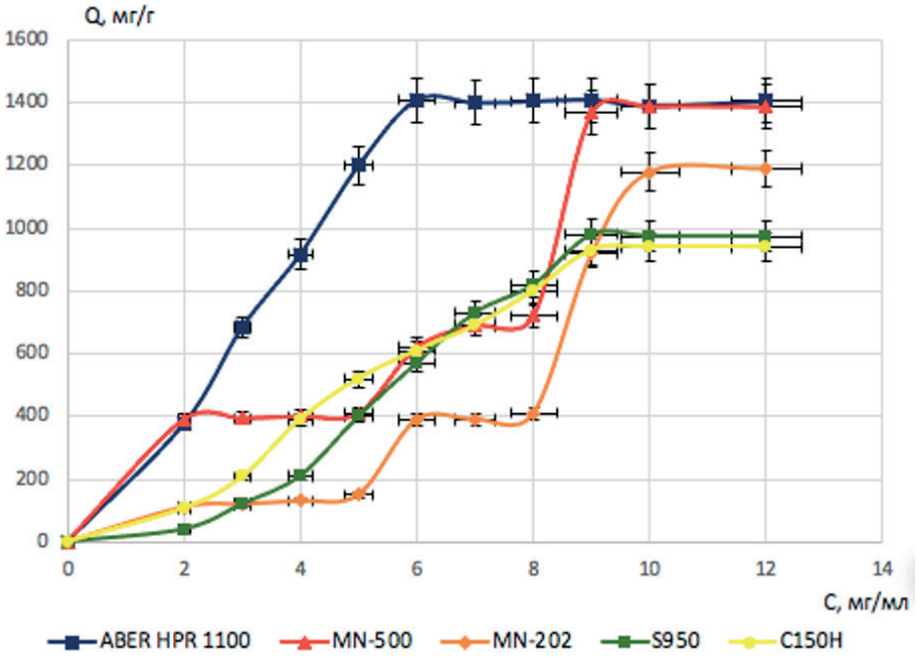


Рисунок 3. Изотермы сорбции кокарбоксилазы на сорбентах C150H, S950, MN-202, MN-500, ABER HPR 1100 Na

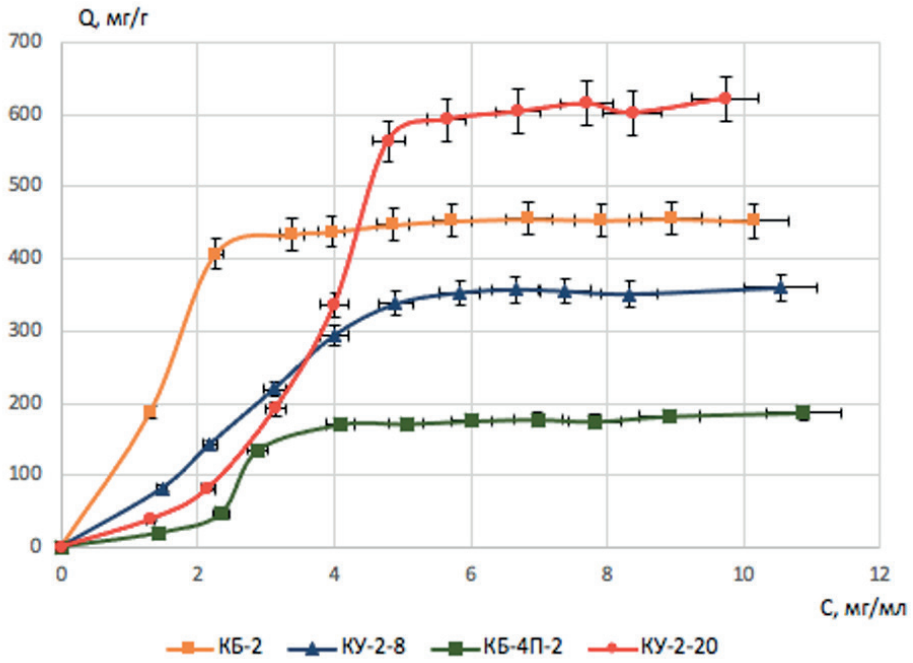


Рисунок 4. Изотермы сорбции кокарбоксилазы на сорбентах КБ-2, КБ-4П-2, КУ-2-8, КУ-2-20

Из рисунков видно, что при сорбции кокарбоксилазы на сорбентах КУ-23, C150H, MAR C, C400 MB, HPR 1100, КБ-2 и КУ-2-8 получены изотермы Ленгмюра. Это говорит о том, что молекулы кокарбоксилазы статистически распределяются на поверхности сорбента. Для сорбентов КБ-4П-2 и КУ-2-20 получены кооперативные изотермы. В данном случае на поверхности сорбента нет равномерно распределенных центров сорбции, прикрепление первых молекул затруднено, но они помогают сорбироваться последующим, в результате чего происходит мгновенная сорбция благодаря кооперативному эффекту. Изотермы сорбции сорбентов C-115E, DVC-8, MN-202 и MN-500 представляют собой изотермы БЭТ. В этом случае вещество статистически распределяется по сорбционным центрам, из молекул сорбата образуются столбики над каждым сорбционным каналом, взаимного влияния молекул друг на друга не происходит. Максимальные ёмкости сорбции исследуемых сорбентов, а также расчётные коэффициенты распределения занесены в таблицу 1.

Таблица 1 – Максимальные емкости сорбции и коэффициенты распределения кокарбоксилазы на исследуемых сорбентах

Сорбент	Максимальная емкость сорбции Q, мг/г	Коэффициент распределения K_d, мл/г
ABER HPR 1100	1420,24±71,0	156,95±0,5
MN-500	1364,31±68,2	136,46±0,5
MN-202	1173,67±58,7	115,93±0,5
S950	963,10±48,2	96,67±0,5
C150H	940,67±47,0	93,99±0,5
DOW MAR C	722,36±36,1	69,16±0,5
КУ-2-20	622,33±31,12	105,03±0,5
C400 MB	529,76±26,5	48,92±0,5
DVC-8 UPS	461,90±23,1	42,12±0,5
КБ-2	455,70±22,85	128,46±0,5
C160H	403,90±20,2	36,36±0,5
КУ-2-8	359,85±17,99	41,64±0,5
C-115E	315,23±15,8	31,22±0,5
КУ-23	290,64±14,5	29,31±0,5
КБ-4П-2	186,84±9,34	60,43±0,5

Из таблицы видно, что большинство исследуемых сорбентов обладают значительно более высокой ёмкостью по кокарбоксилазе, чем применяемый в настоящее время КУ-23. Наибольшей ёмкостью обладают сорбенты ABER HPR 1100, MN-500, MN-202, S950, C150H. При этом для данных сорбентов характерна высокая избирательность сорбции, о чём говорят соответствующие значения коэффициентов распределения (K_d > 90 мл/г). Высокая избирательность также характерна для сорбентов КБ-2 и КУ-2-20. Ёмкость сорбентов DOW MAR C, C400 MB, DVC-8 UPS, C160H, КУ-2-8, C-115E

была выше, чем у КУ-23, однако избирательность сорбции была значительно ниже, чем у вышеназванных сорбентов. Так как сорбционная технология очистки кокарбоксилазы предполагает выделение данного вещества из смеси сходных по строению эфиров тиамина, данные сорбенты не рассматривались в дальнейших исследованиях.

Проведено исследование кинетики процесса сорбции кокарбоксилазы на сорбентах КУ-23, ABER HPR 1100, MN-500, MN-202, S950, C150H, КБ-2, КУ-2-20. Получены кинетические кривые, представленные на рисунке 5, и рассчитаны коэффициенты диффузии, представленные в таблице 2.

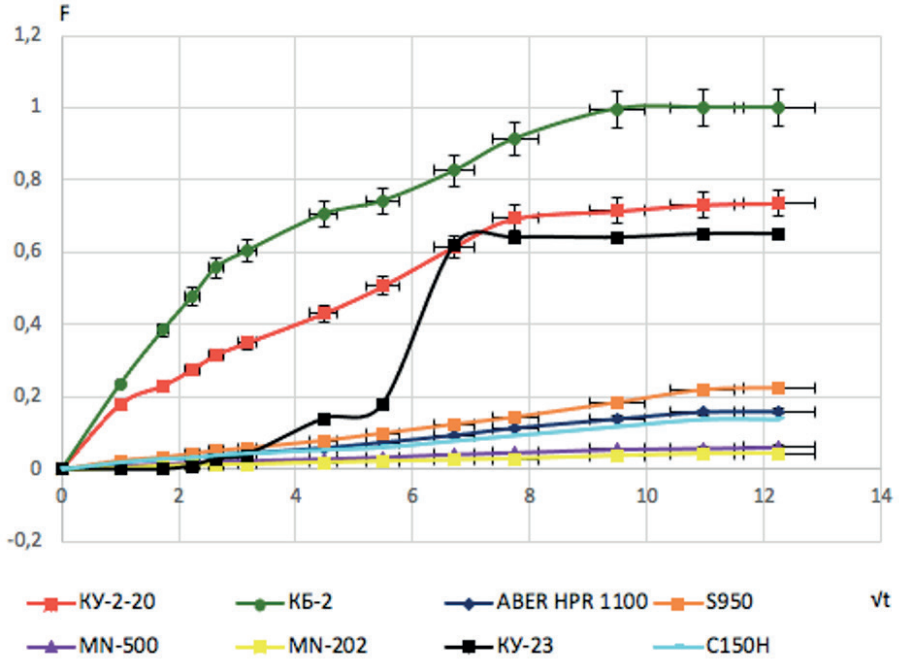


Рисунок 5. Кинетические кривые сорбции кокарбоксилазы на сорбентах КУ-2-20, КБ-2, S950, MN-202, MN-500, ABER HPR 1100, C150H, КУ-23

Таблица 2 – Коэффициенты диффузии

Сорбент	Коэффициент диффузии $\bar{D}$, м²/с
КБ-2	$(7,6\pm0,2)\times10^{-11}$
КУ-2-20	$(3,8\pm0,2)\times10^{-11}$
КУ-23	$(1,9\pm0,2)\times10^{-11}$
S950	$(4,3\pm0,2)\times10^{-12}$
ABER HPR 1100	$(1,7\pm0,2)\times10^{-12}$
C150H	$(1,0\pm0,2)\times10^{-12}$
MN-500	$(3,2\pm0,2)\times10^{-13}$
MN-202	$(1,6\pm0,2)\times10^{-13}$

Показано, что наибольшим коэффициентом диффузии и, соответственно, наибольшей скоростью сорбции обладают сорбенты КБ-2 и КУ-2-20. Значения коэффициентов диффузии для сорбентов ABER HPR 1100, S950 и C150H ниже на порядок, для MN-500 и MN-202 – на два порядка. Так как среди рассматриваемых сорбентов C150H обладал наименьшей избирательностью, в дальнейших экспериментах данный сорбент не использовали.

В таблице 3 представлены результаты исследования процесса десорбции кокарбоксилазы в статических условиях.

Таблица 3 – Выходы на стадиях сорбции и десорбции кокарбоксилазы

Сорбент	Выход кокарбоксилазы на стадии сорбции, %	Выход кокарбоксилазы на стадии десорбции, %
ABER HPR 1100	80,91	87,52
MN-500	82,89	86,31
S950	71,16	65,78
КУ-2-20	68,2	80,3
КУ-23	58,58	60,47
КБ-2	62,9	10,0
MN-202	80,85	0,00

Показано, что наибольшими выходами на стадии десорбции обладают сорбенты ABER HPR 1100, MN-500, S950 и КУ-2-20. Выход на стадии десорбции с КБ-2 очень мал, а с MN-202 равен нулю. Так как стадия десорбции при разработке метода сорбционно-хроматографической очистки имеет ключевое значение, КБ-2 и MN-202 были сочтены недостаточно эффективными.

Заключение

Исследование равновесных параметров сорбции кокарбоксилазы на сорбентах ABER HPR 1100, DVC-8 UPS, DOW MAR C, C-115E, C150H, C160H, C400 MB, MN-500, MN-202, S950, КУ-23, КУ-2-8, КУ-2-20, КБ-2, КБ-4П-2 показало, что наибольшей емкостью сорбции обладают сорбенты ABER HPR 1100, MN-500, MN-202, S950, C150H. Наибольшая избирательность сорбции характерна для сорбентов ABER HPR 1100, MN-500, MN-202, S950, КБ-2 и КУ-2-20. Сорбенты ABER HPR 1100, S950, КБ-2 и КУ-2-20 также обладают высокими показателями скорости сорбции. Высокие выходы на стадии десорбции получены для сорбентов ABER HPR 1100, MN-500, S950 и КУ-2-20, с сорбентов КБ-2 и MN-202 кокарбоксилаза не десорбировалась.

Таким образом, для разработки сорбционного-хроматографического метода выделения и очистки кокарбоксилазы могут быть предложены сульфокатиониты ABER HPR 1100, MN-500, КУ-2-20 и макропористый хелатный сорбент S950 ввиду высокой ёмкости и избирательности данных сорбентов, а также высокой скорости сорбции и эффективности процесса десорбции. Данные сорбенты превосходят применяемый согласно традиционной технологии КУ-23 по большинству рассмотренных показателей.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Мкртумян А.М., Маркова Т.Н., Подачина С.В. Возможность применения препарата Кокарнит при лечении диабетической полинейропатии // Эффективная фармакотерапия. Эндокринология. N4-5 (37).

2. Матюха Л., Гавалко Ю., Гавалко А. Возможности применения препарата «Кокарбоксилаза- форте» в клинической практике // Практика день за днем. Библиотека семейного лекаря. 2014. N 2(47). С. 8-12.

3. Большая советская энциклопедия – Электронная энциклопедия. [Электронный ресурс]. URL: http://bse.sci-lib.com/article062606.html.

4. Преимущество применения комплексной терапии диабетической полиневропатии у пациентов с сахарным диабетом типа 2 / А.С. Аметов [и др.] // Эндокринология: новости, мнения, обучение. 2019. Т. 8. N 3. С. 8–21.

5. Куприенко Н.Б. Клинические рекомендации (протокол) по оказанию скорой медицинской помощи при острой сердечной недостаточности у детей. – Казань, 2014. – 8 с.

6. Activation of Mitochondrial 2-Oxoglutarate Dehydrogenase by Cocarboxylase in Human Lung Adenocarcinoma Cells A549 Is p53/p21-Dependent and Impairs Cellular Redox State, Mimicking the Cisplatin Action / V.I. Bunik [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. 2020. N 21. P. 3759.

SUMMARY

STUDYING THE SORPTION PROCESS OF COCARBOXYLASE UNDER STATIC CONDITIONS ON DIFFERENT SORBENTS

Kholodaeva S.V., 4th year student, **Pyatizbyantsev T.A.,** 2th year master student
Academic advise: **Krasovitskaya I.A.**, Senior Lecturer
Kotova N.V., Candidate of chemical sciences, Associate associate Professor of the Department of Biotechnology
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: sofya.holodaeva@spcpu.ru

The results of experience to study the equilibrium and kinetic sorption parameters of cocarboxylase on the different sorbents are present in the article. It is found that the sulfocationites ABER HPR 1100, MN-500, KU-2-20 and macroporous chelated sorbent S950 can be introduced for development of a sorption-chromatographic method for isolation and purification of cocarboxylase, because these sorbents show high values of capacity and selectivity, sorption rate and effectiveness of desorption process.

Keywords: *cocarboxylase, sorbents, thiamine diphosphate, thiamine pyrophosphate, TDP, TPP, sorbent, sorption process.*

REFERENCES

1. Mkrtumyan A.M., Markova T.N., Podachina S.V. The Possibility of Using Cocarnit Drug in the Treatment of Diabetic Polyneuropathy // Effective pharmaceutical therapy. Endocrinology N 4-5 (37). (in Russian)

2. Matyukha L., Gavalko Yu., Gavalko A. Possibilities of using the drug «Cocarboxylase-forte» in clinical practice // Practice day by day. Library of the family doctor. 2014. N 2(47) P. 8-12. (in Russian)

3. Bolshaya sovetskaya enciklopediya – Elektronnaya enciklopediya. [Internet]. URL: http://bse.sci-lib.com/article062606.html. (in Russian)

4. The advantage of using complex therapy for diabetic polyneuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus / A.S. Ametov [et al.] // Endocrinology: news, opinions, training. 2019. Vol. 8(3). P. 8–21. (in Russian)

5. Kuprienko, N.B. Clinical guidelines (protocol) for the provision of emergency medical care for acute heart failure in children. Kazan, 2014. 8 p. (in Russian)

6. Activation of Mitochondrial 2-Oxoglutarate Dehydrogenase by Cocarboxylase in Human Lung Adenocarcinoma Cells A549 Is p53/p21-Dependent and Impairs Cellular Redox State, Mimicking the Cisplatin Action / V.I. Bunik [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. 2020. N 21. P. 3759.

УДК 615.03

СОВРЕМЕННЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ГЕНОТЕРАПИИ

Черепанова А.Д., студ. 1 курса
Руководитель: **Арсениев Н.А.,** к.б.н., доц. кафедры физиологии и патологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: alina.cherepanova@spcpu.ru

Разработка инновационных генотерапевтических лекарственных препаратов для персонализированной терапии становится мегатрендом развития биомедицины и мирового биофармацевтического рынка [1]. В результате в мире создается новая инновационная отрасль биофармацевтической промышленности под названием «индустрия ДНК», продукция которой – генно-инженерные лекарственные препараты – уже в ближайшее время изменит парадигму современной медицины [1]. В настоящее время лекарственные препараты для генной терапии обладают потенциалом лечения ранее неизлечимых заболеваний и способностью кардинально изменять течение многих тяжелых болезней [1].

Ключевые слова: *генотерапевтические лекарственные препараты, законодательная и нормативно-правовая база, обращение лекарственных препаратов, генотерапия, противоопухолевая генная терапия, биомедицинский клеточный продукт.*

Генная терапия, активно развивающаяся область современной медицины, направлена на исправление дефектов в структуре ДНК и изменение ряда функций клеток в организме. Основой ее является использование биотехнологических продуктов – векторов, несущих целевые гены, которые способны доставить эти гены в клетки-мишени, обеспечить их длительную экспрессию и, соответственно, продукцию терапевтически активных белков в организме. В настоящее время генную терапию рассматривают как потенциально универсальный подход к лечению широкого спектра заболеваний, включающих наследственные и генетически детерминированные приобретенные заболевания [2].

В России понятие генной терапии законодательно закреплено в Федеральном законе (ФЗ) от 5 июля 1996 г. №86-ФЗ «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» [5]: генная терапия (генотерапия) – совокупность генно-инженерных (биотехнологических) и медицинских методов, направленных на внесение изменений в генетический аппарат соматических клеток человека в целях лечения заболеваний. Генотерапевтические лекарственные средства (ЛС), представляющие собой или включающие в себя рекомбинантную нуклеиновую кислоту, позволяющие осуществлять регулирование, репарацию, замену, добавление или удаление генетической последовательности (генная терапия in vivo), являются объектами регулирования ФЗ от 12 апреля 2010 г. №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» [6] в части разработки, доклинических исследований (ДКИ), КИ и государственной регистрации. ФЗ от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах» [7] регулирует разработку, производство, ДКИ, КИ и государственную регистрацию, в том числе, препаратов для генной терапии ex vivo – генетически-модифицированных клеток человека [3].

Все указанные мировые тенденции в полной мере относятся к Российской Федерации, которая является активным участником мирового процесса развития биомедицины, определив развитие генетических технологий в качестве одного из своих национальных приоритетов. Правовой основой развития этих направлений деятельности является Указ Президента Российской Федерации «О развитии генетических технологий в Российской Федерации» от 28 ноября 2018 г. №680 [8] и внесение генотерапевтических лекарственных препаратов в число объектов регулирования федеральным законом №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» [1,6].

Концепция генной терапии появилась вскоре после открытия явления трансформации у бактерий и изучения механизмов трансформации клеток животных опухолеобразующими вирусами. Такие вирусы могут осуществлять стабильное внедрение генетического материала в геном клетки хозяина, поэтому было предложено использовать их в качестве векторов для доставки генетической информации в геном соматических клеток [2]. Первоначально генную терапию предполагали использовать для лечения наследственных генетических заболеваний, однако по мере развития технологий, набора экспериментального и клинического материала область ее применения значительно расширилась. В настоящее время генную терапию рассматривают как потенциально универсальный подход к лечению широкого спектра заболеваний, включающих наследственные и генетически детерминированные приобретенные заболевания [2].

Цель работы: Обзор основных современных генотерапевтических лекарственных средств.

Задачи:

1. Рассмотреть современные генотерапевтические препараты, применяемые в здравоохранении.
2. Кратко представить базовые механизмы действия современных лекарственных средств для генотерапии.
3. Обозначить перспективы применения генотерапевтических лекарственных средств

Генотерапевтические препараты

Внедрение в клиническую практику инновационных препаратов, полученных с использованием методов генетической инженерии, обеспечивает развитие такого современного направления биомедицины, как генная терапия, прежде всего, онкологических, генетических, орфанных заболеваний и жизнеугрожающих состояний, для лечения которых на сегодняшний день не существует традиционных лекарственных препаратов [3]. В законодательстве большинства стран (США, стран Европейского союза, Японии, Южной Кореи) препараты для генной терапии регулируются как биологические лекарственные препараты, в Российской Федерации препараты для генной терапии in vivo (генотерапевтические) относятся к биологическим, а для генной терапии ex vivo к биомедицинским клеточным продуктам [3].

История и современное состояние

На данный момент в мире зарегистрировано и разрешено к применению порядка 10 генотерапевтических препаратов, активно проводятся доклинические и клинические исследования [4].

«Гендицин» (Gendicine; Shenzhen Sibiono GeneTech Co. Ltd, China) является первым в мире зарегистрированным лекарственным препаратом для генной терапии, появившемся на китайском фармацевтическом рынке в 2003 году и предназначенным для больных со злокачественными опухолями [2,4]. С момента появления на рынке Китая в апреле 2004 г., Гендицин показал синергический эффект в сочетании с традиционными методами лечения рака [10]. Препарат представляет собой рекомбинантный аденовирус серотипа 5 человека, несущий ген белка p53, мутация которого связана с развитием онкологических заболеваний [11]. Аденовирусный вектор доставляет терапевтический белок в раковые клетки, синтез p53 в которых приводит к их гибели [4].

«Онкорин» (Oncorine, H101; Shanghai Sunway Biotech, Китай) разработан в Китае и разрешен к применению с 2006 года [4]. Онкорин – это препарат на основе аденовируса серотипа 5 человека с делетированными E1 и E3 участками генома [12]. Механизм избирательного действия препарата обусловлен модификацией аденовируса и основан на разрушении клеток опухоли, дефектных по гену p53 [13].

Первым препаратом для генной терапии, появившемся на европейском рынке стал «Глайбера» (Glybera, алипоген типарвовек, alipogene tiparvovec; UniQure, Нидерланды). Лекарственное средство получило разрешение на применение в Европейском Союзе в 2012 году и использовалось для лечения врожденного дефицита липопротеинлипазы [14]. Механизм действия препарата заключается в восстановлении необходимого уровня липопротеинлипазы путем доставки кодирующего её гена в мышечные клетки [4].

Ещё одним генотерапевтическим препаратом на основе аденоассоциированного вируса является «Люкстурна» (Luxturna, воретиджен непарвовек, voretigene neparvovec-rzyl; Spark Therapeutics, США). Препарат предназначен для лечения наследственной дистрофии сетчатки, вызванной мутациями гена RPE65. Механизм действия препарата заключается в доставке копии гена RPE65 для восстановления зрения непосредственно в клетки сетчатки, которые после этого производят нормальный белок [4]. Препарат был одобрен в США по процедуре приоритетного рассмотрения в декабре 2017 году, а в 2018 году использование «Люкстурна» было одобрено Европейским агентством лекарственных средств (EMA) [4].

«Имлигик» (Imlygic, талимоген лагерпарепвек, talimogene laherparepvec; BioVec, Amgen, США) был одобрен FDA и EMA в 2015 г. Препарат представляет собой генетически модифицированный онколитический вирус простого герпеса I типа, который способен реплицироваться только в опухолевых клетках, вызывая их гибель [4]. Механизм действия препарата заключается в избирательном инфицировании и лизисе опухолевых клеток, а экспрессия GM-CSF усиливает ответ на опухолевые антигены, высвобождающиеся при репликации вируса в опухолевых клетках [15].

Также в 2019 г. FDA одобрило препарат «Золгенсма» (Zolgensma, онасемногеен адепарвовек, onasemnogene abeparvovec-xioi) компании AveXis, Inc (США, группа Новартис), предназначенный для терапии спинальной мышечной атрофии (СМА) у детей младше 2 лет. Принцип действия препарат заключается в доставке с помощью адноассоциированного вируса 9 функциональной копии гена SMN1 в моторные нейроны [4].

Среди невирусных препаратов первым в мире (2011 г.) было зарегистрировано лекарственное средство, разработанное российскими учеными – «Неоваскулген». Действующее вещество представляет собой пДНК, кодирующую ген фактора роста эндотелия сосудов (VEGF165) [4].

Заключение

Обзор основных современных лекарственных препаратов для генотерапии, изучение законодательной и нормативно-правовой базы их регулирования, как в мире, так и России позволил обозначить перспективные направления развития отрасли. В соответствии с указом президента РФ сформирована Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019–2027 годы [9] (далее – Программа). Благодаря целенаправленной государственной поддержке Программа открывает перспективу быстрого развития отечественных высокотехнологичных биофармацевтических компаний, которые будут обладать долгосрочным потенциалом роста и успешно конкурировать с зарубежными компаниями не только на российском, но и на мировом рынке генотерапевтических лекарственных препаратов [1].

Для того чтобы Программа была реализована и ее основные направления имели ожидаемый эффект, необходимо своевременно уделять внимание не только вопросам организации и стимулирования собственно научных исследований на определенном направлении, но и организационно-правовым аспектам, учитывающим в системной связи и единстве все элементы жизненного цикла новых биомедицинских технологий и создаваемых на их основе инновационных продуктов (от разработки до внедрения, последующего продвижения и сопровождения медицинского применения продукта) [1].

Анализ информационных источников позволяет сделать вывод, что разработка генотерапевтических лекарственных препаратов относится к прорывным направлениям мирового инновационного процесса в сфере биомедицины и биофармацевтики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Номенклатура генотерапевтических лекарственных препаратов: международный опыт / А.А. Мохов [и др.] // Ремедиум. 2019. N 5. С.22-26. https://doi.org/10.21518/1561-5936-2019-5-22-26

2. Генно-терапевтические препараты в онкологии: современное состояние / Е.Р. Немцова [и др.] // Исследования и практика в медицине. 2016. N 3(4). С. 33-43. DOI: 10.17709/2409-2231-2016-3-4-4

3. Мировой опыт регистрации и применения препаратов для генной терапии в клинической практике / Е.В. Мельникова // Антибиотики и Химиотерапия. 2019. N 64(1-2). С. 58-68. https://doi.org/10.24411/0235W2990W2019W100010

4. Слободкина Е.А. Создание и фармакологическое изучение бицистронной плазмидной генотерапевтической конструкции для стимуляции ангиогенеза: дис. канд. биол. наук. – СПБ., 2021. – 134 с.

5. Закон Российской Федерации «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» от 05.07.1996 № 86 // Официальный интернет-портал правовой информации. [Электронный ресурс] URL: http://pravo.gov.ru/

6. Закон Российской Федерации «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 № 61 // Официальный интернет-портал правовой информации. [Электронный ресурс] URL: http://pravo.gov.ru/

7. Закон Российской Федерации «О биомедицинских клеточных продуктах» от 23.06.2016 № 180 // Официальный интернет-портал правовой информации. [Электронный ресурс] URL: http://pravo.gov.ru/

8. Указ Президента Российской Федерации «О развитии генетических технологий в Российской Федерации» от 28.11.2018 № 680 // Официальный интернет-портал правовой информации. [Электронный ресурс] URL: http://pravo.gov.ru/

9. Постановление Правительства Российской Федерации «Об утверждении Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019 – 2027 годы» от 23.04.2019 № 479 // Официальный интернет-портал правовой информации. [Электронный ресурс] URL: http://pravo.gov.ru/

10. Zhang S.-Y., Lu Y.-Y. 10 – recombinant adenoviral-p53 Agent (Gendicine): quality control, mechanism of action, and its use for treatment of malignant tumors // Recent advances in cancer research and therapy. 2012. P. 215–243. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397833-2.00010-8. [Internet] URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123978332000108?via%3Dihub

11. Pearson S., Jia H., Kandachi, K. China approves first gene therapy // Nat Biotechnol. 2004. Vol. 22. (3–4). https://doi.org/10.1038/nbt0104-3. [Internet] URL: https://www.nature.com/articles/nbt0104-3#article-info

12. Garber K. China approves world's first oncolytic virus therapy for cancer treatment // J Natl Cancer Inst. 2006. Vol. 98(5). P.298–300. https:// doi.org/10.1093/jnci/djj111. [Internet] URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16507823/

13. Мельникова Е.В., Рачинская О.А., Меркулов В.А. Высокотехнологические лекарственные препараты на основе онколитических вирусов (часть 1: разработка и регистрация в КНР). Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2021. N 11(3). С. 148–159. https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-148-159

14. Генная терапия: познакомьтесь с лекарствами будущего // biomolecula.ru [Электронный ресурс] URL: https://biomolecula.ru/articles/gennaia-terapiia-poznakomtes-s-lekarstvami-budushchego (дата обращения: 04.02.2022).

15. Мельникова Е.В., Рачинская О.А., Меркулов В.А. Высокотехнологические лекарственные препараты на основе онколитических вирусов (часть 2: разработка и регистрация препарата IMLYGIC®). Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2021. N 11(4). С. 218–227. https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-4-218-227

SUMMARY

MODERN DRUGS FOR GENOTHERAPY

Cherepanova A.D., first-year student
Leader: **Arseniev N.A.,** candidate of biological sciences, associate professor
Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popova st, 14, Russian Federation
E-mail: alina.cherepanova@spcpu.ru

The development of innovative gene therapy medications for personalized therapy is becoming a megatrend of biomedicine and international biopharmaceutical market [1]. As a result, a new innovative branch of biopharmaceutical industry called DNK industry production of which are genetically engineered medications will change the paradigm of a modern medicine soon is

creating in the world [1]. Nowadays medications for gene therapy have potential to treat before incurable diseases and ability to change drastically the course of many serious illnesses [1].

Keywords: *gene therapy medications, legal and rights basis, regulation of medications, gene therapy, antitumor gene therapy, biomedical cell product.*

REFERENCES

1. Nomenclature of gene-therapy drugs: international experience / A.A. Mokhov [et al.] // Remedium. 2019. Vol.(5). P.22-26. (In Russ.) https://doi.org/10.21518/1561-5936-2019-5-22-26

2. Official medications for anti-tumor gene therapy / E.R. Nemtsova [et al.] // Issled. prakt. med. (Research'n Practical Medicine Journal). 2016. Vol. 3(4). P.33-43. (In Russian). DOI: 10.17709/2409-2231-2016-3-4-4

3. International Practices of Registration and Use of Drugs for Gene Therapy in Clinical Practice / E.V. Melnikova [et al.] // Antibiotics and Chemotherapy. 2019. Vol. 64(1-2). P. 58-68. (In Russian) https://doi.org/10.24411/0235W2990W2019W100010

4. Slobodkina E.A. Creation and pharmacological study of bicistronic plasmid gene therapy design for stimulation of angiogenesis: dis. cand. of biol. sciences. SPB., 2021. 134 p. (In Russian)

5. Zakon Rossijskoj Federacii «O gosudarstvennom regulirovanii v oblasti genno-inzhenernoj deyatel'nosti» ot 05.07.1996 № 86 // Oficial'nyj internet-portal pravovoj informacii [Internet] URL: http://pravo.gov.ru/ (in Russian)

6. Zakon Rossijskoj Federacii «Ob obrashchenii lekarstvennyh sredstv» ot 12.04.2010 № 61 // Oficial'nyj internet-portal pravovoj informacii [Internet] URL: http://pravo.gov.ru/ (in Russian)

7. Zakon Rossijskoj Federacii «O biomedicinskih kletochnyh produktah» ot 23.06.2016 № 180 // Oficial'nyj internet-portal pravovoj informacii [Internet] URL: http://pravo.gov.ru/ (in Russian)

8. Ukaz Prezidenta Rossijskoj Federacii «O razvitii geneticheskih tekhnologij v Rossijskoj Federacii» ot 28.11.2018 № 680 // Oficial'nyj internet-portal pravovoj informacii [Internet] URL: http://pravo.gov.ru/ (in Russian)

9. Postanovlenie Pravitel'stva Rossijskoj Federacii «Ob utverzhdenii Federal'noj nauchno-tekhnicheskoj programmy razvitiya geneticheskih tekhnologij na 2019 – 2027 gody» ot 23.04.2019 № 479 // Oficial'nyj internet-portal pravovoj informacii [Internet] URL: http://pravo.gov.ru/ (in Russian)

10. Zhang S.-Y., Lu Y.-Y. 10 – recombinant adenoviral-p53 Agent (Gendicine): quality control, mechanism of action, and its use for treatment of malignant tumors // Recent advances in cancer research and therapy. 2012. P. 215–243. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397833-2.00010-8. [Internet] URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123978332000108?via%3Dihub

11. Pearson S., Jia H., Kandachi, K. China approves first gene therapy // Nat Biotechnol. 2004. Vol. 22. (3–4). https://doi.org/10.1038/nbt0104-3. [Internet] URL: https://www.nature.com/articles/nbt0104-3#article-info

12. Garber K. China approves world's first oncolytic virus therapy for cancer treatment // J Natl Cancer Inst. 2006. Vol. 98(5). P.298–300. https:// doi.org/10.1093/jnci/djj111. [Internet] URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16507823/

13. Melnikova E.V., Rachinskaya O.A., Merkulov V.A. Advanced therapy medicines based on oncolytic viruses (part I: development and authorisation of products in China) // Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 2021. Vol. 11(3). P. 148–159. https://doi.org/10.30895/1991- 2919-2021-11-148-159(in Russian)

14. Gene therapy: meet medicines of future // biomolecula.ru [Internet] URL: https://biomolecula.ru/articles/gennaia-terapiia-poznakomtes-s-lekarstvami-budushchego (дата обращения: accessed 04.02.2022). (in Russian)

15. Melnikova E.V., Rachinskaya O.A., Merkulov V.A. Advanced therapy medicines based on oncolytic viruses (part II: development and authorisation of IMLYGIC®). Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 2021. Vol. 11(4). P. 218–227. https://doi.org/10.30895/1991- 2919-2021-11-4-218-227(in Russian)

УДК: 57:578

ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПАРЕНТЕРАЛЬНЫХ ГЕПАТИТОВ, МЕРЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

Южанинова Е.С., студ. 2 курса
Руководитель: **Богданова О.Ю.**, кандидат биологических наук, доц. кафедры микробиологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: elizaveta.yuzhaninova@spcpu.ru

В ходе настоящей работы изучены статистические данные по заболеваемости вирусными парентеральными гепатитами В и С на территории Санкт-Петербурга и Ленинградской области в период с 2017 по 2020 год, определена динамика распространения заболеваний и сравнен уровень заболеваемости в двух регионах. Отмечается снижение заболеваний острой и хронической формой гепатитов на фоне многолетней динамики, наиболее высокие значения принимают по-

казателя заболеваемости хроническим гепатитом С. Уровень заболеваемости в Санкт-Петербурге выше уровня заболеваемости в Ленинградской области.

Ключевые слова: *парентеральные вирусные гепатиты, гепатит В, гепатит С, Санкт-Петербург, Ленинградская область, показатель заболеваемости, динамика, профилактика.*

Вирусные гепатиты (ВГ) – это группа полиэтиологичных антропонозных вирусных заболеваний, характеризующихся преимущественно поражением печени, с различными механизмами и путями передачи возбудителей.

Выдающийся терапевт С.П. Боткин в 1888г сформулировал представление о гепатите как об общем инфекционном заболевании человека и предложил отделить инфекционный гепатит от прочих поражений печени. Доказательства вирусной природы заболевания получены в 1937 г. в США Дж. Финдлеем и Ф.Маккаллюмом.

Вирусные гепатиты – распространенные и опасные заболевания, симптомы которых различны, либо отсутствуют вовсе. К основным проявлениям гепатитов относят «желтуху» – видимое пожелтение кожи, склеры глаз, слизистых оболочек, наблюдаемое вследствие нарушения метаболизма желчного пигмента билирубина – его повышенного содержания в крови, моче, тканях; синдром желтухи – яркое, но не обязательное проявление вирусного гепатита.

В зависимости от механизма заражения организма вирусные гепатиты подразделяют на энтеральные и парантеральные. Возбудители энтеральных ВГ передаются контактно-бытовым (через предметы обихода/ детские игрушки), водным и пищевым (при употреблении инфицированной пищи или воды) путями. Для возбудителей парантеральных ВГ характерна передача половым, трансфузионным, инъекционным, перинатальным путями, а также передача при тесном бытовом контакте (возбудители гепатитов В и D).

К группе парентеральных вирусных гепатитов относят гепатиты B, C, D, F, G, TTV, SEN. Относительно гепатитов B, C, D, гепатиты F, G, TTV и SEN были открыты недавно. Патогенез вирусов SEN-V, TTV и HFV малоизучен, в связи с чем наибольший интерес представляют вирусы HBV (Hepatitis B virus) и HCV (Hepatitis C virus), вызывающие наиболее распространенные и опасные заболевание – гепатит В и гепатит С соответственно.

Актуальность

В настоящее время проблема заболеваний гепатитом является актуальной и представляет интерес для системы здравоохранения как в Российской Федерации, так и в других странах в связи с повсеместным распространением вирусов HBV и HCV. Вирусы гепатитов В и С обладают высокой вирулентностью, токсичностью, устойчивостью к факторам окружающей среды, так же выявлено, что вирусы HBV и HCV подвержены частым мутациям. Именно по этим причинам невозможно полностью искоренить заболеваемость гепатитами.

На лечение и профилактику острого вирусного гепатита С, хронического вирусного гепатита С и острого вирусного гепатита В регулярно выделяются денежные средства, что приводит к нанесению экономического ущерба бюджету страны. При этом на территории РФ продолжают регистрироваться высокие уровни заболеваемости хроническими формами вирусных гепатитов, среди которых преобладает хронический гепатит С.

Для того чтобы добиться значительного сокращения заболеваемости и распространенности хронических вирусных гепатитов в Российской Федерации необходима разработка и реализация эффективных программ профилактики и лечения хронических вирусных гепатитов современными препаратами.

Настоящая работа проводится с целью изучения статистических данных и определения динамики распространенности вирусного гепатита С (ВГС) и вирусного гепатита в (ВГВ). Изучение статистических данных позволяет проанализировать зависимость роста заболеваемости гепатитом от проводимых профилактических мер и отследить эффективность последних, определить факторы влияния на уровень заболеваемости и привлечь внимание граждан к таким социально значимым заболеваниям, как гепатит В и гепатит С.

Заболеваемость ВГВ и ВГС на территории Ленинградской области в 2017-2020 гг.

Согласно данным Материалов к Государственному докладу О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Ленинградской области в 2017 г. [1], в 2018 г. [2], в 2019 г. [3] и в 2020 г. [4] можно сказать следующее:

В период с 2017 г. по 2020 г. включительно наблюдалось снижение уровня заболеваемости хроническим гепатитом В (ХГВ): в 2018 году отмечается снижение на 16,9%, а в 2020 – на 53,7% в сравнении с предыдущим годом. Об этом говорят значения показателей на 100 тыс. человек в рассматриваемый период: 2017 г. – 9,29; 2018 г. – 7,73; 2019 г. – 7,73; 2020 г. – 3,59.

Уровень заболеваемости хроническим гепатитом С (ХГС) приобретает скачкообразный характер, предположить тенденцию к снижению уровня заболеваемости можно только на фоне многолетней динамики. В 2017 г. число зарегистрированных случаев заболевания ХГС составило 26,24 на 100 тыс. человек, в 2018 году оно увеличилось до 26,57, а в 2019 г. до 28,01 на 100 тыс. человек. 2020 году показатель заболеваемости составил 16,43 на 100 тыс. населения, и это минимальное значение за период с 2005 г.

Важно заметить, что заболеваемость хроническими формами вирусных парентеральных гепатитов сохраняется на высоком уровне с преобладаем ХГС. На долю ХГС приходится 73,2% зарегистрированных случаев ХВГ в 2017 г., 75,7% – в 2018 г., 77,1% – в 2019 г. и 82% – в 2020 г.

Показатель заболеваемости острым гепатитом В (ОГВ) на территории Ленинградской области в 2017 г. снизился до нуля (в 2016г. был зарегистрирован 1 случай, а показатель заболеваемости составил 0,06 на 100 тыс. населения [5]). Следующие 3 года (2017 г., 2018 г., 2019г.) случаев заболевания ОГВ зарегистрировано не было.

Заболеваемость острым гепатитом С (ОГС) в 2017 г. составила 0,35 на 100 тыс. населения, в 2018 г. она упала в 3 раза и стала составлять 0,12. Обратный рост заболеваемости был отмечен в следующем, 2019 г.: показатель поднялся до 0,59 на 100 тыс. населения, что в 4,7 раз выше предыдущего года. В 2020 г. заболеваемость ОГС существенно снизилась и со-

ставила 0,22 на 100 тыс. населения, что в 2,8 раз или на 64,3% ниже предыдущего года. Среди всех зарегистрированных случаев заболевания в 2017 году только один выявлен у ребенка до 17 лет. С 2018 г. по 2020 г. не было зарегистрировано случаев заболеваемости ОГС у лиц младше 17 лет.

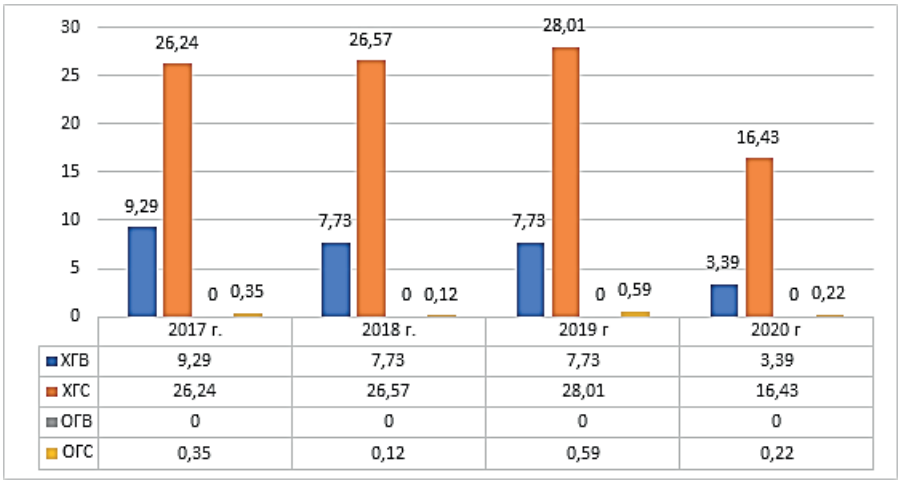


Рисунок 1. Динамика заболеваемости гепатитами В и С в Ленинградской области в 2017-2020 гг., на 100 тыс. населения

Заболеваемость ВГВ и ВГС на территории Санкт-Петербурга в 2017–2020 гг.

Исходя их данных Материалов к Государственному докладу О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Санкт-Петербурге в 2017 г. [6], в 2018 г. [7], в 2019 г. [8] и в 2020 г. [9]: рассматриваемые года характеризуются стабильно высокими уровнями заболеваемости хроническими формами гепатитов В и С, однако отмечается тенденция к снижению, так в 2020 году заболеваемость ХВГ составила 76,6 на 100 тыс. населения, и это на 38,9% ниже показателя 2019 г. Аналогично Ленинградской области наибольшую долю в структуре ХВГ занимает гепатит С (64,5% в 2017 г.; 64,3% в 2018 г. и 2020г.; 64,6% в 2019 г.).

Динамика распространения ХГС в 2017-2020 гг. однозначна, показатели заболеваемости на 100 тыс. населения снижаются: 86,5 – в 2017 г., 83,4 – в 2018 г., 81,04 – в 2019 г. и 49,3 в 2020г.

Отрицательный рост отмечается и среди заболеваний ХГВ: 46,2 на 100 тыс. населения в 2017 г., 45,2 на 100 тыс. населения в 2018 г., 43,61 на 100 тыс. населения в 2019 г. и 26,2 на 100 тыс. населения в 2020 г.

Уровень заболеваемости острыми формами вирусных гепатитов В и С в период 2017-2020 гг. на территории Санкт-Петербурга относительно стабилизирован.

В 2017 г. в регионе зарегистрировано 32 случая ОГВ, показатель заболеваемости составил 0,6 на 100 тыс. населения (на 25,0% ниже показателя 2016 г.). В 2018 году зарегистрировано на 4 случая больше, показатель заболеваемости поднялся до 0,68 на 100 тыс. населения. Показатель заболеваемости ОГВ в 2019 г. составил 0,71 на 100 тыс. населения (38 зарегистрированных случаев), а в 2020 г. упал до уровня 2017 г. – 0,6 на 100 тыс. населения (30 зарегистрированных случаев).

Заболеваемость ОГС выше, чем ОГВ, с 2017 по 2020 год зарегистрировано 78, 96, 92 и 88 случаев соответственно. В 2017 г. заболеваемость ОГС превышает показатель предыдущего года на 16,6% и составляет 1,4 на 100 тыс. населения. В 2018 г. показатель заболеваемости ОГС – 1,82 на 100 тыс. населения, в 2019 г. на 4,2% ниже – 1,72 на 100 тыс. населения. В 2020 г. наблюдается снижение уровня заболеваемости на 5,8% относительного предыдущего года до показателя 1,6 на 100 тыс. населения.

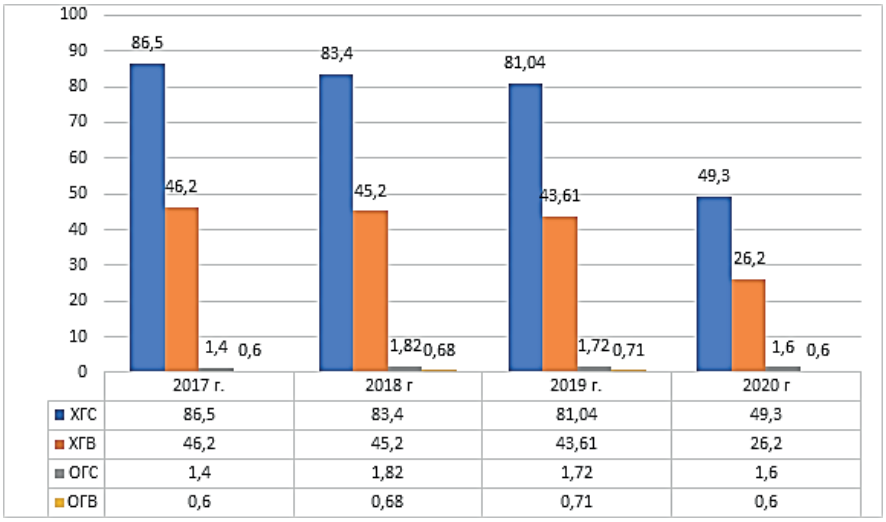


Рисунок 2. Динамика заболеваемости гепатитами В и С в Санкт-Петербурге в 2017-2020 гг., на 100 тыс. населения

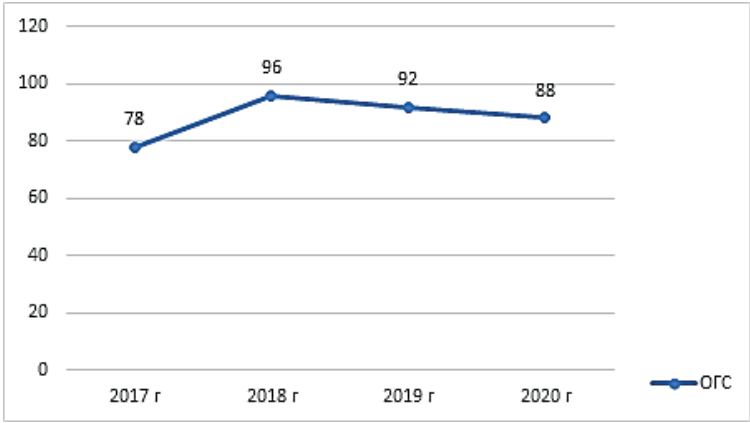


Рисунок 3. Динамика заболеваемости острым гепатитов С в Санкт-Петербурге в период 2017-2020 гг., абсолютное число зарегистрированных случаев

Сравнение данных о заболеваемости в Санкт-Петербурге и Ленинградской области за 2017-2020 гг. Анализ полученных результатов

Таблица – Сравнение заболеваемости гепатитами В и С в Ленинградской области и Санкт-Петербурге в период 2017-2020 гг., на 100 тыс. человек

	ХГВ		ХГС		ОГВ		ОГС	
	Санкт-Петербург	Лен. область	Санкт-Петербург	Лен. область	Санкт-Петербург	Лен. область	Санкт-Петербург	Лен. область
2017 г	46,2	9,29	86,5	26,24	0,6	0	1,4	0,35
2018 г	45,2	7,73	83,4	26,57	0,68	0	1,82	0,12
2019 г	43,61	7,73	81,04	28,01	0,71	0	1,72	0,59
2020 г	26,2	3,59	49,3	16,43	0,6	0	1,6	0,22

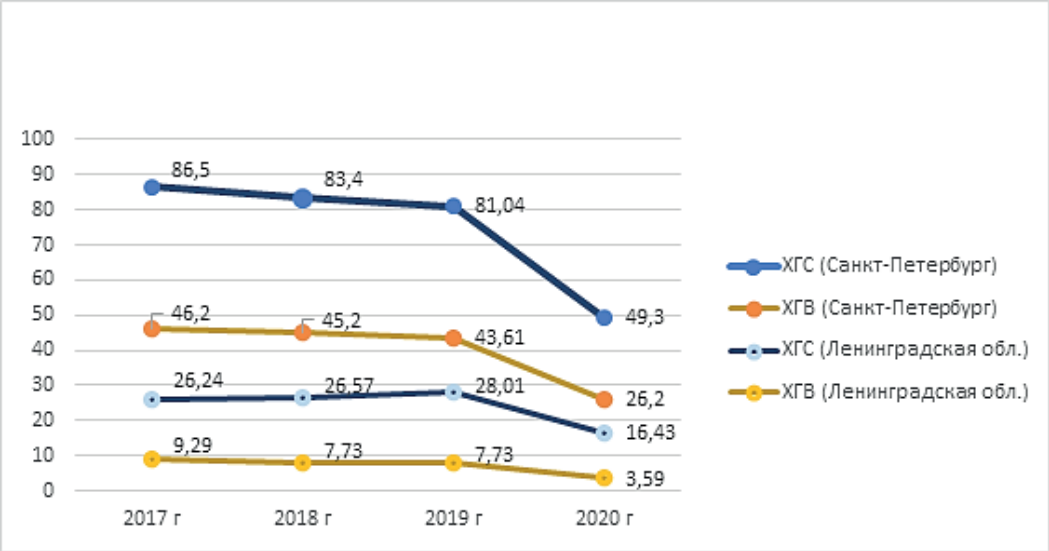


Рисунок 4. Динамика заболеваемости хроническими формами гепатитов В и С в Санкт-Петербурге и Ленинградской области в период 2017-2020 гг., на 100 тыс. населения

За последнее 20-тилетие существенно снизился уровень заболеваемости вирусными парентеральными гепатитами острой и хронической форм. В России, в том числе в Санкт-Петербурге и в Ленинградской области, пик заболеваемости гепатитами В и С пришелся на конец XX – начало XXI века в связи с распространением наркомании. На фоне многолетней динамики в период 2017-2020 гг. отмечается продолжение постепенного снижения уровня заболеваемости впервые выявленными хроническими формами гепатитов В и С и к снижению (либо стабилизации) заболеваемости острыми формами ВГВ и ВГС.

Статистически данные позволяют говорить о том, что заболеваемость гепатитом В значительно ниже, чем заболеваемость гепатитом С, и это объясняется в первую очередь эффективностью вакцины против ВГВ. Плановая вакцинация населения как взрослого, так и детского возраста началась в 2002 году, и существенно повлияла на отрицательный рост распространения заболевания. Между тем на сегодняшний день гепатит В в хронической форме является неизлечимым заболеванием. ОВГ перетекает в хроническую форму преимущественно в тех случаях, когда не наблюдается выраженных

клинических признаков, т.е. при перенесении безжелтушной и субклинической форм ВГВ. ОГВ поддается лечению, с этой целью в обязательном порядке применяют базисную терапию, которая включает в себя щадящий режим и диету и необходима для восстановления функций печени и профилактики осложнений. Вне зависимости от формы протекания ОГВ назначают аминокислоты, их производных и прочие препараты, например, апротинин, с целью улучшить тканевый обмен и стабилизировать мембраны клеток печени. Если гепатит протекает в легкой форме, допустима терапия без использования специфических медикаментов. Если ОВГ протекает в тяжелой форме, применяют противовирусную терапию при сочетании препаратов Рибавирина и Интерферона; этиотропную терапию так же проводят нуклеозидами и нуклеотидами (эти ингибиторы обратной транскриптазы предотвращают развитие осложнений и хронизацию заболевания), например, такими препаратами как Энтекавир, Тенофовир [10], [11].

Вирус HCV характеризуется высокой вариабельностью генома, и это приводит к затруднению создания эффективной вакцины. Однако существует информация о ее возможной разработке в ближайшие 5 лет, если безопасность и результативность будут доказаны, внедрение вакцины среди людей с высоким риском употребления инъекционных наркотиков может начаться в 2026/2027 гг., а распространение на другие группы высокого риска примерно в 2029 году [12]. Несмотря на вариабельность генома вируса явно заметен прогресс в снижении уровня заболеваемости и в проводимом лечении. Сокращению числа источников инфекции и в следствие снижению рисков заражения способствует ранняя диагностика заболевания и противовирусная терапия. Ранний диагноз позволяет сократить последствия поражения организма вирусом: предупредить проблемы со здоровьем и передачу инфекции при тесных контактах. Вирус Гепатита С может быть полностью элиминирован из организма, т.к. его внутриклеточные формы не характеризуются высокой стабильностью – болезнь относится к категории полностью излечимых. Однако уровень заболеваемости ХГС остается очень высоким в связи бессимптомным протеканием острой формы инфекции, низкой доступностью диагностики и препаратов [13]. В феврале 2022 г. Минздравом России [10] были опубликованы обновленные рекомендации по лечению хронического гепатита С. На текущий момент времени для лечения ХГС применяют комбинированные противовирусные препараты прямого действия, которые ингибируют неструктурные белки вируса. Выбор конкретных препаратов и длительность лечения зависит от множества факторов. В обновленные схемы лечения не вошли интерфероносодержащие препараты и Совриад (симепревир). Применяемый ранее Интерферон обладает побочным действием и часто противопоказаниями к применению. Известно о заболеваниях, при которых применение интерферона невозможно, либо сопровождается высокими рисками осложнений. Новые безинтерфероновые схемы лечения относят к высокоэффективным. При выявлении вируса не проводят определение его разновидности, для лечения назначается препарат, который эффективен против вирусов различных генотипов. Другим важным изменением стала возможность обеспечения лечением всех пациентом с выявленным гепатитом С. Ранее при назначении лечения учитывались такие факторы как: степень поражения печени, характер осложнений, возраст пациента и пр. Лечили преимущественно только поздние стадии заболевания.

Качество диагностики, которое отличается в отдельных регионах, и даже внутри одного региона, также является одной из главных причин существенного различия уровня заболеваемости в Санкт-Петербурге и в Ленинградской области (а также в отдельных районах Ленинградской области).

По данным Федеральной службы государственной статистики по г. Санкт-Петербургу и Ленинградской области [14] уровень наркомании в Ленинградской области в период с 2017 по 2020 год снижается с показателя 170,4 до показателя 138,1 на 100 тыс. населения. На территории Санкт-Петербурга уровень заболеваемости падает с показателя 201,8 до 161,6 на 100 тыс. населения в период 2017-2019 гг., в 2020 г. наблюдается рост распространения наркомании до уровня 163,1 на 100 тыс. населения. Более высокие показатели Санкт-Петербурга позволяют предположить прямую зависимость числа зараженных вирусом гепатита от числа пациентов, состоящих на учете в лечебно-профилактических организациях.

Профилактика заболеваний гепатитами подразделяются на специфическую и неспецифическую. Специфическая профилактика гепатита С на текущий период не разработана, основной мерой специфической профилактики гепатита В является проведение плановой вакцинации [15]. Неспецифическая профилактика подразумевает: выявление (обследование) источников инфекции (в первую очередь, лиц, подверженных повышенному риску инфицирования); ограничение контакта с биологическим жидкостями других людей, первоочередно с кровью; использование одноразового инструментария, строгое соблюдение режимов обработки инструментария и оборудования в медицине и косметологии, использование защитных средств медработниками; соблюдение предосторожности при половых контактах [13].

Заключение

Изучение данных о заболеваемости ВГВ и ВГС в период 2017-2020 гг., позволяет говорить о снижении распространенности хронических форм рассматриваемых гепатитов и о стабилизации острых форм в текущей период (а также о снижении на фоне многолетней динамики). Отрицательный рост распространенности объясняется массовой вакцинацией против гепатита В, эффективностью профилактических мер и проводимой терапии, улучшением качества диагностики заболеваний. Разный уровень заболеваемости в Санкт-Петербурге и Ленинградской области обусловлен рядом социальных факторов, разницей в качестве лабораторной диагностики. Гепатиты – серьезные опасные инфекционный заболевания, в неравной степени поддающиеся лечению: для лечения острой формы вирусного гепатита В применяют базисную и противовирусную терапию, для лечения хронической формы вирусного гепатита С – комбинированные противовирусные препараты прямого действия. С целью дальнейшего снижения рисков распространения инфекций и предупреждения осложнений в состоянии здоровья граждан необходимо соблюдение специфических (вакцинирование) и неспецифических (выявление источников инфекций, предупреждение контакта с биологическими жидкостями других людей, соблюдение санитарных норм и осторожности) профилактических мер.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00. Медицина и здравоохранение
76.01.11. Современное состояние и перспективы развития
76.01.73. Медицинская статистика
76.03.41. Медицинская вирусология
76.29.50. Инфекционные болезни

ЛИТЕРАТУРА

1. Материалы к Государственному докладу «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Ленинградской области в 2017 году»
2. Материалы к Государственному докладу «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Ленинградской области в 2018 году»
3. Материалы к Государственному докладу «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Ленинградской области в 2019 году»
4. Материалы к Государственному докладу «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Ленинградской области в 2020 году»
5. Материалы к Государственному докладу «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Ленинградской области в 2016 году»
6. Материалы к Государственному докладу «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Санкт-Петербурге в 2017 году»
7. Материалы к Государственному докладу «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Санкт-Петербурге в 2018 году»
8. Материалы к Государственному докладу «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Санкт-Петербурге в 2019 году»
9. Материалы к Государственному докладу «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Санкт-Петербурге в 2020 году»
10. Клинические рекомендации // Рубрикатор клинических рекомендаций. [Электронный ресурс] URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/clin_recomend (Дата обращения: 4.03.2022).
11. Гепатит С стал излечим. Гепатит В следующий? / В.П. Чуланов [и др.] // Терапевтический архив. 2017. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/gepatit-s-stal-izlechim-gepatit-v-sleduyuschiy; (Дата обращения: 25.02.2022).
12. EurekAlert // News release 11-jul-2021. [Электронный ресурс] URL: https://www.eurekalert.org/news-releases/459865
13. Роспотребнадзор // Вирусные гепатиты – глобальная проблема здравоохранения в мире. 28 июля 2021 г. [Электронный ресурс] URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/science_news/news_predpr.php?ELEMENT_ID=18523
14. Здравоохранение в России – 2021 // Федеральная служба государственной статистики. [Электронный ресурс] URL: https://gks.ru/bgd/regl/b21_34/Main.htm; (Дата обращения: 27.02.2022).
15. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году»

SUMMARY

STUDY OF THE PREVALENCE OF PARENTERAL HEPATITIS, PREVENTION AND TREATMENT MEASURES

Yuzhaninova E.S., 2st year student
Academic advise**: Bogdanova O. Yu.,** Candidate of Biological Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: elizaveta.yuzhaninova@spcpu.ru

In the course of this work, statistical data on the incidence of viral parenteral hepatitis B and C in the territory of St. Petersburg and the Leningrad region in the period from 2017 to 2020 were studied, the dynamics of the spread of diseases was determined and the incidence rate in the two regions was compared. There is a decrease in acute and chronic hepatitis diseases against the background of long-term dynamics, the highest values are taken by the incidence of chronic hepatitis C. The incidence rate in St. Petersburg is higher than the incidence rate in the Leningrad region.

Keywords: *parenteral viral hepatitis, hepatitis B, hepatitis C, St. Petersburg, Leningrad region, incidence rate, dynamics, prevention.*

REFERENCES

1. Materials for the State Report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Leningrad region in 2017». (in Russian)
2. Materials for the State Report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Leningrad region in 2018» (in Russian)

3. Materials for the State Report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Leningrad region in 2019» (in Russian)

4. Materials for the State Report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Leningrad region in 2020» (in Russian)

5. Materials for the State Report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Leningrad region in 2016» (in Russian)

6. Materials for the State Report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in St. Petersburg in 2017» (in Russian)

7. Materials for the State Report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in St. Petersburg in 2018» (in Russian)

8. Materials for the State Report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in St. Petersburg in 2019» (in Russian)

9. Materials for the State Report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in St. Petersburg in 2020» (in Russian)

10. Clinical recommendations // Rubricator of clinical recommendations. [Internet] URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/clin_recomend. (Accessed: 04.04.2022). (in Russian)

11. Hepatitis C has become curable. Hepatitis B next? / V.P. Chulanov [et al.] // Therapeutic Archive. 2017. [Internet] URL: https://cyberleninka.ru/article/n/gepatit-s-stal-izlechim-gepatit-v-sleduyuschiy. (Accessed: 02.25.2022). (in Russian)

12. EurekAlert // News release 11-jul-2021. [Internet] URL: https://www.eurekalert.org/news-releases/459865

13. Rospotrebnadzor // Viral hepatitis – a global health problem in the world. July 28, 2021. [Internet] URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/science_news/news_predpr.php?ELEMENT_ID=18523 (in Russian)

14. Health in Russia – 2021 // Federal State Statistics Service. [Internet] URL: https://gks.ru/bgd/regl/b21_34/Main.htm. (Accessed: 27.02.2022). (in Russian)

15. State Report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2020» (in Russian)

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАТЕРИСТИКА МИЦЕЛИЯ НЕКОТОРЫХ АФИЛЛОФОРОВЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

Юсупова А.А., магистрантка 1 курса обучения
Руководитель: **Ананьева Е.П.,** канд. биол. наук, зав. кафедрой микробиологии;
Псурцева Н.В., канд. биол. наук, зав. лабораторией биохимии грибов БИН РАН
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
БИН РАН
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2
E-mail: yusupova.anastasiya@pharminnotech.com

Выявлены штаммы базидиомицетов с большим выходом мицелия и охарактеризован его состав. Установлена динамика накопления биомассы мицелия в условиях глубинного культивирования на примере одного из штаммов, обладающего большой ростовой и ферментативной активностями. В результате проведенных исследований впервые были получены культуральные характеристики новых штаммов афиллофоровых грибов дальневосточного происхождения. На основе полученных данных был показан биотехнологический потенциал исследованных грибов.

Ключевые слова: *афиллофоровые базидиомицеты*, *глубинное культивирование*, *биомасса мицелия, биотехнологический потенциал, лакказаная активность.*

Одним из приоритетных направлений развития современной биотехнологии является поиск новых источников биологически активных соединений и разработка методов их получения, в том числе и среди грибов. Грибы базидиомицеты являются перспективным источником БАВ, которые могут быть получены как из плодовых тел, так и из культивируемого мицелия.

БАВ базидиомицетов могут служить эффективным источником в борьбе с различными заболеваниями, т.к. обладают широким спектром фармакологического действия: иммуностимулирующие, иммуномодулирующие, антибактериальные, антивирусные, антидиабетические [1].

Целью данного исследования является комплексная характеристика мицелия новых штаммов базидиомицетов для выявления перспективных продуцентов с высоким ростовым и биосинтетическим потенциалом, изучение глубинного культивирования для получения мицелия, выделение и изучение его биологически активных компонентов.

Материалы и методы

Объектами исследования служили штаммы афиллофоровых базидиомицетов, выделенных в Приморском крае в 2020 г и сохраняемых в Коллекции культур базидиомицетов БИН РАН.

Мицелий получали методом глубинного культивирования. Культивирование проводилось в течение 13 суток при температуре 25 °С в колбах Эрленмейера объемом 250 мл на лабораторной качалке при скорости непрерывного перемешивания 180 об/мин. В колбу вносили питательную среду объемом 50 мл и посевной материал объемом 5 мл.

В качестве питательной среды использовали полусинетическую глюкозо-пептонную среду (ГПС) с составом: глюкоза – 10 г/л; пептон – 3 г/л; гидрофосфат калия (K2HP04) – 0,4 г/л; дигидрофосфат калия (KH2P04) – 0,6 г/л; кальция хлорид – (CaCl2) – 0,05 г/л; магния сульфат (MgS04) – 0,5 г/л; цинка сульфат (ZnS04) – 0,01 г/л; железа сульфат (II) (FeS04) – 0,005 г/л; pH=5,8. Стерилизацию среды проводили в автоклаве в течение 30 минут при избыточном давлении.

В качестве посевного материала использовали культуры штаммов, которые выращивались на скошенном сусло-агаре, далее асептично брали пленку мицелия для посева в жидкую питательную среду. Посевной материал выращивали колбах Эрленмейера объемом 500 мл, куда предварительно добавили стерильные бусы. Посевной материал получали в течении 5-10 дней при комнатной температуре в статических условиях. Перед внесением посевного материала в колбы для культивирования его разбивали до получения мелких фрагментов мицелия. В качестве питательной среды использовалось жидкое сусло с pH=5.8 – 6.0. Стерилизацию среды проводили в автоклаве в течение 30 минут при избыточном давлении.

Отделение мицелия гриба от культуральной жидкости после культивирования проводили при помощи фильтрации по вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Полученную биомассу промывали дистиллированной водой и сушили в сушильном шкафу при t=35 °С в течение суток. Далее высушенную биомассу взвешивали.

Для определения зольности 100 мг сухого мицелия сжигали в муфельной печи в предварительно прокаленных и взвешенных фарфоровых тиглях при температуре 500 °С в течение 40 минут.

Содержание золы в процентах определяли по формуле:

$$П = \frac{P_1 - P_2}{P_3} * 100\%, \quad (1)$$

где P1 – масса тигля с золой, г;

P2 – масса тигля без навески, г;

P3 – масса навески мицелия, г.

Количество полисахаридов определяли по содержанию редуцирующих веществ в гидрализате мицелия.

20 мг мицелия помещали в ампулу объемом 10 мл, добавляли 1 мл 8Н раствора серной кислоты. Ампулу запаивали и кипятили смесь в течении 2 часов на водяной бане. Далее ампулу охлаждали и вскрывали, ее содержимое количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, смесь нейтрализовали 1М раствором NaOH и доводили до метки дистилированной водой. Затем в пробирку переносили 0,4 мл исследуемой смеси, добавляли 0,2 мл 1М раствора NaOH и 0,2 мл 0,3% водного раствора 2,3,5- трифенилтетразолия хлористого. Пробирку закрывали ватным тампоном и кипятили на водяной бане в течении 3 минут. Пробирки охлаждали под струей воды до комнатной температуры. Затем к пробирке добавляли 0,2 мл 2М раствора уксусной кислоты и 5 мл 96% этилового спирта. Смесь тщательно перемешивали.

Измерение оптической плотности раствора проводили на спектрофотометре SHIMADZU UV mini – 1240 при длине волны λ=490 нм и толщине кюветы 10 мм. Концентрацию редуцирующих сахаров находили по калибровочной кривой, построенной для раствора глюкозы. В качестве контроля использовали 0,4 мл очищенной воды с соответствующими реактивами.

Определение концентрации белка проводили по методу Лоури [2].

Для определения глюкозы в культуральной жидкости был использован глюкозо-оксидазный метод (КлиниТест-Глюкоза, НПЦ ЭКО-СЕРВИС).

В состав набора входили: реагент (фосфатный буфер – 0,25 моль/л, натриевая соль n-гидроксибензолсульфокислоты – 0,02 моль/л, 4 – аминоантипирин – 0,001 моль/л, глюкозооксидаза – 12000 Е/л, пероксидаза – 100 Е/л), калибратор глюкозы (5,55 моль/л).

К 0,01 мл образца добавляли 1 мл реагента. В качестве калибровочной пробы использовали 1 мл реагента и 0,01 мл калибратора глюкозы. В качестве раствора сравнения использовали 1 мл реагента и 0,01 мл дистиллированной воды. Далее растворы термостатировали при 37 °С в течении 10 минут. Затем измеряли оптическую плотность смеси при λ=500 нм на спектрофотометре Shimadzu UV 2300, кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Расчет содержания глюкозы проводили по формуле:

$$С = \frac{Е_{обр} * 5{,}55}{Е_{кал}}, \text{ммоль/л} \quad (2)$$

где Еобр – оптическая плотность опытной пробы;

Екал – оптическая плотность калибровочной пробы;

5,55 – концентрация глюкозы в калибраторе, ммоль/л.

Активность грибной лакказы определяли на спектрофотометре Shimadzu UV 2300 в режиме «кинетика» при длине волны 525 нм и толщине кюветы 1 см. К 1700 мкл цитрат-фосфатного буфера добавляли 100 мкл раствора сирингалдазина. В ячейку спектрофотометра вставляли кювету, ждали 15 секунд и вносили 200 мкл пробы. Реакция длилась 330 с.

Расчет лакказной активности проводили по формуле:

$$А = \frac{tg\alpha * P}{\varepsilon_{syr} * l} * 10^9, \text{нкат/мл} \quad (3)$$

где: tgα – тангенс угла наклона прямого участка кривой;

P – разведение пробы;

εsyr – молярный коэффициент поглощения сирингалдазина, М-1см-1;

l – толщина кюветы, см.

Тангенс угла наклона прямого участка кривой определяли при помощи программы Origin 9.0.

Под каталитической активностью (катал) принимали активность, при которой ферментативная реакция осуществляется со скоростью равной 1 молю в секунду в заданной системе измерения активности.

Исследование проводили в 3-х проворностях. Статистическую обработку данных вели с использованием Microsoft Office Excel.

Результаты и обсуждение

Глубинное культивирование штаммов проводили на ГПС в течении 9 дней. На 9 день культивирования штаммов определяли выход мицелия и pH культуральной жидкости. Значение pH культурального фильтрата было от 6,40 до 7,72, что соответствует защелачиванию. Было показано, что наибольшим выходом биомассы обладал штамм *Trametes versicolor* 54-НВП-20, тогда как штамм *Lenzites betulinus* 86-НВП-20, показавший высокие скорость роста на агаризованной среде и ферментативную активность, обладал низкими показателями накопления биомассы. Полученный мицелий был исследован на содержание белков, полисахаридов и минеральных веществ. Анализ мицелия штаммов показал, что преимущественно он состоял из полисахаридов с содержанием от 58,2 до 78,1 %. Содержание белка в мицелии составляло от 5,9 до 13,8 %, а минеральных компонентов от 2,1 до 7,6% (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика мицелия исследуемых штаммов

Штамм	Выход мицелия, г/л	%		
		Углеводы	Белок	Минеральные примеси
Trametes versicolor 54-НВП-20	6,2±0,3	63,2±0,3	8,8±0,3	2,1±0,1
Auricularia villosula 6-НВП-20	5,0±0,5	60,1±0,5	13,8±0,2	4,4±0,4
Lenzites betulina 86-НВП-20	3,3±0,1	78,1±0,4	5,9±0,3	4,7±0,2
Trametes 41-НВП-20	5,1±0,2	58,2±0,2	11,9±0,2	3,2±0,1
Peniophora rufa 88-НВП-20	2,9±0,4	67,7±0,6	9,9±0,1	7,6±0,2

На основании анализа всех данных, полученных в результате проведенных исследований, для изучения процесса глубинного культивирования была отобрана культура *Trametes versicolo*r, штамм 54-НВП-20, которая является перспективным продуцентом биомассы и обладает высокой ферментативной активностью. Этот гриб широко известен по литературным данным как источник полисахаридов, обладающих иммуномодулирующей и противоопухолевой активностями [3,4].

В процессе культивирования штамма *T. versicolor* 54-НВП-20 была изучена динамика различных показателей: изменение pH, потребление глюкозы, накопление биомассы.

Анализ потребления одного из компонентов питательной среды – глюкозы в культуральной жидкости глюкозооксидазным методом показал, что к третьим суткам было утилизировано уже более половины от ее исходного содержания, а на 10 день глюкоза была полностью утилизирована. График накопления биомассы и динамика утилизации глюкозы в процессе культивирования *T. versicolor* 54-НВП-20 представлен на рисунке 1.

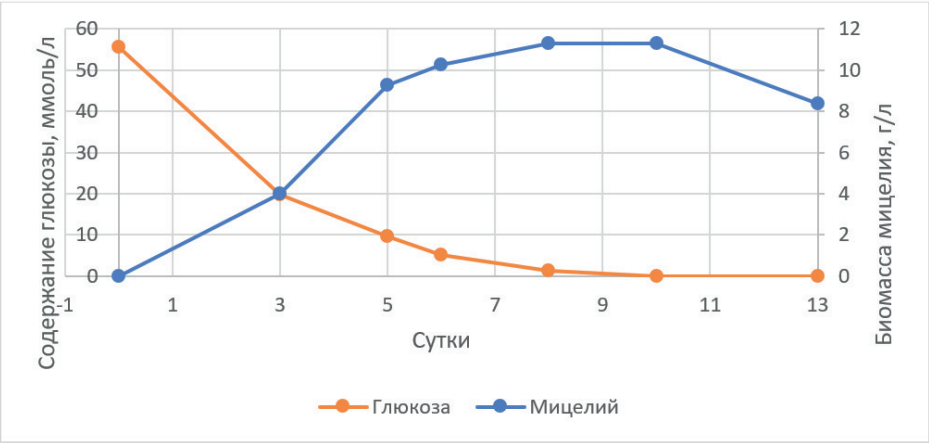


Рисунок 1. Динамика накопления биомассы и содержания глюкозы в процессе культивирования *T. versicolor* 54-НВП-20

О метаболических процессах в среде культивирования можно судить по изменению значения pH в культуральной жидкости. Было показано, что к пятым суткам происходило закисление среды (минимально значение pH=3.09), что свидетельствует о выделении кислых продуктов метаболизма таких, как органические кислоты ЦТК, затем наблюдалось медленное повышение значений pH. К тринадцатому дню оно возросло до 6.00, что может говорить об образовании аммиака из азотистых соединений, выделяемых грибом в процессе роста (рис. 2).

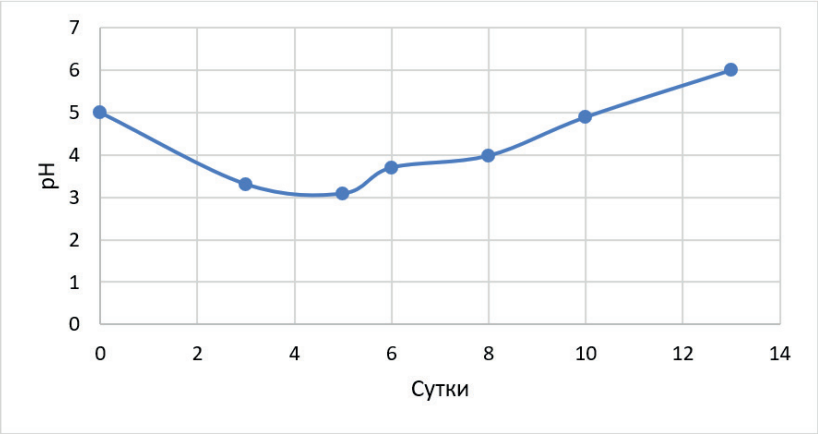


Рисунок 2. Динамика изменения pH в процессе культивирования *T. versicolor* 54-НВП-20

При культивировании штамма *T. versicolor* 54-НВП-20 на контрольной глюкозо-пептонной среде была исследована активность внеклеточной лакказы в динамике роста гриба.

Лакказа – это фермент, который содержит в активном центре четыре иона меди, катализирующий реакцию восстановление молекулярного кислорода до воды. Благодаря своей способности катализировать окисление широкого спектра субстратов без использования дополнительных кофакторов, лакказы нашли свое применение в биотехнологии для получения с помощью них антиоксидантов, противоопухолевых препаратов и многих других БАВ [5].

Лакказа начала образовываться на 11 день роста, соответствующий началу фазы отмирания, при этом активность составляла 0,132 нкат/мл и продолжала увеличиваться до конца культивирования. Максимальная активность лакказ была обнаружена на последний 16 день сьема и равнялась 0,272 нкат/мл. Это связано с тем, что максимальное содержание внеклеточных ферментов образуется в конце стационарной фазы или в фазе отмирания клеток мицелия (рис. 3). Поскольку процесс культивирования в наших экспериментах продолжался не более 16 дней, то полная динамика биосинтеза лакказы не была прослежена. Известно, что лакказы являются индуцибельными ферментами и их продукция в высокой степени зависит от условий культивирования – состава и соотношения компонентов питательной среды, индукторов, способа культивирования и т.д. [6]. Для увеличения продукции лакказы и ее активности обычно используют ПС, обогащенные присутствием индукторов – сульфата меди, гваякола и других ароматических соединений. В наших экспериментах используемая контрольная среда не содержала индукторов, поэтому лакказная активность исследованного штамма не была высокой и проявлялась в относительно поздние сроки.

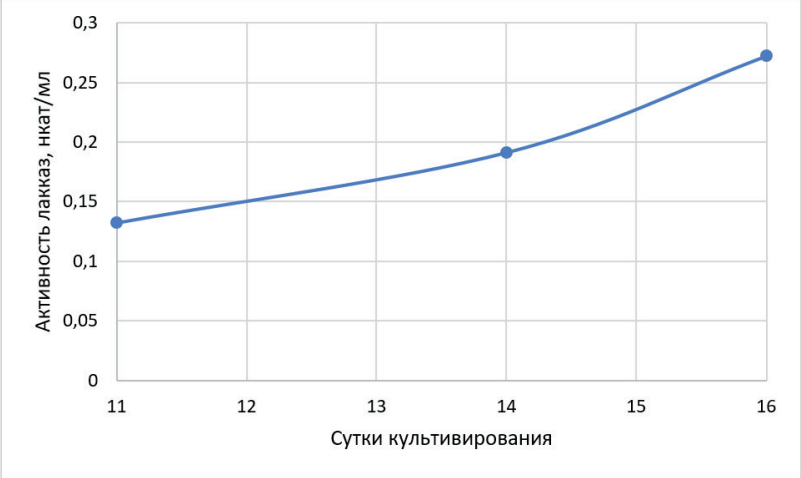


Рисунок 3. Динамика лакказной активности *T. versicolor* 54-НВП-20

Заключение

На основании сравнительного анализа штаммов базидиомицетов в процессе глубинного культивирования был выбран штамм с наибольшим выходом биомассой мицелия *T. versicolor* 54-НВП-20. Изучена динамика утилизация источника углевода и накопления биомассы данного штамма. Показана способность к синтезу внеклеточных ферментов штамма *T. versicolor* 54-НВП-20.

На основе вышеперечисленных результатов, можно заключить, что штамм *T. versicolor* 54-НВП-20 является перспективным продуцентом БАВ и представляет интерес для дальнейших исследований.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00 Биотехнология

62.13.63 Культивирование высших грибов

ЛИТЕРАТУРА

1. Заикина Н.А. Основы биотехнологии высших грибов : учебное пособие. СПб.: Проспект Науки. 2017. 336 с.

2. Olson B., Markwell J. Assays for determination of protein concentration // Curr Protoc Protein Sci. 2007. Ch. 3(3.4.). DOI: 10.1002/0471140864.ps0304s48

3. Фундаментальные основы микологии и создание лекарственных препаратов из мицелиальных грибов / Е.П. Феофилова Е.П. [и др.]. М.: Национальная академия микологии. 2013. 151 с.

4. Gamma delta T cells are activated by polysaccharide K (PSK) and contribute to the anti-tumor effect of PSK / C. Inatsuka [et al.] // Cancer Immunology Immunotherapy. 2013. Vol. 62(8). P. 1335–45. DOI: 10.1007/s00262-013-1436-4

5. Оценка ферментативной активности лакказы Trametes versicolor квантово-химическими методами / Е. А. Бовт [и др.] // Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2018. Т. 3. N 2. С. 312-315.

6. Новые эффективные продуценты грибных лакказ / Н. М. Мясоедова [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. 2008. Т. 44. N 1. С. 84-89.

SUMMARY

OBTAINING AND CHARACTERIZING THE MYCELIUM OF SOME APHILLOPHOROUS BASIDIOMYCETES

Yusupova A.A., 1st year master student
Academic advise: **Ananyeva E.P.**, Ph.D. biol. sciences, head. department;
Psurtseva N.V., head. laboratory of fungal biochemistry
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
BIN RAS
2, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: yusupova.anastasiya@pharminnotech.com

Strains with a high yield of mycelium and a characterized composition were identified. The dynamics of mycelium biomass accumulation under conditions of deep cultivation were established at the level of one of the strains with high growth and enzymatic activity. As a result of the studies, the cultural characteristics of new strains of aphyllophoric fungi of Far Eastern origin were discovered. Based on income data, the biotechnological potential of the studied material was identified.

Keywords: *aphyllophoric basidiomycetes*, *deep cultivation*, *mycelium biomass*, *biotechnological potential*, *laccase activity.*

REFERENCES

1. Zaikina N.A. Fundamentals of biotechnology of higher fungi: Textbook. St. Petersburg: Prospekt Nauki. 2017. 336 p. (in Russian)

2. Olson B., Markwell J. Assays for determination of protein concentration // Curr Protoc Protein Sci. 2007. Ch. 3(3.4.). DOI: 10.1002/0471140864.ps0304s48

3. Fundamental foundations of mycology and the creation of drugs from filamentous fungi / E.P. Feofilova [et al.]. M.: National Academy of Mycology. 2013. 151 p. (in Russian)

4. Gamma delta T cells are activated by polysaccharide K (PSK) and contribute to the anti-tumor effect of PSK / C. Inatsuka [et al.] // Cancer Immunology Immunotherapy. 2013. Vol. 62(8). P. 1335–45. DOI: 10.1007/s00262-013-1436-4

5. Evaluation of the enzymatic activity of Trametes versicolor laccase by quantum chemical methods / E.A. Bovt, E. M. [et al.] // Actual problems of biological physics and chemistry. 2018. T. 3(2). P. 312-315. (in Russian)

6. New effective producers of fungal laccases / N. M. Myasoedova [et al.] // Applied Biochemistry and Microbiology. 2008. T. 44(1). P. 84-89. (in Russian)

УДК 61:615.1

ПРОИЗВОДСТВО КОКАРБОКСИЛАЗЫ: ТРАДИЦИОННАЯ ТЕХНОЛОГИЯ И СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ

Бутенко А.А., Матюхова М.В., студ. 3 курса
Руководитель: **Красовицкая И.А.**, старший преподаватель кафедры биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anastasiya.butenko@spcpu.ru

В работе представлен обзор биологических, химических и физических свойств кокарбоксилазы, процессов, в которых участвует приведенное вещество в организме человека, а также областей его применения. Приведена традиционная технология производства кокарбоксилазы и возможные способы ее улучшения для повышения выхода целевого вещества, увеличения доступности сырья и снижения затрат.

Ключевые слова: *кокарбоксилаза, тиаминдифосфат, тиаминпирофосфат, химический синтез, микроволновое излучение, сорбция.*

Кокарбоксилаза (тиаминпирофосфат, ТПФ, тиаминдифосфат, ТДФ), является известной лекарственной субстанцией, биологически активной формой витамина B_1, выпускаемой промышленностью преимущественно в форме кокарбоксилазы гидрохлорида (ККГХ) [1]. Основной лекарственной формой препарата является лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения. Препараты кокарбоксилазы гидрохлорида широко используются в комплексной терапии для лечения целого ряда заболеваний, связанных с нарушением обмена веществ, включая печеночную и почечную недостаточность, диабетическую и печеночную кому, ацидоз диабетического происхождения и дыхательный ацидоз при хроническом легочно-сердечном синдроме, недостаточность коронарного кровообращения, периферические невриты и другие различные патологические процессы, требующие улучшения углеводного обмена.

Целью данной работы является изучение основных свойств вещества кокарбоксилазы и технологии ее получения, а также обзор возможных путей улучшения традиционной технологии.

Кокарбоксилаза: основные свойства и роль в организме

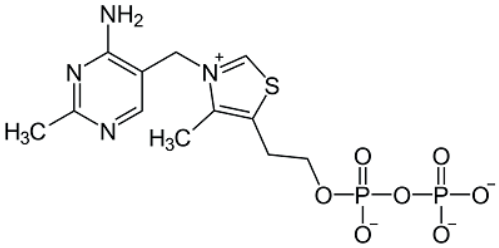


Рисунок 1. Формула тиаминпирофосфата

По своей природе тиаминпирофосфат (рис. 1) – это органическое гетероциклическое соединение, в структуру которого входят два кольца – пиридиновое и тиазоловое, соединенные метиленовой связью.

Тиаминпирофосфат, как кофермент витамина B_1, образуется в организме в печени, почках, мозге, сердечной мышце путем фосфорилирования тиамина при участии фермента тиаминкиназы и АТФ. Наибольшее содержание ТПФ найдено в эритроцитах и составляет 80% от его общего пула в организме [2].

Тиаминпирофосфат является коферментом ряда сложных ферментных комплексов, связанных с метаболизмом углеводов и аминокислот: пируватдегидрогеназы (ПДГ), α-кетоглутаратдегидрогеназы и дегидрогеназы кетокислот с разветвленной боковой цепью. Они катализируют окислительное декарбоксилирование пирувата, α-кетоглутаровой кислоты и аминокислот с разветвленной цепью с образованием ацетил-кофермента А (КоА), сукцинил-КоА, а также производных разветвленных аминокислот соответственно.

Эти вещества играют важную роль в цикле Кребса: аминокислоты с разветвленной цепью, включая лейцин, изолейцин и валин, в конечном счете деградируют в ацетил-КоА и сукцинил-КоА, которые являются непосредственными участниками цикла трикарбоновых кислот. Катаболизм перечисленных аминокислот способствует также производству холестерина и азота для синтеза нейромедиаторов, глутамата и γ-аминомасляной кислоты (ГАМК) [3].

Также ацетил-КоА, образующийся в результате работы ТПФ-зависимого пируватдегидрогеназного комплекса, частично используется как субстрат для ацетилирования холина. При недостаточном поступлении тиамина пировиноградная и молочная кислоты накапливаются в тканях, нарушается синтез ацетилхолина, вследствие чего ухудшаются функции ряда систем, в первую очередь, нервной, сердечнососудистой и пищеварительной [4].

Помимо прочего, тиаминпирофосфат является коферментом транскетолаз, которые функционируют в пентозофосфатном пути и участвуют в переносе гликоальдегидного радикала между кето- и альдосахарами [5]. ТПФ-зависимая транскетолаза является основным источником восстановленного НАДФН и рибозо-5-фосфата [2].

Кокарбоксилаза относится к группе неспецифических активаторов метаболизма [6]. В организме фосфорилируется с образованием моно-, ди- и трифосфорных эфиров. Помимо активного участия в углеводном обмене в составе ферментных систем, участие кокарбоксилазы в пентозном цикле опосредованно способствует синтезу нуклеиновых кислот, белков и липидов, а также восстановительных эквивалентов пентозофосфатного пути, необходимых для удовлетворения пластических нужд миокарда, где, на фоне раздражающих факторов, уровень витаминов В-комплекса частично снижен [7]. Кокарбоксилаза также улучшает усвоение глюкозы, трофику нервной ткани, способствует нормализации функций сердечно-сосудистой системы. Антиоксидантное действие кокарбоксилазы связано с ее способностью блокировать гликирование (окисление) белка. Дефицит кокарбоксилазы вызывает повышение уровня пировиноградной и молочной кислот в крови, что приводит к ацидозу и ацидотической коме [8].

Биологические свойства кокарбоксилазы не полностью совпадают со свойствами тиамина, в частности, для лечения авитаминоза и гиповитаминоза витамина B_1 кокарбоксилазу не применяют. Препарат используется в составе комплексной терапии при следующих нарушениях: печеночная и почечная недостаточность [9], гестоз [8], диабетическая нейропатия [10], диабетическая прекома и кома, диабетический кетоацидоз, хроническая сердечная недостаточность и нарушения сердечного ритма, периферические невриты.

Кокарбоксилаза обладает рядом важных физических и химических свойств, которые необходимо учитывать в ходе работ по получению, выделению и очистке данного вещества.

Тиаминпирофосфат, как сам тиамин и его коферментные формы – белое твердое вещество, легкорастворимое в воде и нерастворимое в органических растворителях. Молярная масса тиаминпирофосфата составляет 425,3 г/моль, температура плавления $t_{пл}$ = 241-234 °С. Значение показателя константы кислотности для вещества pKa = 9,7.

Под действием ультрафиолета UVA (область 315-400 нм) и интенсивного видимого света (λ > 400 нм) в присутствии фотосенсибилизатора рибофлавина (витамин B_2) происходит окисление тиамина и тиаминдифосфата в водных растворах, в крови, а также в клеточных структурах глаза, вследствие чего их содержание уменьшается. В аэробных условиях этот процесс протекает под действием синглетного кислорода. Удаление кислорода сульфитом вызывает ингибирование окисления тиамина более чем на 90%. Добавление в водный раствор азида натрия также практически полностью ингибирует окисление тиамина или тиаминдифосфата [11]. Длинноволновой ультрафиолет и интенсивный видимый свет способны окислять ТДФ и вызывать не только повреждение белковых клеточных структур, но и инактивацию тиамин-зависимых ферментов [12].

Помимо инактивации тиамин-зависимых ферментов возможно также блокирование процессов, зависящих от тиамина, соединениями-антагонистами тиамина. Широко известными антагонистами тиамина являются 4'-окситиамин, пиритиамин и ампролиум. Все три антагониста блокируют коферментную функцию тиамина, однако механизмы их действия различаются.

Ампролиум подавляет транспорт тиамина внутрь клеток, вызывая дефицит внутриклеточного тиамина и, как следствие, образующегося из тиамина ТДФ. Пиритиамин блокирует фосфорилированиерование тиамина до ТДФ, создавая внутриклеточный дефицит кофермента ТДФ за счет сильного ингибирующего действия на тиаминдифосфокиназу. При этом транспорт тиамина в клетку непосредственно не блокируется, но может нарушаться из-за снижения мембранного градиента концентрации тиамина при ингибирование его внутриклеточного превращения в ТДФ. Дифосфорилированная форма 4'-окситиамина (4'-оксиТДФ) блокирует ферменты центрального метаболизма, которые используют ТДФ в качестве кофермента [13].

Технологии производства кокарбоксилазы

Традиционно субстанцию ККГХ получают фосфорилированием тиамина гидрохлорида (рис. 2).

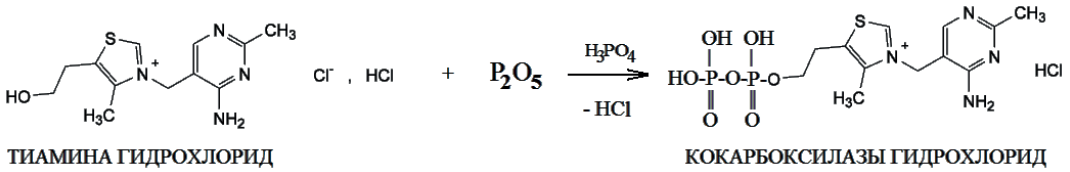


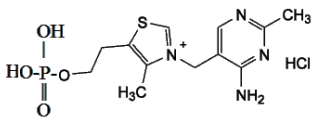
Рисунок 2. Схема синтеза кокарбоксилазы гидрохлорида из тиамина гидрохлорида

В качестве фосфорилирующих агентов могут использовать различные вещества и их смеси. Так, например, тиамин гидрохлорид фосфорилируют пирофосфатом натрия в присутствии избытка фосфорной кислоты. Однако существенным недостатком приведенного метода является трудоемкостью получения солей пирофосфорной кислоты в промышленном масштабе.

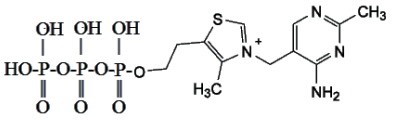
Известен способ, при котором используют хлорокись фосфора в присутствии ортофосфорной кислоты. Его недостатком является взаимодействие компонентов фосфорилируешего компонента и образование больших объемов газообразного хлористого водорода.

Также могут применять фосфорилирующую смесь, приготовленную из фосфорного ангидрида и ортофосфорной кислоты [14].

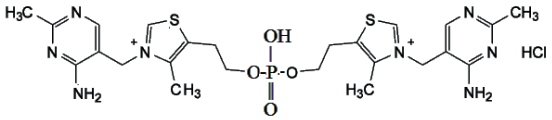
Все фосфорилирующие агенты загружают в реактор и перемешивают после чего равномерными порциями добавляют тиамин. Процесс фосфорилирования протекает неселективно и приводит к образованию помимо целевого вещества также смеси эфиров тиамина, состоящей из эфира тиамина и о-фосфорной кислоты (фосфотиамин), эфира дитиаминмонофосфорной кислоты, а также эфира тиамина и три-о-фосфорной кислоты (рис. 3) [15].



эфир тиамина и о- фосфорной кислоты (фосфотиамин)



эфир тиамина и три-о-фосфорной кислоты



эфир дитиаминмонофосфорной кислоты

Рисунок 3. Смесь фосфорных эфиров тиамина

Полученную смесь фосфорных эфиров тиамина нейтрализуют и разделяют хроматографированием, направляя ее на ионообменную колонку, заполненную катионитом КУ-23 в H^+-форме.

Первую полученную фракцию элюата упаривают в вакууме, к упаренному раствору прибавляют этиловый спирт и выдерживают при определенной температуре. После чего образовавшийся осадок отделяют фильтрацией и высушивают в вакууме. Получают тиаминтрифосфат (ТТФ).

Со второй фракцией элюата проводят те же операции, что и с первой. Единственное отличие заключается в подкислении концентрированной соляной кислотой упаренного раствора перед добавлением этилового спирта. Таким образом получают ТДФ [14].

Готовую субстанцию ККГХ направляют на стадию фасовки и упаковки.

Данная технология имеет значительное количество недостатков:

1. Использование в качестве сырья тиамина гидрохлорида, который относится к трудно доступным продуктам [14].

2. Сульфокатионит КУ – 23, который применяют на стадии хроматографического разделения эфиров, в настоящее время не производится в промышленных масштабах на территории Российской Федерации, а его поставки из других стран затруднены [16].

3. Метод сорбционной очистки характеризуется небольшим выходом целевого продукта [17].

Пути улучшения традиционной технологии

Замена сырья для получения кокарбоксилазы

Ввиду труднодоступности, тиамин гидрохлорида в качестве сырья для синтеза ККГХ, возможно получение смеси фосфорных эфиров тиамина из тиамина-мононитрата фосфорилированием его смесью фосфорного ангидрида и ортофосфорной кислоты. Тиамин-мононитрат позволяет обеспечить промышленное производство кокарбоксилазы более доступным сырьем.

Также необходимо использовать амиды карбоновых кислот, которые предотвращают окисление тиамина-мононитрата и фосфорных эфиров тиамина. Сущность метода заключается в том, что к смеси фосфорного ангидрида и ортофосфорной кислоты при нагревании прибавляют амид карбоновой кислоты и затем постепенно тиамин-мононитрат. Это дает возможность контролировать подачу сырья и держать в равновесии соотношение с амидом карбоновой кислоты, так как снижение его количества в реакционной смеси ниже нижнего предела приводит к окислительной деструкции тиамина-мононитрата и эфиров тиамина из-за неполного связывания окислов азота. Использование количеств амида карбоновой кислоты, превышающих верхний предел, нецелесообразно [14].

Применение микроволнового излучения для интенсификации синтеза кокарбоксилазы

Поскольку выход кокарбоксилазы в случае синтеза по приведенной выше методике невысок [18], возможно применение дополнительных методов, стимулирующих процесс синтеза для увеличения выхода кокарбоксилазы.

Одним из таких способов является интенсификация синтеза кокарбоксилазы с помощью микроволнового излучения (МВИ).

Известно, что применение микроволнового излучения как альтернативного источника нагрева приводит не только к снижению энергозатрат (в 5 раз), но в ряде случаев позволяет также повысить выход продуктов реакций, их чистоту, ускорять физико-химические процессы (в 2,5 раза) и плавно варьировать их параметры. При получении кокарбоксилазы все вещества, используемые в качестве исходного сырья и продуктов реакций – ортофосфорная кислота, полифосфорная кислота, тиамин-хлорид, вода – являются полярными веществами. А потому они, как и сам ККГХ, способны поглощать МВИ и конвертировать его в тепло, что способствует интенсификации синтеза вещества.

Значения глубины скин-слоя (проникновения) МВИ для реагентов и продуктов, участвующих в процессе синтеза кокарбоксилазы, составляют десятки сантиметров, что позволяет прогнозировать масштабирование процессов дегидратации ортофосфорной кислоты и фосфорилирования тиамин-хлорида до промышленных объемов, причем проводить их в реакторах как непрерывного, так и периодического действия [1].

Процесс сорбции кокарбоксилазы на сорбентах различной структуры

В мире кроме традиционной технологии производства кокарбоксилазы, в которой используется сорбент КУ-23, существует современная (модифицированная) технология, которая предполагает поиск более доступных, эффективных и экономически выгодных сорбентов [20].

За рубежом используют неионогенные адсорбирующие смолы, содержащие в своем составе по меньшей мере одно ненасыщенное циклическое азотное основание, и затем элюируют тиаминмонофосфат (ТМФ) и ТДФ подходящим растворителем [17]. Таким образом фосфорная кислота, ТТФ и более высокие тиаминфосфаты остаются на адсорбционной смоле и/или расщепляются до ТМФ, в то время как ТМФ и ТДФ элюируются. Тем самым ТМФ и ТДФ, после удаления растворителя, получают в высокой степени чистоты с очень низкими потерями вещества.

Модифицированные сорбенты с измененной поверхностной структурой (ионообменные смолы, целлюлоза, поливинилхлоридные мембраны и высокодисперсный кремнезем) в настоящее время получают с помощью органических растворителей для улучшения их сорбционных свойств [21]. Сущность метода заключается в сорбции реагента на поверхности носителя из водной или водно-органической среды в динамических или в статических условиях после упаривания нанесенного на сорбент раствора реагента в легколетучем растворителе, где в качестве растворителя используют этанол, толуол или хлороформ. Гидрофобные комплексы элементов с органическими реагентами для извлечения на малополярных сорбентах получают путем выдерживания носителя в растворе поверхностно активного вещества в статических или динамических условиях с последующим его отделением. Также сорбенты возможно получать путем двойной модификации (в статических или динамических условиях) комплексообразующими реагентами.

Таким образом сорбенты приобретают: гетероатомы (Si,N) в матрицах сорбентов, функциональные группы в поверхностном слое (-NH2, -COOH, -OH, -C=O, остатки фосфоновых кислот) или же введение в поверхностный слой носителя функциональных групп (-COOH, -COC1,-NH2, -N=N-, -NCO), тем самым получая улучшенную сорбционную способность, избирательность и механическую и химическую устойчивость [19].

Также ранее на кафедре биотехнологии были получены результаты исследований процесса сорбции кокарбоксилазы на сорбентах различного типа в статических условиях [16, 20]. Среди сорбентов, которые показали наилучшие результаты по емкости, избирательности и скорости процесса сорбции отобрали: сильнокислотный катионит Aberlite HPR1100Na, хелатный сорбент S950 и сульфокатионит на основе сверхсшитого полистирола MN500. Приведенные сорбенты намного превзошли КУ-23 по перечисленным показателям.

Далее изучили зависимости емкости сорбции от pH в динамических условиях на КУ-23 и Aberlite HPR1100Na. Проведенное исследование показало, что емкость сорбции максимальна при pH = 0, а также, что емкость сорбции кокарбоксилазы на Aberlite HPR1100Na выше, чем на КУ-23, что еще раз подтверждает результаты статических экспериментов [16, 20]. Однако выбранная традиционная технология для десорбции, где в качестве элюента использовали ацетатный буферный раствор с pH = 5,5, оказалась не эффективной [22]. Данный результат свидетельствует о том, что необходимо продолжить исследования процесса динамической сорбции на представленных выше сорбентах для достижения более эффективных результатов.

Заключение

В данной работе представлен обзор основных свойств кокарбоксилазы, опираясь на которые мы можем судить об исходе процессов получения, выделения и очистки целевого вещества. Рассмотрен традиционный процесс синтеза кокарбоксилазы. Показано, что основными недостатками традиционной технологии являются труднодоступность сырья и низкий выход. Приведены возможные решения по увеличению выхода кокарбоксилазы путем интенсификации синтеза с помощью микроволнового излучения, а также по улучшению стадии сорбции и замене классического сорбента КУ-23 на более эффективные.

ЛИТЕРАТУРА

1. Интенсификация процесса синтеза кокарбоксилазы с помощью микроволнового излучения / Н.А. Пинчукова [и др.] // Восточно-Европейский журнал передовых технологий. 2013. N 6/6(66). С. 20-26. doi:10.15587/1729-4061.2013.19203.

2. Дефицит тиамина и его коррекция при критических состояниях / В.В. Ломиворотов [и др.] // Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2017. Т. 14. N 5. С. 73-81. DOI: 10.21292/2078-5658-2017-14-5-73-81

3. Ших Е., Кукес В., Петунина Н. Кокарнит: анальгетический потенциал в лечении диабетической полинейропатии // Врач. 2016. N4. С. 20-26.

4. Морозова Т.Е., Дурнецова О.С. Витамины группы В в клинической практике // Медицинский совет. 2014. N 18. С. 72-77.

5. Разработка и валидация методики количественного определения тиамина в плазме крови методом lc-ms с целью проведения исследования биоэквивалентности / О.А. Таширова [и др.] // Сеченовский вестник. 2012. N 3(9). С. 50-54.

6. Современные метаболические кардиоцитопротекторы. Технологические аспекты разработки лекарственных препаратов на их основе / А.А. Теслев [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Серия медицина. Фармация. 2014. N 4(175). Вып. 25. С. 188-195.

7. Показатели обмена витамина В1 при стрессе / И.П. Черникевич [и др.] // Журнал ГрГМУ. 2006. N 1. С. 32-36.

8. Небышинец Л.М., Тесакова М.Л. Патогенетический подход в профилактике гестоза // Медицинские новости. 2017. N 2. С. 46-50.

9. Ибадильдин А.С., Шарунов Г.И., Буираев К.М.. Заболевания печени у беременных, принципы лечения // Вестник КазНМУ. 2013. N 4 (2). С. 269-271.

10. Демидова О.А., Ших Е.В. Анальгетический потенциал агонистов пуриновых рецепторов и витаминов группы В в лечении диабетической полинейропатии // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018. N 8(1). С. 17–22. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-17-22.

11. Фотосенсибилизированное рибофлавином окисление тиамина и тиаминдифосфата в водных растворах при воздействии ультрафиолета и видимого излучения / И.И. Степуро [и др.] // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем. 2020. С. 58.

12. Окисление тиамина под действием ультрафиолета и фотосенсибилизированное рибофлавином. Окисление тиамина под действием видимого света / С.А. Агейко // Здоровье и окружающая среда. 2021. С. 410-412

13. Механизмы некоферментного действия тиамина: белковые мишени и медицинское значение / В.А. Алешин [и др.] // Биохимия. 2019. Том 84 (8). С. 1051-1075.

14. Поляченко В. М. Способ получения фосфорных эфиров тиамина / В.М. Поляченко [и др.] // Патент РФ № 2041229. 09.08.1995

15. Зинченко А.А. Контроль сопутствующих примесей в субстанции кокарбоксилаза гидрохлорид методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ. Серия Медицина. Фармация. 2013. N 25. С. 46-54.

16. Пути улучшения традиционной технологии сорбционной очистки кокарбоксилазы / И.А. Красовицкая [и др.] // Международный конгресс: Биотехнология: состояние и перспективы развития. 2021. С. 189-190.

17. Method of purifying thiamine phosphates / Krummradt Holger. [et al.] // United States Patent № US 6596865 B1. 22.07.2003

18. Process for the separation of phosphoric acid, thiamine tri and polyphosphates from phosphoric acid solutions of thiamine phosphates / Krummradt Holger // Germany Patent № DE 19858269 A1. 28.09.2000

19. Пятиизбянцев Т.А., Красовицкая И.А., Котова Н.В. Изучение процесса сорбции кокарбоксилазы на сорбентах различной структуры // Инновации в здоровье нации. 2019. С. 361-364.

20. Пятиизбянцев Т.А., Красовицкая И.А., Котова Н.В. Равновесные и кинетические параметры процесса сорбции кокарбоксилазы на сорбентах различной структуры // Материалы международного форума «Биотехнология: состояние и перспективы развития. 2020. С. 73.

21. Пьянова, Л.Г. Разработка и фармакотоксикологическая оценка модифицированных биологически активными веществами сорбентов ветеринарного назначения на основе нанодисперсного углерода дис. … канд. док. биол. наук. Омск, 2016. 115 с.

22. Кованёва А.В., Холодаева С.В. Изучение динамической сорбции кокарбоксилазы на сорбентах различного типа // Молодая Фармация – Потенциал Будущего 2021. Материалы конференции. 2021. Т. 1. С. 317-321.

SUMMARY

COCARBOXYLASE PRODUCTION: TRADITIONAL TECHNOLOGY AND MODERN TRENDS

Butenko A.A., Matyuhova M.V., 3rd year student
Academic advise: **Krasovickaya I.A.**, Senior Lecturer of the Department of Biotechnology
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: anastasiya.butenko@spcpu.ru

The paper presents an analysis of the biological, chemical and physical properties of cocarboxylase, describing the processes in which the given substance participates in the human body, as well as the scope of its application. The traditional technology for producing cocarboxylase and possible ways to improve it, in order to increase the yield of the target substance, increase availability and reduce costs, are given.

Keywords: *cocarboxylase, thiamine diphosphate, thiamine pyrophosphate, chemical synthesis, microwave radiation, sorption.*

REFERENCES

1. Intensification of synthesis of cocarboxylase with help of microwave irradiation / N.A. Pinchukova [et al.] // Eastern-European Journal of Enterprise Technologies. 2013. Vol. 6/6(66). P. 20-26. doi:10.15587/1729-4061.2013.19203. (in Russian)

2. Thiamine deficiency and its management in critical states / V.V. Lomivorotov [et al.] // Messenger of anesthesiology and resuscitation. 2017. Vol. 14(5). P. 73-81. doi:10.21292/2078-5658-2017-14-5-73-81. (in Russian)

3. Shikh E., Kukes V., Petunina N. Kokarnit: an analgesic potential in the treatment of diabetic polyneuropathy // Vrach. 2016. N 4. P. 20-26. (in Russian)

4. Morozova T.E., Durnetsova O.S. B-group vitamins in clinical practice // Medicinskij sovet. 2014. N 18. P. 72-77. (in Russian)

5. The development and validation of methods for quantitative determination of thiamine in blood plasma by means of lc-ms method providing studies of bioequivalence / O.A. Tashirova [et al.] // Sechenovskij vestnik. 2012. N 3(9). P. 50-54. (in Russian)

6. Modern metabolic cardiocytoprotectors. Technological aspects of development of drugs on their basis / A.A. Teslev [et al.] //Nauchnye vedomosti BelGU. Serija medicina. Farmacija. 2014. N 4(175). Part 25. P.188-195. (in Russian)

7. Indicators of vitamin B1 metabolism under stress / I.P. Chernikevich [et al.] // GrSMU Journal. 2006. N 1. P. 32-36. (in Russian)

8. Nebyshinets L.M., Tesakova M.L. Pathogenetic approach in prevention of gestational toxicosis //Meditsinskie novosti. 2017. N 2. P. 46–50. (in Russian)

9. Ibadildin A.S., Scharounov G.I., Buiraev K.M. Liver disease in pregnant women, principles of treatment // Vestnik KazNMU. N 4(2). 2013. P. 269-271. (in Russian)

10. Demidova OA, Shikh EV. Analgesic Potential of Purine Receptor Agonists and B Vitamins in the Treatment of Diabetic Polyneuropathy // The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 2018. Vol.8(1). P. 17–22. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-17-22. (in Russian)

11. Riboflavin-photosensitized thiamine oxidation in aqueous solutions on exposure to ultraviolet and visible light / I.I. Stepuro [et al.] // Molecular, membrane and cellular foundations of biosystems' functioning. 2020. P. 58. (in Russian)

12. Oxidation on exposure to UVA ultraviolet and visible light in the presence of riboflavin / S.A. Aheika [et al.] // Zdorov'e i okruzhajushhaja sreda. 2021. P. 410-412. (in Russian)

13. Mechanisms of non-coenzyme action of thiamine: protein targets and medical significancE / V.A. Aleshin [et al.] // Biochemistry. 2019. Vol. 84(8). P. 829-850. (in Russian)

14. Method of obtaining thiamine phosphoric esters / V. M. Polyachenko [et al.] // Patent of the Russian Federation No. 2041229. 09.08.1995 (in Russian)

15. Zinchenko A. A. Control of concomitant impurities in the substance cocarboxylase hydrochloride by high-performance liquid chromatography // Scientific bulletin. Medicine series. Pharmacy. 2013. N.25. P.46-54. (in Russian)

16. Ways to improve the traditional technology of sorption purification of cocarboxylase / I.A. Krasovitskaya [et al.] // International Congress: Biotechnology: state and Prospects of Development. 2021. P. 189-190. (in Russian)

17. Method of purifying thiamine phosphates / Krummradt Holger. [et al.] // United States Patent № US 6596865 B1. 22.07.2003

18. Process for the separation of phosphoric acid, thiamine tri and polyphosphates from phosphoric acid solutions of thiamine phosphates / Krummradt Holger // Germany Patent № DE 19858269 A1. 28.09.2000

19. Pyatizbyantsev T.A., Krasovitskaya I.A., Kotova N.V. Study of the process of sorption of cocarboxylase on sorbents of various structures // Innovations in the health of the Nation. 2019. P. 361-364. (in Russian)

20. Pyatizbyantsev T.A., Krasovitskaya I.A., Kotova N.V. Equilibrium and kinetic parameters of the process of cocarboxylase sorption on sorbents of various structures // Materials of the international forum «Biotechnology: state and prospects of development. 2020. P. 73. (in Russian)

21. Pyanova L.G. Development and pharmaco-toxicological evaluation of veterinary sorbents modified with biologically active substances based on nanodispersed carbon dis. ... cand. doc. Biol. sciences. Omsk, 2016. 115 p. (in Russian)

22. Kovaneva A.V., Kholodova S.V. Study of dynamic sorption of cocarboxylase on sorbents of various types // Young Pharmacy – The Potential Of The Future 2021. Conference Proceedings. 2021. Vol. 1. P.317-321. (in Russian)

УДК 60:615.3

РАЗРАБОТКА СОРБЦИОННО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ КОМПЛЕКСА ФЕРМЕНТОВ (КИСЛАЯ ПРОТЕАЗА, ЛИПАЗА, А-АМИЛАЗА) ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ *ASPERGILLUS ORYZAE*

Головина Л.А., студ. 4 курса
Руководитель: **Котова Н.В**., доцент кафедры биотехнологии, к.х.н.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14
E-mail: lidiya.golovina@spcpu.ru

В данной работе рассматривается возможность выделения комплекса ферментов (амилаза, протеаза, липаза) сорбционно-хроматогафическим методом из нативного раствора плесневого гриба *Aspergillus oryzae*. Установлено, что нативный раствор неоднороден по белковому составу. Установлены молекулярные массы ферментов методом элютивной гельхроматографии, определены оптимальные условия проведения процесса сорбции на различных сорбентах.

Ключевые слова: *культуральная жидкость Aspergillus oryzae, липаза, а-амилаза, сорбция, кислая протеаза, гельхроматография.*

Производство ферментов – одно из ключевых направлений современной промышленной биотехнологии. В данной отрасли объем производств растет от года к году, технологии выделения и очистки совершенствуются, количество сфер применения увеличивается. Такое внимание к ферментам объясняется их нетоксичностью, высокой специфичностью, биоактивностью и их незаменимой ролью в катализе биохимических реакций. Промышленное производство наиболее используемых человеком ферментов, к которым относятся и рассматриваемый в данной работе комплекс амилазы, протеазы, липазы, позволяет создавать более эффективные для человека препараты, а также интенсифицировать и улучшать существующие технологии.

Для народного хозяйства большой интерес представляют гидролитические ферменты, которые широко используются в различных отраслях промышленности:

- Пищевая промышленность. Применение в хлебопекарной промышленности с целью улучшения свойств конечного продукта, также используется в пивоварении, получении сыров и при обработке мясных изделий.

- Легкая промышленность. Используется для обработки материалов в кожевенном производстве, улучшения свойств шелка и шерсти.

- Медицинская промышленность. Комплекс используется при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта, также являются дополняющей терапией при лечении гнойно-воспалительных процессов.

- Сельское хозяйство. Применяются ферменты в отдельности как пищевые добавки.

Получают протеазы и амилазы из источников растительного, животного и микробного происхождения. Однако выделение энзимов из растительного и животного сырья – достаточно трудоемкий процесс, требующий значительных материальных и финансовых ресурсов. Наиболее перспективным и экономичным способом производства ферментов является культивирование микроорганизмов, среди которых особый интерес представляют плесневые грибы *Aspergillus oryzae*.

Aspergillus oryzae синтезирует кислотоустойчивые и высокоактивные протеазы и амилазы. Гриб не патогенен, способен к размножению в различных условиях, на относительно дешевых питательных средах, содержащих отходы других производств, что, безусловно, важно с экономической точки зрения. [4]

Целью работы является разработка сорбционно-хроматографического метода выделения комплекса ферментов (кислая протеаза, липаза, α-амилаза) из нативного раствора *Aspergillus oryzae.*

Задачи работы:

- Наработка культуральной жидкости *Asp. Oryzae*, оценка активности ферментов в полученном нативном растворе;
- Определение компонентного состава нативного раствора;
- Подбор оптимальных условий проведения процесса сорбции на различных сорбентах;
- Выбор оптимального сорбента для разработки метода получения комплекса ферментов.

Материалы и методы

1. Культивирование *Asp. Oryzae* штамм 55

Производится глубинным методом при постоянном перемешивании при температуре 28±°С в течение 72 часов. Используется жидкая питательная среда стандартного состава: глюкоза – 3%, крахмал – 3%, кукурузный экстракт – 3%, соевая мука – 2%, аммоний сернокислый – 0,2%, кальция карбонат – 0,3%, pH среды составляет 6,7-7,0.

2. Определение активности ферментов комплекса

2.1 Определение активности кислой протеазы

Для проведения анализа готовились необходимые растворы (1н NaOH, 0,5н NaOH, 1М KH_2PO_4, 5% раствор трихлоруксусной кислоты, фенольный реактив Фолина-Чокалтеу, 0,2н HCl, 1мМ L-тирозин, раствор гемоглобина – субстрат), строилась калибровочная кривая по раствору L-тирозина в разных концентрациях и определяли разницу между поглощением нативного раствора и раствора сравнение на спектрофотометре при λ=750нм.

При расчете активности использовали единицы Ансона.

1AU=количество фермента, при котором появляется окраска, соответствующая по интенсивности 1 миллиэквиваленту тирозина за минуту при заданных условиях опыта.

Активность определяли по следующей формуле (1):

$$\frac{\text{мк AU}}{\text{мл}} = \frac{A_{750} \cdot 2 \cdot \text{коэффициент разведения}}{tg_{\text{угла наклона}} \cdot \tau_{\text{инкубации}}} \quad (1)$$

2.2 Определение активности α-амилазы

В основе метода лежит количественное определение гидролизованного крахмала ферментами амилолитического комплекса при температуре 30°С, pH=4,7 за 10 минут.

Для проведения анализа готовились необходимые растворы (1н NaOH, 1н CH_3COOH, ацетатный буфер с pH=4,7, 1% раствор крахмала – субстрат, 0,2н HCl, основной и рабочий растворы йода, 0,1н HCl).

В качестве единицы амилолитической активности (АС) принимали количество фермента, которое при pH=4,7 и 30°С за 1 минуту осуществляет катализ 1г субстрата до декстринов.

Активность определяли по следующей формуле (2):

$$A = \left(\frac{D_1 - D_2}{D_1}\right) * 20 * P, \text{ АЕ/мл} \quad (2)$$

где P – это разведение нативного раствора (1:50),

D1, D2 – это оптические плотности контроля и образца соответственно.

2.3 Определение активности липазы

В основе метода лежит титриметрическое определение по количеству жирных кислот, образующихся при гидролизе субстрата под действием фермента за 1 час при 37±1°С.

Для проведения анализа готовились необходимые растворы (2% раствор мыла, эмульсия подсолнечного масла – субстрат, 1/15М Na_2HPO_4*$2H_2O$, 1/15М KH_2PO_4, 1/15М K-Na-фосфатный буфер с pH=6,0, 1н NaOH, 0,05н NaOH).

Активность определяли по следующей формуле (3):

$$ЛА = \frac{(V_2 - V_1) * T * 50}{B}, \text{ ЛА/мл} \quad (3)$$

где V1, V2 – это объемы 0,05н NaOH, пошедшего на титрование растворов контроля и образца соответственно, мл,

T – это титр 0,05н NaOH, г/мл,

50 – это коэффициент пересчета в мкмоль жирных кислот,

В – это концентрация нативного раствора, г/см^3. [5]

2.3.1 Определение общего белка методом Лоури

В основе метода – восстановление фенильной группы тирозина фосфомолибденовой кислотой, входящей в состав реактива Фолина-Чокалтеу, и образованием голубой окраски раствора с ее последующей спектрофотометрией при λ=750нм. Концентрация определяется согласно калибровочному графику, построенному по альбумину.

3. Гельхроматографическое определение состава нативного раствора

Гельхроматография проводилась для определения молекулярной массы белков (ферментов), входящих в состав нативного раствора *Asp. Oryzae*. Хроматографическая колонка калибровалась по модельным растворам белков с известной молекулярной массой в концентрации 2мг/мл. В качестве носителя использовался сефадекс G75; хроматографическая колонка d*h=1,0*20см.

4. Используемые сорбенты

В работе использовались следующие сорбенты с сопутствующими характеристиками:

- КУ-23 – кислотный катионит макропористой структуры, который получается сополимеризацией дивинилбензола и стирола при введении органического растворителя с целью образования пор, не растворим в воде и органических растворителях. (Функциональные группы SO_3H^-).[2]

- КБ-2 – карбоксильный катионит гелевой структуры, который является сополимером дивинилбензола с акриловой кислотой. (Функциональные группы COO^-).

- Стиросорб С-106 – аналог слабокислотных карбоксильных катионитов, является полиакриловым макропористым сорбентом, обладает термической устойчивостью, осмотической прочностью. (Функциональные группы COO^-).

- Стиросорб С-150 – сульфокатионит макропористой структуры, обладает высокой физико-механической и осмотической стабильностью. (Функциональные группы SO_3H^-). [1]

Данные сорбенты обладают характеристиками согласно Таблице 1 [3]:

Таблица 1 – Характеристики используемых в работе сорбентов

Сорбент	Средний радиус зерна, мм	Коэффициент набухания	Внешний вид зерен	Функциональные группы
КУ-23	0,25-0,4	1,5	Сферические, светло-серого до темно-серого цвета	SO_3H^-
КБ-2	0,4	2,6	Сферические, белые	COO^-
С-106	0,4	2,2	Сферические, полупрозрачные кремовые частицы	COO^-
С-150	0,45-1,2	1,8	Сферические, белые	SO_3H^-

Результаты и обсуждение

Исследование компонентного состава нативного раствора *Asp. Oryzae* шт. 55 методом элютивной гельхроматографии. Данный процесс проводили на хроматографической колонке d*h=1,0*20см по описанной ранее методике. Полученные хроматограммы приведены на рисунках 1,2.

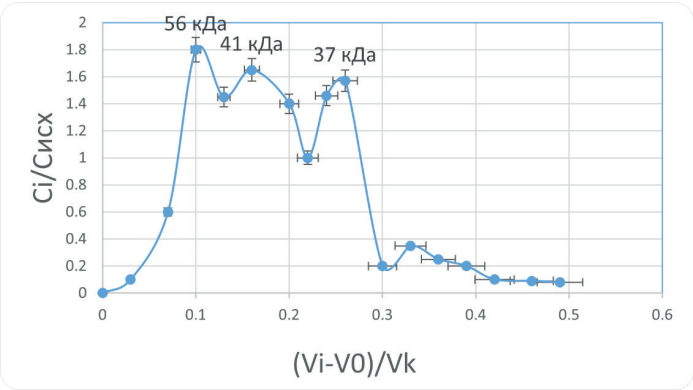


Рисунок 1. Гельхроматография нативного раствора *Asp. Oryzae* шт. 55 по белку

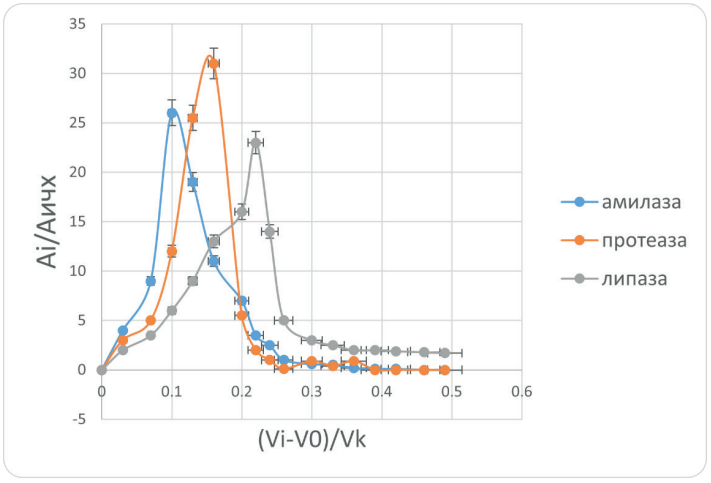


Рисунок 2. Гельхроматография нативного раствора *Asp. Oryzae* шт. 55 по активности рассматриваемых ферментов

Результат исследования нативного раствора методом гельхроматографии показывает, что раствор не однороден по белку. Присутствие амилазы, кислой протезы и липазы подтверждено, а также установлены их молекулярные массы согласно пикам на графиках: 1 пик – амилаза – 56кДа, 2 пик – протеаза – 41кДа, 3 пик – липаза – 37 кДа.

Исследование влияния pH на емкость сорбции кислой протеазы и амилазы на используемых катионитах. Исследование проводилось в диапазоне pH: 2,5 – 7,0 в статических условиях. Получены следующие зависимости: на рисунках 3,4 представлены зависимости емкости сорбции ферментов от pH на различных сорбентах.

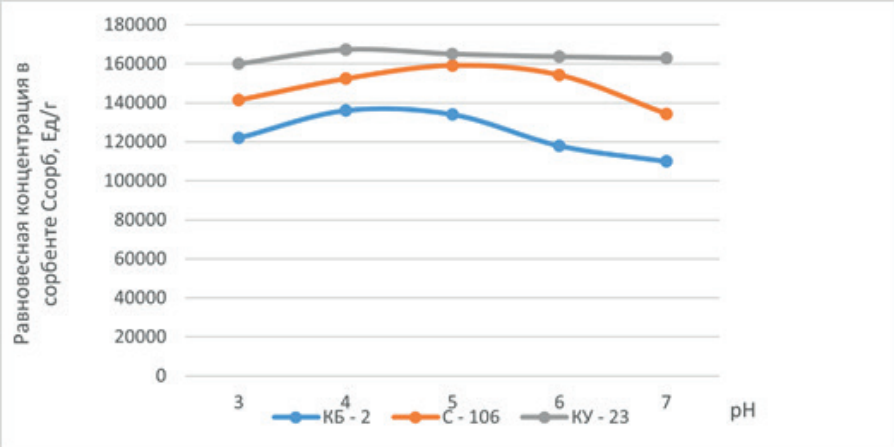


Рисунок 3. Зависимость емкости сорбции α-амилазы от pH на различных сорбентах

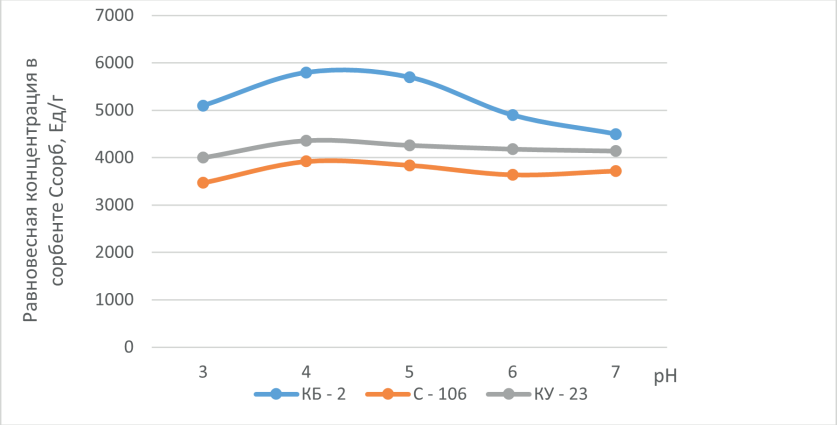


Рисунок 4. Зависимость емкости сорбции кислой протеазы от pH на различных сорбентах

Показано, что на карбоксильных катионитах максимальная емкость сорбции ферментов наблюдается при значениях pH, близких к их изоэлектрическим точкам (pI).Для кислой протеазы pI ≈ 3.5, для α – амилазы ≈ 4.5. Молекулы ферментов находятся в малодиссоциированном состоянии, что позволяет им хорошо сорбироваться на зерне. При этом, после достижения изоэлектрической точки емкость сорбции постепенно уменьшается.

Из графиков видно, что для проведения процесса сорбции комплекса ферментов оптимальным является pH ≈ 4.0, поскольку при данных условиях получены высокие значения емкости сорбции катионитов, как по кислой протеазе, так и по α-амилазе.

Установлено, что оптимальной концентрацией сорбентов для эффективного проведения процесса сорбции является 2 мг/мл.

Далее планируется изучение равновесных и кинетических параметров процесса сорбции комплекса рассматриваемых ферментов и выбор оптимального сорбента.

Заключение

1) Отработана методика наработки культуральной жидкости рассматриваемого плесневого гриба *Asp. Oryzae*, определена ферментативная активность липазы, кислой протеазы, α-амилазы.

2) Определен компонентный состав нативного раствора методом элютивной гельхроматографии, установлены молекулярные массы соответствующих ферментов.

3) Подобраны оптимальные условия проведения процесса сорбции на различных сорбентах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адсорбционные и хроматографические свойства полимерных сорбентов типа «Стиросорб» / Л. Д. Белякова [и др.] // ЖФХ. 1995. Т.69. N4. С. 696-700.

2. Полянский Н.Г., Горбунов Г.В., Полянская Н.Л. Методы исследования ионитов. М.: Химия, 1976. 208 с.

3. ГОСТ 20298-74. Смолы ионообменные. Катиониты. Технические условия. – Взамен ГОСТ 13505-68, ГОСТ 5.1428-72. Введ. С 01.01.76. по 01.01.96. Государственный Комитет стандартов Совета Министров СССР от 21.11.74.

4. Морозова К.А. Разработка биотехнологии препаратов кислых протеаз на основе высокоактивного мутантного штамма Aspergillus oryzae 107 для использования в производстве спирта: автореферат на соискание ученой степени кандидата технических наук (05.18.07). Москва, 2006.

5. Березин И.В. Инженерная энзимология. Биотехнология. М.: Изд-во ЁЁ Медиа, 2012. – 143 с.

SUMMARY

THE DEVELOPMENT OF SORPTION-CHROMATOGRAPHIC METHOD FOR ENZYME COMPLEX ISOLATION (A-AMYLASE, ACID PROTEASE, LYPASE) FROM ASPERGILLUS ORYZAE NATIVE SOLUTION

Golovina L.A., 4th year student

Academic advise: **Kotova N.V.**, Ph.D (chemistry), associate prof., department of biotechnology,

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation

E-mail: lidiya.golovina@spcpu.ru

This paper considers the possibility of enzyme complex isolation (α-amylase, acid protease, lypase) from the native solution of mold fungus Aspergillus oryzae using sorption-chromatographic method. It is established, that the obtained native solution has a dissimilar protein composition; also enzymes molecular mass are discovered as the result of elution gel-chromotography.

Keywords: *Aspergillus oryzae, lypase, acid protease, a-amylase, sorption, gel-chromotography.*

REFERENCES

1. Adsorption and chromatographic properties of polymer sorbents of the «Stirosorb» type / Belyakova L. D [et al.] // ZhFKh. 1995. Vol. 69(4). P. 696-700. (in Russian)

2. Polyanskii N.G., Gorbunov G.V., Polyanskaya N.L. Ionites research methods. M.: Chemistry, 1976. 208 p. (in Russian)

3. GOST 20298-74. Ion-exchange resins. Cationites. Technical conditions. – Instead of GOST 13505-68. GOST 5.1428-72. Scince. 01.01.76. till 01.01.96. Gosudarstvennyi Komitet standartov Soveta Ministrov SSSR from 21.11.74. (in Russian)

4. Morozova K.A. Development of biotechnology of acid protease preparations based on a highly active mutant strain of Aspergillus oryzae 107 for use in alcohol production: abstract for the degree of Candidate of Technical Sciences (05.18.07). Moscow, 2006. (in Russian)

5. Berezin I.V. Engineering enzymology. Biotechnology. M.: Izd-vo EE Media, 2012. 143 p. (in Russian)

УДК 61:615.1

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ РНК-ВАКЦИН

Кокшарова Е.Д., магистр 1 года обучения
Руководитель: **Полякова И.Н.,** кандидат хим.наук, доц. НОЦ Иммунобиотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А, Российская Федерация
E-mail: koksharova.elizaveta@spcpu.ru

Проведено исследование научных материалов по вопросам современного состояния и перспектив развития РНК-вакцин и мРНК-вакцин. Рассмотрены преимущества данных вакцин по сравнению с обычными вакцинами, которые могут быть использованы для предотвращения инфекционных заболеваний и для лечения опухолей. Развитие РНК-вакцин положительно скажется на людях, имеющих аллергию на куриный белок. мРНК-вакцины обеспечивают более безопасный и длительный иммунный ответ как у биологических моделей, так и у людей, а так же повышают величину памяти ответа иммунных клеток, включая память В- и Т-клеточных ответов.

Ключевые слова: *вакцина, РНК-вакцина, мРНК, преимущества РНК-вакцин, белки, бесклеточные вакцины.*

РНК-вакцина, вакцина на основе рибонуклеиновой кислоты – вакцина, действующая часть которой-рибонуклеиновая кислота (обычно матричная, мРНК), кодирующая белок, характерный для патогена. Помимо собственно РНК, в вакцине присутствует липидная оболочка, защищающая РНК от разрушения, и обеспечивающая проникновение РНК в клетку[1].

Когда вакцинная РНК попадает в клетку, клеточные механизмы синтеза белков продуцируют закодированный в РНК белок. Этот белок действует как антиген: его обнаруживает иммунная система организма и обучается на этом белке – в организме формируется иммунитет. В дальнейшем, при попадании в организм патогена, иммунная система опознаёт его по уже известному белку и уничтожает инфекцию, не давая развиться заболеванию[1].

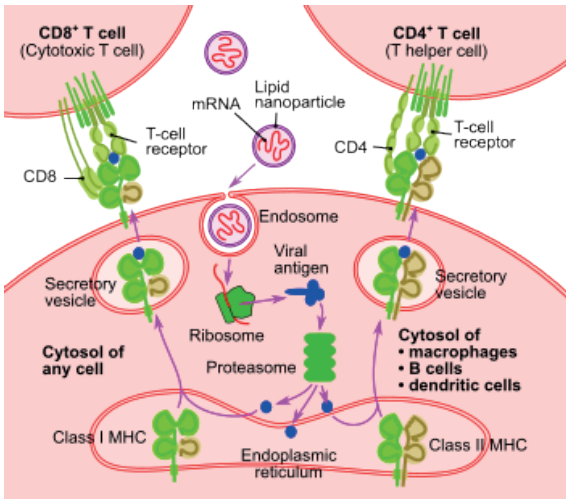


Рисунок 1. Схема механизма РНК-вакцины

РНК-вакцины могут быть разработаны против всех белковых антигенов, поскольку после вакцинации РНК-вакциной во время трансляции из матрицы РНК образуется белок.

Белки могут происходить, например, из вирусов, бактерий или опухолей (опухолевый антиген). Использование РНК-вакцин для иммунизации против вирусных инфекционных заболеваний означает, что в организм больше не вводятся репродуктивные патогены или их фрагменты, как в случае мертвых вакцин, а только мРНК антигенов с вспомогательным веществом, которое вводит РНК в клетки (реагент для трансфекции). Если трансфицированныемРНК клетки временно представляют этот компонент вируса, с которым необходимо бороться, иммунная защита вакцинированного человека учится расщеплять антиген и, в случае реальной инфекции, защищать его от естественного патогена. Результат: хозяин (человек или животное) приобретает иммунитет[2].

Чтобы создать мРНК-вакцину против вируса, не нужен сам вирус, достаточно иметь его секвенированный и расшифрованный геном. Вакцинная мРНК создаётся на основе короткой генетической последовательности из генома вируса, которая кодирует белок вируса (обычно поверхностный, с помощью которого вирус проникает в клетку). Синтезированная мРНК помещается в липидную наночастицу, которая доставляет вакцинную мРНК внутрь клетки. Внутри клетки мРНК взаимодействует с генетическим механизмом клетки, и он синтезирует закодированный в ней вирусный белок. Затем этот белок выходит на поверхность клетки, и иммунная система организма начинает на него реагировать, в процессе этой реакции вырабатывается иммунный ответ на вирусный белок[2].

На 2018 год созданы три типа РНК-вакцин, все на основе матричной РНК:

1. НереплицирующаясямРНК-вакцина
2. Самореплицирующаяся мРНК-вакцина

3. Дендритно-клеточная нереплицирующаясямРНК-вакцина

В таблице 1 приведены преимущества и недостатки вирусных, ДНК и РНК вакцин.

Таблица 1 – Преимущества и недостатки вирусных вакцин, ДНК- и РНК-вакцин

Вакцина	Преимущества	Недостатки
Вирусные вакцины	Стимуляция врожденного иммунитета; индукция Т- и В- клеточного иммунного ответа	Индукция антивекторного иммунитета: клеточного производство
ДНК вакцины	Неинфекционные; стимуляция врожденного иммунного ответа; внеклеточные и без куриных эмбрионов; устойчивые, быстрые и масштабируемые; индукция Т- и В- клеточного иммунного ответа	Потенциальная интеграция в геном человека; плохая иммуногенность у человека
РНК вакцины	Неинфекционные, неинтегрирующие, натуральная деградация, внеклеточные и без куриных эмбрионов; устойчивые, быстрые и масштабируемые; стимуляция врожденного иммунитета; индукция Т- и В- клеточного иммунного ответа	Возможная нестабильность и низкая иммуногенность

В настоящее время для создания РНК-вакцин применяются два основных подхода:

1) использование нереплицирующейсямРНК, кодирующей, как правило, только один антиген;

2) получение самоамплифицирующегося РНК-репликона из одноцепочечных (+/–) РНК вирусов, в геноме которых структурные гены заменены на гены, кодирующие необходимые антигены и РНК-полимеразу [1, 4, 5].

Вакцины на основе мРНК получают путем транскрипции invitro из линейной ДНК-матрицы, в качестве которой выступает плазмида, с использованием различных РНК-полимераз бактериофагов. Синтезированная мРНК помимо кодирующей последовательности должна содержать кэп-структуру на 5'-конце, UTR и полиаденилирование на 3'-конце (рис. 2), необходимые для эффективной трансляции, защиты мРНК от экзонуклеаз и правильного сплайсингатранскрипта.

Существуют два основных подхода к добавлению кэп-структуры на 5'-конец мРНК. Первый основан на использовании ферментов вируса коровьей оспы, один из которых добавляет m7GpppN, а второй – 2-О-метильную группу к предпоследнему нуклеотиду, в результате формируется 5'-кэп, идентичный по структуре эукариотическиммРНК. Второй, наиболее часто используемый подход, заключается во включении синтетических аналогов (например, антиреверсныеARCAs или m27,3'-OGpppG) при транскрипции invitro [6–9].

Добавление UTR, содержащих различные регуляторные элементы, используется для повышения эффективности трансляции и повышения стабильности мРНК. Например, введение 3'-UTR гена α-глобина или 5'-, 3'-UTR гена β-глобина стабилизирует мРНК [6, 8, 10].

В случаях необходимости быстрой деградациимРНК в 3'-UTR могут включаться элементы, богатые аденин-урацил последовательностями [11]. Поли(А)-хвост может быть сконструирован путем введения последовательностей тимина в ДНК, что является более предпочтительным подходом, так как использование рекомбинантной поли(А)-полимеразы для удлинения транскрибированной РНК invitro после транскрипции часто приводит к образованию поли(А)-хвостов различной длины.

Еще одним способом «улучшить» свойства мРНК-вакцин является использование химически модифицированных нуклеотидов. Например, включение модифицированного псевдоуридина повышает стабильность и трансляцию РНК, также включение химически модифицированных нуклеотидов приводит к снижению иммуногенности векторов [10].

мРНК-вакцины против инфекционных заболеваний могут быть профилактическими и терапевтическими. На протяжении последних двух десятилетий широко исследовались мРНК-вакцины для профилактики инфекционных заболеваний, а также для профилактики и лечения рака [2, 3]. Были созданы мРНК-вакцины от рака, предназначенные для экспрессии опухоль-ассоциированных антигенов, которые стимулируют клеточно-опосредованный иммунный ответ с целью уничтожения или подавления раковых клеток [9]. Большинство изученных вакцин от рака являются в большей степени терапевтическими, чем профилактическими. мРНК-вакцины, экспрессирующие антиген инфекционного патогена, вызывают сильный Т-клеточный и гуморальный иммунный ответ [1, 2]. Как описано выше, процесс производства мРНК-вакцин полностью внеклеточный, простой и быстрый по сравнению с получением целых микробных, живых аттенуированных или субъединичных вакцин. Этот быстрый и простой процесс производства делает мРНК многообещающим биопродуктом, который может удовлетворить потребность в вакцинах против новыхинфекционных заболеваний. Производство РНК в широком масштабе, удовлетворяющим нужды промышленного производства, – это первый шаг к созданию мРНК-вакцин. В настоящее время все компоненты, необходимые для производства мРНК, доступны, и их качество соответствует стандартам GMP; однако некоторые компоненты поставляются в ограниченном количестве.

В мире было проведено несколько проектов по мРНК-вакцинам против инфекционных заболеваний, хотя клиническая оценка все еще остается ограниченной. Например, несколько платформ для вакцин на основе РНК были использованы для разработки вакцин против гриппа. Некоторые опубликованные результаты показали, что вакцины против гриппа на основе РНК вызывают широкий защитный иммунный ответ не только против гомологичных, но и против гетеро-субтипических вирусов гриппа [19-23]. мРНК-вакцины против гриппа дают большие надежды, поскольку они сделаны на платформе без использования куриных эмбрионов, и лидируют по производству антигена в клетках млекопитающих. Недавно опубликованные результаты исследований американских ученых демонстрируют, что потеря

центра гликозилирования из-за мутации в гемагглютинине (HA) адаптированной к куриному эмбриону штамму вакцины против H3N2 приводило к слабой нейтрализации циркулирующих варусов H3N2 у вакцинированных людей и хорьков. Напротив, процесс производства мРНК-вакцины осуществляется без использования куриных эмбрионов, и кодируемые мРНК белки имеют нужную структуру и гликозилированы в клетках хозяина после вакцинации, что, таким образом, устраняет риск производства неправильных антигенов [23].

мРНК также используется в ветеринарии для профилактики инфекционных заболеваний у животных. Pulido и соавт. показали, что иммунизация при помощи транскрибированной invitromРНК обеспечивала у мышей защиту против энтеровирусного везикулярного стоматита [16]. Saxena и соавт. продемонстрировали, что самоамплифицирующаясямРНК-вакцина, кодирующая гликопротеин вируса бешенства, вызвала иммунный ответ и обеспечила защиту у мышей, и потенциально может использоваться для профилактики бешенства у собак [17]. VanBlargan и соавт. разработали инкапсулированную в липидные наночастицы (ЛНЧ) модифицированную мРНК-вакцину, кодирующую гены prM и E вируса Повассан (POWV). Эта мРНК-вакцина вызывала сильный гуморальный иммунный ответ не только против штаммов POWV, но и против эволюционно далекого вируса Лангат [18]. Как описано ранее, модификация нуклеозидов и оптимизация кодонов может помочь избежать распознавания естественными иммунными сенсорами и улучшить эффективность трансляции. На рисунке 2 приведены данные исследований, проведенные на мРНК-вакцинах против инфекционных заболеваний, полученных с использованием модифицированных и не модифицированных нуклеозидов [14, 16, 19-23].

Цели	Введение	Состав	Иммунный ответ	Животные модели	Ссылки
prM-E, вирус Зика	в/к	мРНК-ЛНЧ	Гуморальный	Мыши и приматы	Pardi et al. (74)
HA, вирус гриппа	в/к	Комплекс с протамином	Гуморальный и клеточный	Мыши, хорьки, свиньи	Petsch et al. (76)
prM-E, вирус Зика	в/м	ЛНЧ	Гуморальный	Мыши	Richner et al. (75)
GP, вирус бешенства	в/к	Комплекс с протамином	Гуморальный и клеточный	Мыши и свиньи	Schnee et al. (77)
GP, вирус бешенства	в/к	Комплекс с протамином	Гуморальный	Мыши	Stitz et al. (58)
GP, вирус бешенства	в/м	ЛНЧ	Гуморальный	Морские свинки	Meyer et al. (52)
NP, вирус гриппа	п/к	Захват липосомами	Гуморальный и клеточный	Мыши	Martinon et al. (72)
Gag, ВИЧ	п/к	Самособранные катионные наномицеллы	Гуморальный	Мыши	Zhao et al. (73)
Gag, ВИЧ	в/к	ЛНЧ	Гуморальный и клеточный	Мыши	Pardi et al. (74)
IgG, ВИЧ	в/в	ЛНЧ	Гуморальный	Гуманизированные мыши	Pardi et al. (78)
prM-e, вирус Повассан	в/м	ЛНЧ	Гуморальный	Мыши	VanBlargan et al. (71)

prM-E - премембранные и оболочечные белки; HA - гемагглютинин; GP - гликопротеин; NP - нуклеокапсидный белок; Gag - группоспецифический антиген; в/к - внутрикожно; в/м - внутримышечно; п/к - подкожно; в/в - внутривенно; ЛНЧ - липидные наночастицы.

Рисунок 2. Нуклеозид-модифицированные или немодифицированныемРНК-вакцины против инфекционных заболеваний

Кроме использования в качестве вакцины, мРНК может применяться в терапевтических целях.

Множество публикаций показали, что вакцины на основе мРНК представляют собой многообещающую платформу, которая является гибкой, масштабируемой, недорогой и не нуждающейся в холодовой цепи. Что еще более важно, вакцины на основе мРНК могут удовлетворить потребность в эффективных вакцинах против новых инфекционных заболеваний. В рамках множества доклинических и клинических проектов были достигнуты большие успехи в направлении возможного применения мРНК-вакцин, и было сделано предположение, что профилактика и терапия на основе мРНК может применяться и у человека. Несмотря на то, что при медицинском применении величина ответа была меньше, чем предсказывалось по животным моделям, результаты пилотных клинических испытаний показали хорошую переносимость и то, что мРНК-вакцинация может вызывать антиген-специфичный Т- и В-клеточный иммунный ответ [15, 16]. Поэтому мРНК все также подает большие надежды, но для полноценной разработки мРНК-вакцин необходимо дальнейшее изучение механизма действия и возможностей. Для создания применимых мРНК-вакцин и уменьшения дозы необходим поиск новых стратегий. Как сказано выше, молекулярный механизм естественного иммунного ответа, стимулированного мРНК через PAMP-распознавание, остается неясным. Сделаны большие усилия в направлении улучшения стабильности и эффективности мРНК-вакцины доставки invivo, включая введение 5'- и 3'-конечных нетранслируемых областей и химически модифицированных нуклеозидов [17-19].

Заключение

В ходе исследованного материала установлено, что мРНК-вакцины имеют огромный потенциал и предполагают преимущества по сравнению с обычными вакцинами. Растущий массив доклинических и клинических результатов показывает, что профилактика и терапия с использованием мРНК может быть полезной для предотвращения инфекционных заболеваний и для лечения опухолей, а также то, что мРНК-вакцины безопасны и переносимы животными и человеком. Кроме того, будущие усовершенствования должны повысить антиген-специфичный иммунный ответ и величину памяти ответа иммунных клеток, включая память В- и Т-клеточных ответов. Хотя технология мРНК-вакцин не очень широко испытывается на людях, в последнее время появились публикации о доклинических и ранних клинических испытаниях, в которых сообщается о перспективных результатах. Это побудило биокомпании заняться коммерческой разработкой мРНК-вакцин [22, 23]. Несколько частных фондов и организаций поддержали исследование и разработку мРНК-вакцин [21, 22]. Несмотря на необходимость дальнейшей оптимизации процесса производства мРНК-вакцин, эти

процессы будут упрощены с тем, чтобы начать крупномасштабное производство. Применение мРНК-вакцин у человека и животных – всего лишь вопрос времени.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.03.00 Медико-биологические дисциплины
76.03.02 Общие проблемы

ЛИТЕРАТУРА

1. Nucleoside-modified mRNA immunization elicits influenza virus hemagglutinin stalk-specific antibodies / N. Pardi [et al.] // Nat Commun. 2018. N 9. P. 3361. doi: 10.1038/s41467-018-05482-0

2. mRNA vaccines – a new era in vaccinology / N. Pardi [et al.] // Nat Rev Drug Discov. 2018 N 17. P. 261–79. doi: 10.1038/nrd.2017.243

3. mRNA Cancer Vaccines / K. Fiedler [et al.] // Recent Results Cancer Res. 2016. N 209. P. 61–85. doi: 10.1007/978-3-319-42934-2_5

4. A cationic nanoemulsion for the delivery of next-generation RNA vaccines / L.A. Brito [et al.] // MolTher. 2014. N 22. P. 2118–29. doi: 10.1038/mt.2014.133

5.. Nucleic acid vaccines: prospects for non-viral delivery of mRNA vaccines / R.P. Deering [et al.] // Expert Opin Drug Deliv. 2014. N 11. P. 885–99. doi: 10.1517/17425247.2014.901308

6. Lundstrom K. Replicon RNA viral vectors as vaccines / Vaccines. 2016. N 4. P. E39. doi: 10.3390/vaccines4040039

7. Ljungberg KP. Liljestrom. Self-replicating alphavirus RNA vaccines // Expert Rev Vaccines. 2015. N 14. P. 177–94. doi: 10.1586/14760584.2015.965690

8. Kunjin virus replicon vaccine vectors induce protective CD8+ T-cell immunity / I. Anraku [et al.] // J Virol. 2002. N 76. P. 3791–9. doi: 10.1128/JVI.76.8.3791-3799.2002 (10)

9. A Sindbis virus mRNA polynucleotide vector achieves prolonged and high level heterologous gene expression in vivo / F.W. Johanning [et al.] // Nucleic Acids Res. 1995. N 23. P.1495–501. (11)

10. Modified mRNA-based vaccines elicit robust immune responses and protect guinea pigs from ebola virus disease / M. Meyer [et al.] // J Infect Dis. 2018. N 217. P. 451–55. doi: 10.1093/infdis/jix592

11. Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial / M. Alberer [et al.] // Lancet. 2017. N 390. P. 1511–20. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31665-3

12. A thermostable messenger RNA based vaccine against rabies / L. Stitz [et al.] // PLoSNegl Trop Dis. 2017. N 11. P. e0006108. doi: 10.1371/journal.pntd.0006108

13. Self-replicative RNA vaccines elicit protection against influenza A virus, respiratory syncytial virus, and a tickborne encephalitis virus / M.N. Fleeton [et al.] // J Infect Dis. 2001. N 183. P. 1395–8. doi: 10.1086/319857

14. Scorza F.B., Pardi N. New kids on the block: RNA-based influenza virus vaccines // Vaccines. 2018. N 6. P. E20. doi: 10.3390/vaccines6020020

15. Contemporary H3N2 influenza viruses have a glycosylation site that alters binding of antibodies elicited by egg-adapted vaccine strains / S.J. Zost [et al.] // ProcNatlAcadSci USA. 2017. N 114. P. 12578–83. doi: 10.1073/pnas.1712377114

16. A structural explanation for the low effectiveness of the seasonal influenza H3N2 vaccine / N.C. Wu // PLoSPathog. 2017. N 13. P. e1006682. doi: 10.1371/journal.ppat.1006682

17. RNA immunization can protect mice against foot-and-mouth disease virus / M.R. Pulido[et al.] // Antiviral Res. 2010. N 85. P. 556–8. doi: 10.1016/j.antiviral.2009.12.005

18. Induction of immune responses and protection in mice against rabies using a self-replicating RNA vaccine encoding rabies virus glycoprotein / S. Saxena [et al.] // Vet Microbiol. 2009. N 136. P. 36–44. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.10.030

19. An mRNA Vaccine protects mice against multiple tick-transmitted flavivirus infections / L.A. VanBlargan [et al.] // Cell Rep. 2018. N 25. P.3382–3392 e3. doi: 10.1016/j.celrep.2018.11.082

20. Induction of virus-specific cytotoxic T lymphocytes in vivo by liposome-entrapped mRNA / F. Martinon [et al.] // Eur J Immunol. 1993. N 23. P. 1719–22. doi: 10.1002/eji.1830230749 (29)

21. Nucleoside-modified mRNA vaccines induce potent T follicular helper and germinal center B cell responses / N. Pardi [et al.] // J Exp Med. 2018. Vol. 215. P. 1571–88. doi: 10.1084/jem.20171450

22. Preclinical and Clinical Demonstration of Immunogenicity by mRNA Vaccines against H10N8 and H7N9 Influenza Viruses / K. Bahl [et al.] // MolTher. 2017. N 25. P. 1316–27. doi: 10.1016/j.ymthe.2017.03.035

23. Lundstrom K. Latest development on RNA-based drugs and vaccines // Future Sci OA. 2018. N 4. P. FSO300. doi: 10.4155/fsoa-2017-0151

SUMMARY

CURRENT STATE AND PROSPECTS FOR THE DEVELOPMENT OF RNA VACCINES

Koksharova E.D., Master of the 1st year of study
Head: **Polyakova I.N.,** Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor of REC
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
197022, St. Petersburg, st. Professor Popov, 14, lit. A, Russian Federation
E-mail: koksharova.elizaveta@spcpu.ru

A study of scientific materials on the current state and prospects for the development of RNA vaccines was carried out. The development of RNA vaccines will have a positive impact on people who are allergic to chicken proteins. mRNA vaccines provide a safer and longer lasting immune response in both biological models and humans.

Keywords: *vaccine, RNA vaccine, mRNA, benefits of RNA vaccines, proteins, cell-free vaccines.*

REFERENCES

1. Nucleoside-modified mRNA immunization elicits influenza virus hemagglutinin stalk-specific antibodies / N. Pardi [et al.] // Nat Commun. 2018. N 9. P. 3361. doi: 10.1038/s41467-018-05482-0

2. mRNA vaccines – a new era in vaccinology / N. Pardi [et al.] // Nat Rev Drug Discov. 2018 N 17. P. 261–79. doi: 10.1038/nrd.2017.243

3. mRNA Cancer Vaccines / K. Fiedler [et al.] // Recent Results Cancer Res. 2016. N 209. P. 61–85. doi: 10.1007/978-3-319-42934-2_5

4. A cationic nanoemulsion for the delivery of next-generation RNA vaccines / L.A. Brito [et al.] // MolTher. 2014. N 22. P. 2118–29. doi: 10.1038/mt.2014.133

5.. Nucleic acid vaccines: prospects for non-viral delivery of mRNA vaccines / R.P. Deering [et al.] // Expert Opin Drug Deliv. 2014. N 11. P. 885–99. doi: 10.1517/17425247.2014.901308

6. Lundstrom K. Replicon RNA viral vectors as vaccines / Vaccines. 2016. N 4. P. E39. doi: 10.3390/vaccines4040039

7. Ljungberg KP. Liljestrom. Self-replicating alphavirus RNA vaccines // Expert Rev Vaccines. 2015. N 14. P. 177–94. doi: 10.1586/14760584.2015.965690

8. Kunjin virus replicon vaccine vectors induce protective CD8+ T-cell immunity / I. Anraku [et al.] // J Virol. 2002. N 76. P. 3791–9. doi: 10.1128/JVI.76.8.3791-3799.2002 (10)

9. A Sindbis virus mRNA polynucleotide vector achieves prolonged and high level heterologous gene expression in vivo / F.W. Johanning [et al.] // Nucleic Acids Res. 1995. N 23. P.1495–501. (11)

10. Modified mRNA-based vaccines elicit robust immune responses and protect guinea pigs from ebola virus disease / M. Meyer [et al.] // J Infect Dis. 2018. N 217. P. 451–55. doi: 10.1093/infdis/jix592

11. Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial / M. Alberer [et al.] // Lancet. 2017. N 390. P. 1511–20. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31665-3

12. A thermostable messenger RNA based vaccine against rabies / L. Stitz [et al.] // PLoSNegl Trop Dis. 2017. N 11. P. e0006108. doi: 10.1371/journal.pntd.0006108

13. Self-replicative RNA vaccines elicit protection against influenza A virus, respiratory syncytial virus, and a tickborne encephalitis virus / M.N. Fleeton [et al.] // J Infect Dis. 2001. N 183. P. 1395–8. doi: 10.1086/319857

14. Scorza F.B., Pardi N. New kids on the block: RNA-based influenza virus vaccines // Vaccines. 2018. N 6. P. E20. doi: 10.3390/vaccines6020020

15. Contemporary H3N2 influenza viruses have a glycosylation site that alters binding of antibodies elicited by egg-adapted vaccine strains / S.J. Zost [et al.] // ProcNatlAcadSci USA. 2017. N 114. P. 12578–83. doi: 10.1073/pnas.1712377114

16. A structural explanation for the low effectiveness of the seasonal influenza H3N2 vaccine / N.C. Wu // PLoSPathog. 2017. N 13. P. e1006682. doi: 10.1371/journal.ppat.1006682

17. RNA immunization can protect mice against foot-and-mouth disease virus / M.R. Pulido[et al.] // Antiviral Res. 2010. N 85. P. 556–8. doi: 10.1016/j.antiviral.2009.12.005

18. Induction of immune responses and protection in mice against rabies using a self-replicating RNA vaccine encoding rabies virus glycoprotein / S. Saxena [et al.] // Vet Microbiol. 2009. N 136. P. 36–44. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.10.030

19. An mRNA Vaccine protects mice against multiple tick-transmitted flavivirus infections / L.A. VanBlargan [et al.] // Cell Rep. 2018. N 25. P.3382–3392 e3. doi: 10.1016/j.celrep.2018.11.082

20. Induction of virus-specific cytotoxic T lymphocytes in vivo by liposome-entrapped mRNA / F. Martinon [et al.] // Eur J Immunol. 1993. N 23. P. 1719–22. doi: 10.1002/eji.1830230749 (29)

21. Nucleoside-modified mRNA vaccines induce potent T follicular helper and germinal center B cell responses / N. Pardi [et al.] // J Exp Med. 2018. Vol. 215. P. 1571–88. doi: 10.1084/jem.20171450

22. Preclinical and Clinical Demonstration of Immunogenicity by mRNA Vaccines against H10N8 and H7N9 Influenza Viruses / K. Bahl [et al.] // MolTher. 2017. N 25. P. 1316–27. doi: 10.1016/j.ymthe.2017.03.035

23. Lundstrom K. Latest development on RNA-based drugs and vaccines // Future Sci OA. 2018. N 4. P. FSO300. doi: 10.4155/fsoa-2017-0151

УДК 57:579.6

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВАРИАНТОВ *STREPTOMYCES ROBEFUSEUS*

Крылова Е.А., студ. 4 курса
Руководитель: **Гурина С.В.**, кандидат биологических наук, доц. кафедры микробиологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: elizaveta.krylova@spcpu.ru

Проведен отбор наиболее активного вида стрептомицета – *Streptomyces robefuseus*, обладающего антагонистической активностью в отношении фитопатогенных грибов, из пяти видов, полученных из коллекции Всероссийского Научно-исследовательского Института Защиты Растений (ВИЗР). В результате поддерживающего отбора культуры *Streptomyces robefuseus с* целью повышения антагонистической активности были выделены варианты моноклонов *Streptomyces robefuseus*, проявляющие выраженную активность в отношении грибов и бактерий. Получены культуральная жидкость и нативный раствор исследуемого стрептомицета и изучена их противогрибковая и антибактериальная активности.

Ключевые слова: *актиномицеты, микроорганизмы, антагонистическая активность, стрептомицеты, фитопатогенные грибы, биотехнология, фунгицидная активность.*

Микроорганизмы-антагонисты или их вторичные метаболиты являются перспективной основой для получения биопестицидов – биологических средств защиты сельскохозяйственных растений от фитопатогенных микроорганизмов и насекомых-вредителей [1]. Биопестициды являются экологически безопасной заменой химических пестицидов, использование которых привело к развитию резистентности к ним фитопатогенных культур и ухудшению экологической обстановки. Спрос на биопестициды увеличивается, и требуются научные изыскания в этой сфере для разработки новых более эффективных препаратов для защиты растений на основе микроорганизмов [2]. Активными природными антагонистами являются высшие актинобактерии (актиномицеты) рода Streptomyces [3]. Они оказывают стимулирующее воздействие на рост сельскохозяйственных культур и подавляющее воздействие на фитопатогенные грибы, бактерии и насекомых [4]. Таким образом, культура Streptomyces robefuseusявляется перспективным объектом для исследования.

Цель работы: Исследование антагонистической активности актиномицетов рода *Streptomyces*.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1) Проведение сравнительного анализа антагонистической активности в отношении фитопатогенных грибов 5 видов рода *Streptomyces* и выбор наиболее активного вида

2) Проведение поддерживающего отбора выделенного вида *Streptomyces* и получение активных вариантов, которые обладают фунгицидной активностью;

3) Проверка активности культуральной жидкости и нативного раствора активного варианта в отношении грибов и бактерий.

Материалы и методы

Объектом исследования является культура Streptomyces robefuseus из Всероссийского института защиты растений. Культуру выращивали на агаризованной среде 19/6 при комнатной температуре (≈24°C), хранили при комнатной температуре или в холодильнике при 4°C.

Глубинное культивирование в лабораторных условиях проводили в колбах Эрленмейера вместимостью 750 мл, содержащих 125 мл ферментационной среды №5. Колбы, засеянные культурой, устанавливали на роторную качалку (220 об/мин) и инкубировали в течение 96 часов при температуре ≈28°C.

Для получения нативного раствора культуральную жидкость после ферментации профильтровали через шприцевую насадку с размером пор 0,22 μm в стерильную пробирку.

В качестве тест-культур использовали фитопатогенные грибы: *Fusarium reoldens, Sel. Scl., Alternaria solani, Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani, Spheropsis melorum, Fusarium culmorum, Fusarium graminearum.*

Антагонистическую активность стрептомицетов исследовали с использованием методов агаровых дисков, метода реплик (наложения петли с биоматериалом)и диффузии в агар.

Для получения дисков с культурой стрептомицета ее рассеивали на плотной питательной среде 19/6 в чашках Петри и инкубировали при температуре ≈28°C в течение 96 часов. В толще агара с помощью стандартного бура (диаметром 8 мм) вырезали диски агара с культурой актиномицета. Диски каждого вида актиномицета переносили на засеянную тест-культурой гриба чашку Петри со средой Чапека. Через 5 суток после начала процесса культивирования просматривали чашки и, измеряли зоны отсутствия роста грибов

Поддерживающий отбор проводили путём рассева исходной культуры на плотной среде 19/6 в чашках Петри с целью получения изолированных колоний (моноклонов). Далее отбирали 20 случайных моноклонов и отсевали на плотную среду 19/6 в пробирки. Каждый из 20 отсеянных вариантов были проверены на фунгицидную активность в отношении*Fusariumgraminearum, Fusariumculmorum, Alternariasolani, Fusariumoxysporum*методом реплик (наложением петли с

биоматериалом).Полученные варианты пронумеровали и переносили с помощью микробиологической петли на засеянную тест-культурой гриба чашку Петри со средой Чапека. Через 5 суток после начала процесса культивирования просматривали чашки и оценивали активность исследуемых изолятов. Варианты, образующие зоны задержки тест-гриба отбирались для следующего этапа поддерживающего отбора.

Определение антагонистической активности культуральной жидкости и нативного раствора проводили методом диффузии в агар без предварительных разведений. Тест-микроорганизмы, использованные в опыте: грибы *Alternaria solani, Fusarium oxysporum, Fusarium graminearum, дрожжи Candida albicans и бактерии Bacillus subtilis uStaphylococcus aureus.*Чашки Петри с агаризованной средой Чапека для грибов и мясо-пептонным агаром для бактерий засевали взвесью тест-культур грибов и бактерий. В толще агарас помощью стандартного бура (диаметром 8 мм) детали лунки и пипеткой вносили культуральную жидкость или нативный раствор. Чашки с культурами бактерийи дрожжей помещали в термостат и инкубировали при температуре 37°С, чашки с культурами грибов инкубировали при комнатной температуре (≈24°С). Через 3-5 суток замеряли диаметры зон задержки роста тест-микроорганизмов.

Результаты и обсуждение

Проведен скрининг антагонистической активности 5 видов рода Streptomyces в отношении 8 культур фитопатогенных грибов с использованием метода дисков (рис. 1).

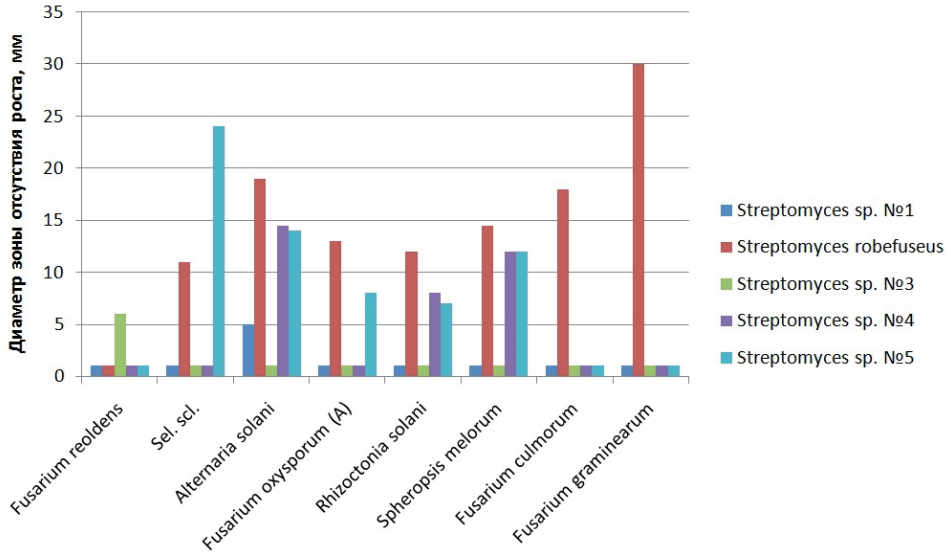


Рисунок 1. Сравнительная характеристика антагонистической активности видов актиномицетов

В результате выбран наиболее активный вид *Streptomyces robefuseus.* Данный актиномицет проявил наибольшую фунгицидную активность в отношении *Alternaria solani (19 мм), Fusarium oxysporum (13 мм), Rhizoctonia solani (12 мм), Spheropsis melorum (14,5 мм), Fusarium culmorum (18 мм), Fusarium graminearum* (30 мм).

С целью получения вариантов, обладающих наибольшей фунгицидной активностью, был проведён поддерживающий отбор *Streptomyces robefuseus* путём рассева культуры на плотной питательной среде 19/6 в чашках Петри. После культивирования отсеяли 20 случайных моноклонов на плотную среду 19/6 в пробирки. Каждый из моноклонов был проверен на фунгицидную активность в отношении культур грибов *(Fusarium graminearum, Fusarium culmorum, Alternaria solani, Fusarium oxysporum)* методом наложения петли (табл. 1).

Антагонистическая активность выделенных моноклонов была различной и зависела от чувствительности (устойчивости) тест-культур грибов. Было установлено, что не все виды грибов восприимчивы к действию исследуемых вариантов стрептомицета. Многие варианты не проявили антагонистической активности в отношении *Alternaria solani, Fusarium oxysporum,* наблюдали сплошной рост грибов. Наиболее восприимчивой к действию изолятов оказалась культура *Fusarium graminearum*, у которой наблюдали наибольшее количество зон задержки роста.

Таким образом, более устойчивыми оказались *Alternaria solani, Fusarium oxysporum*, более чувствительными – *Fusarium graminearum* и *Fusarium culmorum*. Наибольшее количество зон задержки роста наблюдали у *Fusarium graminearum.* Некоторые варианты стрептомицета вызывали подавление образования воздушного мицелия гриба *Fusarium culmorum.*

Таблица 1 – Скрининг антагонистической активности вариантов *Streptomyces robefuseus* в отношении фитопатогенных грибов

№ варианта	*Alternaria solani*	*Fusarium culmorum*	*Fusarium graminearum*	*Fusarium oxysporum*
	Диаметр зоны задержки роста, мм			
I	II	III	IV	V
1	сплошной рост	подавлен рост воздушного мицелия	8	сплошной рост
2	6	10	18	сплошной рост
3	сплошной рост	подавлен рост воздушного мицелия	сплошной рост	сплошной рост
4	13	подавлен рост воздушного мицелия	сплошной рост	сплошной рост
5	сплошной рост	6	12	сплошной рост
6	сплошной рост	10	19	12
7	сплошной рост	3	сплошной рост	сплошной рост
8	10	6	17	4
9	сплошной рост	10	19	сплошной рост
10	4	5	12	сплошной рост
11	сплошной рост	подавлен рост воздушного мицелия	16	14
12	сплошной рост	подавлен рост воздушного мицелия	12	сплошной рост
13	сплошной рост	10	8	сплошной рост
14	сплошной рост	7	4	11
15	сплошной рост	подавлен рост воздушного мицелия	сплошной рост	сплошной рост
16	сплошной рост	подавлен рост воздушного мицелия	сплошной рост	сплошной рост
17	4	подавлен рост в оздушного мицелия	21	15
18	сплошной рост	подавлен рост воздушного мицелия	13	сплошной рост
19	сплошной рост	4	18	10
20	сплошной рост	10	11	сплошной рост

В результате эксперимента были выбраны 2 моноклона, обладающие выраженной антагонистической активностью – культуры под номерами 8 и 17. Вариант 8 был наиболее активен, он подавлял рост *F. graminearum, F. oxysporum, Alt. solani* и *F. culmorum*. Вариант 17 подавлял рост всех грибов, а у *F. culmorum* подавлял только образование воздушного мицелия, поэтому был также выбран для дальнейших опытов.

На следующем этапе проводили исследование культуральной жидкости *Streptomyces robefuseus* в отношении некоторых видов бактерий и фитопатогенных грибов методом диффузии в агар. Тест-микроорганизмы, использованные в опыте: *Alternaria solani, Fusarium oxysporum, Fusarium graminearum, Candida albicans, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus.* Сравнительная характеристика антагонистической активности культуральной жидкости вариантов 8 и 17 эксперимента представлена на рисунке 2.

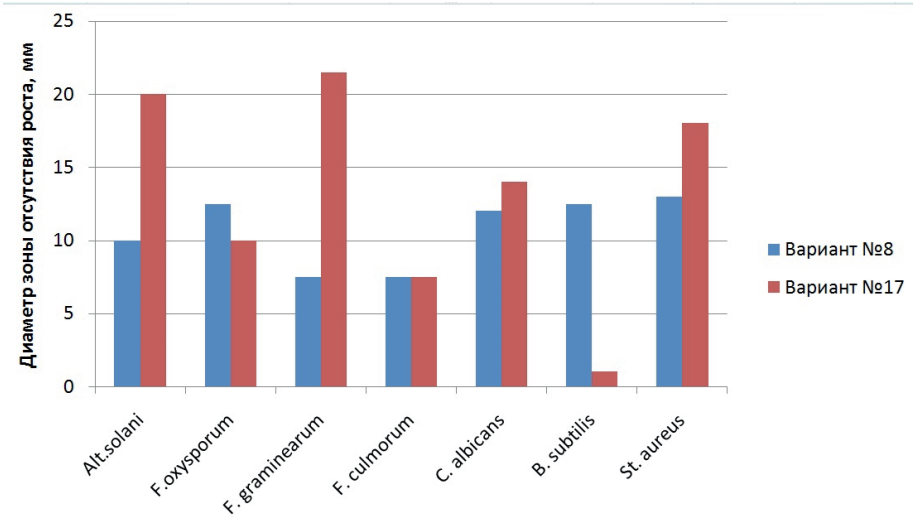


Рисунок 2. Сравнительная характеристика антагонистической активности культуральной жидкости активных вариантов *Streptomyces robefuseus*

Культуральная жидкость варианта 8 была стабильно активна в отношении всех тест-микроорганизмов, однако зоны отсутствия роста меньше, чем при действии культуральной жидкость варианта 17. Культуральная жидкость варианта 17 проявила сильное антагонистическое действие в отношении грибов и бактерий *Staphylococcus aureus*, но не *Bacillus subtilis.*

Антагонистической активности выделенного из культуральной жидкости нативного раствора не было обнаружено, наблюдали сплошной рост тест-культур бактерий и грибов, т.е. активности не обнаружено.

Заключение

Проведен поддерживающий отбор *Streptomyces robefuseus*, выделены активные варианты в отношении бактерий, дрожжей Candida albicans и фитопатогенных грибов. Полученные чистые культуры изолятов и их культуральная жидкость обладают более выраженным антагонистическим действием в сравнении с действием исходной культуры.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.09.39 Микроорганизмы-продуценты для биотехнологического производства
62.13.43 Биотехнологическое получение пестицидов
68.03.07 Сельскохозяйственная микробиология

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойкова И.В. Вторичные метаболиты актиномицетов – основа для создания новых инсектицидных биопрепаратов // Вестник защиты растений . 2016. Т. 3(89). С. 30-31

2. Франк Р.И., Кищенко В.И. Биопрепараты в современном земледелии // Защита и карантин растений. 2008. N 4. С. 30-32.

3. Systems biology and biotechnology of Streptomyces species for the production of secondary metabolites / K. Hwang [et al.]// Biotechnology Advanced. 2014. Vol. 32(2). P. 255-268. DOI:10.1016/j.biotechadv.2013.10.008

4. Белявская Л.А., Ефименко Т.А., Ефременко О.В. Идентификация и антагонистические свойства почвенного стрептомицета Streptomyces sp. 100 // Микробиологический журнал. 2016. Том 78. N2.

SUMMARY

RESEARCH OF THE ANTAGONISTIC ACTIVITY OF STREPTOMYCES ROBEFUSEUS VARIANTS

Krylova E.A., 4th year student
Advisor: **Gurina S.V.**, candidate of biological sciences, docent
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: elizaveta.krylova@spcpu.ru

The most active Streptomyces robefuseus species with antagonistic activity against phytopathogenic fungi was selected from five species obtained from the collection of the All-Russian Research Institute of Plant Protection (VIZR). As a result of supportive selection of Streptomyces robefuseus culture to increase antagonistic activity, variants of Streptomyces robefuseus monoclones exhibiting pronounced activity against fungi and bacteria were isolated. The culture liquid and native solution of the studied Streptomycetes were obtained and their antifungal and antibacterial activities were studied.

Keywords: *actinomycetes, microorganisms, antagonistic activity, streptomycetes, phytopathogenic fungi, biotechnology, fungicidal activity.*

REFERENCES

1. Boikova I.V. Secondary metabolites of actinomycetes – the basis for new insecticidal biopreparations // Plant Protection Bulletin. 2016. Vol. 3(89). P. 30-31. (In Russian)

2. Frank R.I., Kishchenko V.I. Biopreparations in modern agriculture // Plant protection and quarantine. 2008. N 4. P. 30-32. (In Russian)

3. Systems biology and biotechnology of Streptomyces species for the production of secondary metabolites / K. Hwang [et al.]// Biotechnology Advanced. 2014. Vol. 32(2). P. 255-268. DOI:10.1016/j.biotechadv.2013.10.008

4. Belyavskaya L.A., Efimenko T.A., Efremenko O.V. Identification and antagonistic properties of soil Streptomyces sp. 100 // Microbiological Journal. 2016. Vol. 78(2). (In Russian)

УДК 58.085:34.

БИОТЕХНОЛОГИЯ КУЛЬТУРЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ

Новик А.Д., асп. 3 года обучения (ORCID: 0000-0001-5071-7374),
Сабанов А.А., студ. 3 курса, **Попков Н.С.**, студ. 3 курса
Руководители: **Кириллова Н.В.**, докт. биол. наук, профессор кафедры биохимии
(ORCID: 0000-0003-3379-0646), **Повыдыш М.Н.**, докт. биол. наук, зав. кафедрой биохимии
(ORCID: 0000-0002-7768-9059, ResearcherID WoS: AAR-4392-2020),
Гончаров М.Ю., докт. биол. наук, доцент кафедры фармакогнозии
(ORCID: 0000-0002-9706-9850)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376 Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: alena.yushina@pharminnotech.com

В обзоре кратко изложены основные этапы становления и развития клеточных технологий растительных органов и тканей. Рассмотрены преимущества культивирования растительных клеток и тканей по сравнению с интактными растениями. Представлены данные литературы, которые обосновывают применение культур клеток и тканей растений, как весьма перспективный источник веществ растительного происхождения.

Ключевые слова: *культура тканей растений, клеточные технологии, модельные системы, биохимия и физиология растений, генно-инженерная биотехнология растений.*

Целью данной работы был обзор литературных данных по истории, современному состоянию, а также проблемам и перспективам использования культур растительных клеток, как для изучения биологии растений, так и применения в биотехнологии.

Метод культуры клеток, тканей и органов растений является составной частью биотехнологии растений. Клетки, ткани или органы высших растений, выращиваемые вне целого организма на искусственных питательных средах в стандартных, в строго контролируемых условиях, являются экспериментально созданной биологической системой. Эти экспериментально созданные биологические системы позволяют всесторонне исследовать рост, клеточную дифференцировку и развитие растительного организма, а также создавать принципиально новые клеточные технологии для промышленности, медицины, сельского хозяйства.

Для культивируемых *in vitro* растительных клеток характерны специфические генетические, эпигенетические и физиологические признаки. Культивируемые клетки растений являются экспериментально созданной биологической системой, которой присуще: изменчивость, наследуемость возникших изменений, адаптивный отбор и эволюция [1].

В настоящее время культивируемые растительные ткани и органы используются в качестве модели для изучения метаболизма и его регуляции в клетках и тканях целого растительного организма. Выращивание клеток вне организма вызывает в них появление целого ряда признаков, отличающих их от клеток интактного растения. Эти признаки, специально усиленные созданием биохимических мутантов, позволяют ученым вникать в интимные механизмы тех процессов, которые происходят в интактном растении. Кроме того, на основе культивируемых растительных тканей и органов были созданы промышленные технологии с целью получения экономически важных целевых продуктов [2-5].

Главными преимуществами культивируемых *in vitro* растительных клеток по сравнению с интактными растениями являются: изолированность от влияния различных факторов внешней среды, такие как климатические условия, географические и сезонные ограничения, повреждение вредителями и др.; уменьшение площади почвы, используемой под сельскохозяйственные культуры; четкость системы производства, выпускающей продукты в заданные сроки и в необходимых количествах для обеспечения рынка; более высокий выход и качество продукции (возможность быстрого получения достаточного количества, сравнительно однородной биомассы в асептических, контролируемых по многим параметрам условиях выращивания; возможность синхронизации процессов клеточного деления роста и дифференцировки; применение принципов непрерывного культивирования; возможность регулирования роста и метаболизма клеток; применение математических методов для анализа кинетики процессов и создание их математических моделей) [3, 5-7].

В связи с выше изложенным, культура клеток как источник веществ растительного происхождения привлекает особый интерес по двум основным характерным для нее особенностям: способностью образовывать клеточную биомассу, содержащую экономически важные продукты клеточного метаболизма при выращивании в аппаратуре, принятой в микробиологической промышленности; возможностью экспериментально реализовать информацию о программах развития и получать растение-регенеранты от индивидуальной культивируемой *in vitro* клетки [5-7]. Эти особенности культуры растительных тканей используется при работе с каллусными и суспензионными культурами и определяют возможности промышленного получения важных продуктов растительного происхождения, возможность создания принципиально новых продуктов, а также производство ценных продуктов растений с помощью биотрансформации из дешевых предшественников [1, 5, 7, 8-10].

Большая вариабельность генома культивируемых клеток, превосходящая видовую изменчивость исходных растений, позволяет рассматривать культивируемые клетки не только как альтернативное сырье для получения специфических (традиционных) продуктов, но и как системы, способные к синтезу новых химических структур. Кроме того, с

использованием культур растительных тканей и клеток, появилась возможность более корректного и полного анализа видовых свойств растений для решения ряда фундаментальных теоретических проблем, так как стандартные, строго контролируемые условия культивирования позволяют в полной мере выявить потенции изолированных клеток. Например, исследование обмена веществ растений на клеточном уровне, а также оценка изменения биохимических процессов в зависимости от различных внешних воздействий, действие которых на культуру не только значительно облегчено, но и имеется возможность их строгой дозировки; изучение жизнедеятельности, динамики и механизма роста растительного организма; исследование проблемы злокачественного роста, его закономерностей и борьбы с ним; с помощью реконструкции органов и целого растения из тканей и отдельных клеток можно осуществить принципиально новый подход в изучении биохимии морфогенеза и химически контролировать его осуществление. Генетический аспект такой реконструкции имеет практический выход, а именно, получение новых растительных форм для селекции [1, 5, 7, 10-12].

Огромный шаг вперед в биотехнологии растительных культур произошел благодаря глубоким исследованиям в области биохимии и физиологии выращиваемых *in vitro* клеток. Так, в 1970-1980-е годы значительно возросло число работ по исследованию первичного метаболизма в культивируемых *in vitro* клетках. Были изучены ферменты метаболизма азота [12], ферменты гликолитического и пентозофосфатного путей метаболизма глюкозы [13], крахмал- и лигнинсинтезирующие ферменты [14] и другие. Кроме того, были начаты исследования ферментов непосредственно участвующих в биосинтезе специфических для данной ткани вторичных метаболитов [15-16].

В результате проведенных работ выработалось два основных направления для получения клеточных штаммов растений с генетически детерминированной способностью к сверхпродукции специфического для данной ткани вторичного метаболита: выбор наиболее продуктивного растения, обладающего наибольшим содержанием нужного соединения и использование генетической вариабельности клеточных культур, например, дупликации гена или ввода новых синтетических последовательностей [5, 7, 17-19].

Конец прошлого столетия ознаменовался началом работ по генно-инженерной биотехнологии растений В настоящее время ведутся исследования по разработке методов генетической трансформации клеточных растительных органелл, в частности, хлоропластов Работы в области ядерной инженерии были направлены на модифицирование клеточных ядер при помощи как рекомбинантных или чужеродных белков, так и структурной модификации чужеродных генов, способных прочно связываться с ядерным матриксом [7, 17, 20]. Большие перспективы в области генно-инженерной биотехнологии растений связаны с возможностью создания и применения новых поколений емких векторов, с помощью которых будет возможно переносить «кассеты генов», несущих информацию о многостадийных метаболических путях [21-23].

Заключение

Таким образом, анализ литературы показывает, что за последние годы в прикладных областях биотехнологии клеток растений произошли значительные изменения: повышены выходы конечного целевого продукта, усовершенствовались методы отбора клеточных линий и их проверки, увеличились масштабы систем наращивания биомассы в новых типах ферментаторов, успешно применяются методы иммобилизации растительных клеток и т. п. Ключевыми областями требующими особого внимания при дальнейшей работе являются – биосинтетические процессы и способы их регуляции, изучение биохимических механизмов усиления синтеза продуктов вторичного метаболизма, улучшение способов выделения конечных продуктов, включая методы получения секретируемых клеток. Для дальнейшего прогресса в этой области исследователи должны располагать большей информацией о геноме растительной клетки. Поэтому работы, проводимые в последние десятилетия и связанные с полной расшифровкой последовательностей генома растений, будут иметь огромное значение как для фундаментальных наук (молекулярной генетике, клеточной биологии растений и т.д.), так и окажут большое влияние на дальнейшее развитие прикладных наук (биотехнологии растений, генной инженерии, сельском хозяйстве и т.п.) [24].

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

34.00.00 Биология
34.31.00 Физиология растений
34.31.33 Культура тканей и органов растений
62.00.00 Биотехнология
62.09.37 Растительное сырье
62.33.29 Культивирование растительных клеток и тканей

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенко Р.Г. Клеточные технологии для получения экономически важных веществ растительного происхождения // Культура клеток растений и биотехнология. М.: Наука. 1986. С. 3-20.

2. Teeri Teemi, Tormala Timo. Biotekniikka kasvinjalostuksessa ja kasvien lisayksessa // Luonnon. Futkija. 1990. V. 94. N 1-2. P. 43-49.

3. Лисков Д., Изворская Н. Состояние и дальнейшее развитие работы с культурами in vitro // Междунар. Агропром. Журн. 1990. N 2. С. 72-78.

4. Носов А.М. Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре клеток растений // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. М.: Наука. 1991. С. 5-20.

5. Носов А.М. Культура клеток высших растений – уникальная система, модель, инструмент // Физиол. Растений. 1999. Т. 46. N 6. С. 837-844.

6. Использование методов биотехнологии для оздоровления и интенсивного размножения розы эфиромаслячной / Ф.Ф. Жеребцов [и др.] // Тез. докл. обл. научн.-практ. конф. Симферополь. 1990. С. 99-100.

7. Бурьянов Я.И. Успехи и перспективы генно-инженерной биотехнологии растений // Физиол. растений. 1999. Т. 46. N 6. С. 930-944.

8. Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. Киев: Наукова думка. 1990. 280 с.

9. Филин А.Н., Иванов В.Б. Влияние 2,4-Д на пролиферацию и растяжение клеток в корнях Arabidopsis thaliana // Физиология растений. 2016. Т. 63. С. 174–174.

10. Перспективные биотехнологии: Коллекции культур клеток высших растений как основа разработки и производства лекарственных препаратов / Е.В. Попова [и др.] // Физиология Растений. 2021. Vol. 68. С. 227–244.

11. Effect of the M· EcoRII methyltransferase-encoding gene on the phenotype of nicotiana tabacum transgenic cells / Y.I. Buryanov [et al.] // Gene. 1995. V. 157(1-2). P. 283-287. https://doi.org/10.1016/0378-1119(95)00129-T

12. Кунах В.А. Изменчивость растительного генома в процессе дедифференцировки и каллусообразования in vitro // Физиол. растений. 1999. Т.46. N 6. С. 919-929.

13. Santos I., Salema R. Penicillins and activity of nitrogen metabolism enzymes in plant tissue cultures // Plant Science. 1989. V. 59. N 1. P. 119-125. https://doi.org/10.1016/0168-9452(89)90016-2.

14. Kavi Kishor P.B., Mehta A.R. Growth and metabolism in cotton and tobacco callus cultures //Proceedings: Plant Sciences. 1988. V.98. N.4. P. 277-282. https://doi.org/10.1007/BF03053799

15. Cervantes E., Perez P., Martínez-Carrasco R. Dry weight accumulation and starch-synthesis enzymes in grain of cultured ears of three winter wheat varieties // Physiologia Plantarum. 1989. V. 77. N 1. P. 52-58. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1989.tb05977.x

16. Носов А.М., Пауков В.Н., Бутенко Р.Г. Физиологическая регуляция синтеза стероидов культурой клеток диоскореи дельтовидной // Культура клеток растений и биотехнология. М., 1986. С. 76-79.

17. Elicitor-mediated induction of phenylalanine ammonia lyase and tryptophan decarboxylase: accumulation of phenols and indole alkaloids in cell suspension cultures of Catharanthus roseus / H. U. Seitz [et al.] // Plant cell, tissue and organ culture. 1989. V. 18. N 1. P. 71-78. https://doi.org/10.1007/BF00033466

18. Осипова Е.А., Цыбулько Н.С., Шамина З.Б. Вариабельность клеточных клонов // Физиол. растений. 1999. Т.46. N 6. С. 908-914.

19. Шамина З.Б. Стратегия получения мутантных штаммов – продуцентов биологически активных веществ // Физиол. растений. 1994. Т.41. С. 879-884.

20. Maliga P. Towards plastid transformation in flowering plants //Trends in biotechnology. 1993. V. 11. N 3. P. 101-107. https://doi.org/10.1016/0167-7799(93)90059-I

21. Meinke D. W. et al. Arabidopsis thaliana: a model plant for genome analysis //Science. – 1998. V. 282. N 5389. P. 662-682. https://doi.org/10.1126/science.282.5389.662

22. В АБК- и стресс-индуцируемую экспрессию гена at4g01870 Arabidopsis thaliana вовлекаются цис-элементы, ответственные за связывание АБК-зависимых транс-факторов / Н. В. Виноградов [и др.] // Физиология растений. 2019. Т. 66. N 4. С. 256-265.

23. Фоменков А.А. Влияние этилена на пролиферацию культивируемых клеток Arabidopsis thaliana : дисс. ... канд. биол. наук. М., 2021. 132 с.

24. Meyerowitz E.M., Pruitt R.E. Arabidopsis thaliana and plant molecular genetics //Science. 1985. V. 229. N 4719. P. 1214-1218. https://doi.org/10.1126/science.229.4719.1214

SUMMARY

PLANT CELL AND TISSUE CULTURE BIOTECHNOLOGY

Novik A.D., P.G. 3rd year student (ORCID: 0000-0001-5071-7374),
Sabanov A.A., 3rd year student, **Popkov N.S.**, 3rd year student.
Academic advise: **Kirillova N.V.**, Doctor of Biology, Professor of the Department of Biochemistry
(ORCID: 0000-0003-3379-0646),
Povydysh M.N., Doctor of Biology, Chairholder of the Department of Biochemistry
(ORCID: 0000-0002-7768-9059, ResearcherID WoS: AAR-4392-2020),
Goncharov M.Y., Doctor of Biology, Senior lecturer of the Department of Pharmacognosy
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
(ORCID: 0000-0002-9706-9850)
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: alena.yushina@pharminnotech.com

The main stages in the establishment and development of plant organ and tissue cell technology are summarized in this overview. The advantages of cultivation of plant cells and tissues as compared to intact plants are considered. Literature data is presented that substantiates the use of plant cell and tissue culture as a quite promising source of substances of plant origin.

Keywords: *plant tissue culture, cell technology, model systems, plant biochemistry and physiology, genetically engineered plant biotechnology.*

REFERENCES

1. Butenko R.G. Kletochnye tekhnologii dlya polucheniya ekonomicheski vazhnykh veshchestv rastitel'nogo proiskhozhdeniya // Kul'tura kletok rastenii i biotekhnologiya. M.: Nauka. 1986. P. 3-20. (in Russian)

2. Teeri Teemi, Tormala Timo. Biotekniikka kasvinjalostuksessa ja kasvien lisayksessa // Luonnon. Futkija. 1990. V. 94. N 1-2. P. 43-49.

3. Liskov D., Izvorskaya N. Sostoyanie i dal'neishee razvitie raboty s kul'turami in vitro // Mezhdunar. Agroprom. Zhurn. 1990. N 2. P. 72-78. (in Russian)

4. Nosov A.M. Regulyatsiya sinteza vtorichnykh soedinenii v kul'ture kletok rastenii // Biologiya kul'tiviruemykh kletok i biotekhnologiya rastenii. M.: Nauka. 1991. P. 5-20. (in Russian)

5. Nosov A.M. Kul'tura kletok vysshikh rastenii – unikal'naya sistema, model', instrument // Fiziol. Rastenii. 1999. T. 46. N 6. P. 837-844. (in Russian)

6. Ispol'zovanie metodov biotekhnologii dlya ozdorovleniya i intensivnogo razmnozheniya rozy efiromaslyachnoi / F.F. Zherebtsov [et al.] // Tez. dokl. obl. nauchn.-prakt. konf. Simferopol'. 1990. P. 99-100. (in Russian)

7. Bur'yanov Ya.I. Uspekhi i perspektivy genno-inzhenernoi biotekhnologii rastenii // Fiziol. rastenii. 1999. T. 46. N 6. P. 930-944. (in Russian)

8. Sidorov V.A. Biotekhnologiya rastenii. Kletochnaya selektsiya. Kiev: Naukova dumka. 1990. 280 p. (in Russian)

9. Filin A.N., Ivanov V.B. Vliyanie 2,4-D na proliferatsiyu i rastyazhenie kletok v kornyakh Arabidopsis thaliana // Fiziologiya rastenii. 2016. T. 63. P. 174–174. (in Russian)

10. . Perspektivnye biotekhnologii: Kollektsii kul'tur kletok vysshikh rastenii kak osnova razrabotki i proizvodstva lekarstvennykh preparatov / E.V. Popova [et al.] //Fiziologiya Rastenii. 2021. Vol. 68. P. 227–244. (in Russian)

11. Effect of the M EcoRII methyltransferase-encoding gene on the phenotype of nicotiana tabacum transgenic cells / Y.I. Buryanov [et al.] // Gene. 1995. V. 157(1-2). P. 283-287. https://doi.org/10.1016/0378-1119(95)00129-T

12. Kunakh V.A. Izmenchivost' rastitel'nogo genoma v protsesse dedifferentsirovki i kallusoobrazovaniya in vitro // Fiziol. rastenii. 1999. T.46. N6. P. 919-929. (in Russian)

13. Santos I., Salema R. Penicillins and activity of nitrogen metabolism enzymes in plant tissue cultures // Plant Science. 1989. V. 59. N 1. P. 119-125. https://doi.org/10.1016/0168-9452(89)90016-2.

14. Kavi Kishor P.B., Mehta A.R. Growth and metabolism in cotton and tobacco callus cultures //Proceedings: Plant Sciences. 1988. V.98. N.4. P. 277-282. https://doi.org/10.1007/BF03053799

15. Cervantes E., Perez P., Martínez-Carrasco R. Dry weight accumulation and starch-synthesis enzymes in grain of cultured ears of three winter wheat varieties // Physiologia Plantarum. 1989. V. 77. N 1. P. 52-58. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1989.tb05977.x

16. Nosov A.M., Paukov V.N., Butenko R.G. Fiziologicheskaya regulyatsiya sinteza steroidov kul'turoi kletok dioskorei del'tovidnoi // Kul'tura kletok rastenii i biotekhnologiya. M., 1986. P. 76-79. (in Russian)

17. Santos I., Salema R. Penicillins and activity of nitrogen metabolism enzymes in plant tissue cultures // Plant Science. 1989. V. 59. N 1. P. 119-125. https://doi.org/10.1016/0168-9452(89)90016-2.

18. Osipova E.A., Tsybul'ko N.S., Shamina Z.B. Variabel'nost' kletochnykh klonov // Fiziol. rastenii. 1999. T.46. N 6. P. 908-914. (in Russian)

19. Shamina Z.B. Strategiya polucheniya mutantnykh shtammov – produtsentov biologicheski aktivnykh veshchestv // Fiziol. rastenii. 1994. T.41. S. 879-884.20.

20. Maliga P. Plastid transformation in flowering plants // Trends biotechnol. 1993. V.11. P. 101-106. https://doi.org/10.1016/0167-7799(93)90059-I (in Russian)

21. Meinke D. W. et al. Arabidopsis thaliana: a model plant for genome analysis //Science. – 1998. V. 282. N 5389. P. 662-682. https://doi.org/10.1126/science.282.5389.66222.

22 V ABK- i stress-indutsiruemuyu ekspressiyu gena at4g01870 Arabidopsis thaliana vovlekayutsya tsis-elementy, otvetstvennye za svyazyvanie ABK-zavisimykh trans-faktorov / N. V. Vinogradov [et al.]// Fiziologiya rastenii. 2019. T. 66. N 4. P. 256-265. (in Russian)

23. Fomenkov A.A. Vliyanie etilena na proliferatsiyu kul'tiviruemykh kletok Arabidopsis thaliana: diss. ... kand. biol. nauk. M., 2021. 132 s. (in Russian)

24. Meyerowitz E.M., Pruitt R.E. Arabidopsis thaliana and plant molecular genetics //Science. 1985. V. 229. N 4719. P. 1214-1218. https://doi.org/10.1126/science.229.4719.1214

УДК 60:615.

ПРИМЕНЕНИЕ МУЛЬТИКОЛОНОЧНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССОВ ОЧИСТКИ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Соловьева М.А., магистрант 1 года обучения
Руководитель: **Котова Н.В.**, кандидат химических наук, доц. кафедры биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14 А, Российская Федерация
E-mail: soloveva.margarita@pharminnotech.com

В данной статье описаны наиболее часто используемые технологии мультиколоночной хроматографии, которые можно применить для оптимизации действующей стадии периодической ионообменной хроматографии с использованием одной колонны с целью повышения производительности производства активных фармацевтических субстанций и сокращения продолжительности протекания данной стадии. Цель работы – рассмотреть применяемые модели проведения процесса ионообменной хроматографии с подключением нескольких колонн и сделать вывод об эффективности мультиколоночной хроматографии по сравнению с периодическим процессом.

Ключевые слова: *мультиколоночная хроматография, периодическая хроматография, оптимизация, очистка белков.*

Хроматография – один из важнейших процессов очистки в производстве активных фармацевтических субстанций, включая белки, в том числе ферменты и гормоны, моноклональные антитела и другие группы субстанций.

В частности, ионообменная хроматография широко применяется в качестве инструмента для первичной очистки белков. [1] При этом необходимо принимать во внимание, что проведение процесса ионообменной хроматографии имеет ряд особенностей.

Во-первых, процессы уравновешивания, нанесения, элюции и регенерации сорбента, которые неизбежно проводятся на каждом разделении (даже если речь идёт об одной и той же серии продукта), занимают очень много времени. Каждая подстадия длится от 3 до 20 часов в связи с тем, что ионообменная хроматография не предполагает высокой нагрузки на колонну по давлению, в отличие от ВЭЖХ, при проведении которой рабочее давление более чем в 10 раз выше. Безусловно, продолжительность перечисленных операций существенно тормозит процесс в целом.

Во-вторых, для хроматографической очистки больших объёмов растворов белков требуется большой объём колонны, а также внушительный объём дорогостоящего сорбента. Естественно, используемое в больших масштабах оборудование имеет достаточно крупные габариты, что влияет не только на занимаемую в производственном помещении площадь, но и на удобство обслуживания таких аппаратов, например, при загрузке и выгрузке больших объёмов сорбента.

Очевидно, увеличение размера хроматографических колонн неприемлемо в ряде случаев из-за ограниченных габаритов производственного помещения: единственный вариант здесь – строительство нового помещения, что требует колоссальных денежных вложений, но при этом не решает другую проблему ионообменной хроматографии – при увеличении размеров колонн и объёма сорбента существенно увеличится время протекания процесса.

Также ясно, что повышать нагрузку на колонну и сорбент практически всегда не представляется возможным, т.к. это может привести и к порче продукта, и к порче сорбента, в крайнем случае может пострадать и само оборудование.

Для решения подобных вопросов ряд производств пищевой и фармацевтической промышленности во всём мире уже сегодня вводит технологии высоко автоматизированного каскадного принципа мультиколоночной хроматографии.

Ионообменная хроматография (ИОХ) – метод разделения полярных молекул и ионов на основании их зарядов. При этом происходит обратимый обмен ионами между подвижной (раствор) и неподвижной (сорбент) фазами. [2]

В качестве подвижной фазы в ИОХ применяются растворы электролитов, чаще – буферные растворы, позволяющие поддерживать pH на требуемом уровне.

Для детектирования определяемых ионов используются кондуктометрические детекторы. При этом фоновая электропроводность подвижной фазы должна быть низкой, а давление, с которым элюент подается на колонку – также невысоким.

Для повышения качества разделения элюент наносится на колонку в условиях создания градиента (современные хроматографы предполагают ряд технических устройств для автоматического создания градиента – диффузионные генераторы, мембранные генераторы, инжекторы, различного устройства смесители).

Итак, эффективность разделения в основном зависит от:

• Размера частиц и пор сорбента (от этого зависит площадь соприкосновения с подвижной фазой и количество подвижных ионогенных групп);

• Качества (равномерности и плотности) упаковки сорбента в колонну;

• Скорости потока подвижной фазы и давления её на колонну (от этого зависит, будет ли размываться сорбент, т.е. будет ли нарушаться равномерное и плотное состояние упаковки сорбента);

• Градиента подачи элюента (влияет на разрешимость пиков целевого белка и примесей при разделении). [3,4]

Рассмотрим более подробно разновидности мультиколоночной хроматографии, описанные в литературе.

МСС-хроматография (мультиколоночная хроматография, *multi column chromatography*) отличается от классической периодической хроматографии тем, что в процессе задействуется не одна более объёмная, длинная колонна, а несколько менее объёмных и более коротких колонн, обычно 4-6, подключенных параллельно. При этом покидают систему

только те фракции, которые достигли требуемой чистоты; в ином случае разделяемый раствор продолжает циркулировать в системе. Несмотря на большую продолжительность, эффективность и экономичность процесса в целом повышаются, т.к. ёмкость сорбента используется наиболее полно по сравнению с периодической хроматографией. [4] MCC-хроматография хоть и является наиболее простым вариантом среди мультиколоночных технологий, нельзя свести всю мультиколоночную хроматографию лишь к этому методу, опираясь на дословный перевод термина, поскольку в широком смысле слова мультиколоночной является любая технология проведения хроматографической очистки, задействующая несколько колонн.

PCC-хроматография (периодическая противоточная хроматография, *periodic counter-current chromatography*) основана на циклическом разделении входящего потока с использованием нескольких колонок. В простейшем случае, когда колонки всего две, проскок нанесения по первой колонке (когда сорбент уже «не может удержать» целевой продукт), детектируется и поступает на вторую колонку, которая подключена к первой последовательно. Дальнейшее нанесение продолжается уже на вторую колонку, тогда как на первой колонке независимо от неё начинают протекать процессы промывки/переуравновешивания, элюции и регенерации. После регенерации первая колонка вновь включается в систему и готова к нанесению, а на второй протекают последующие стадии хроматографии. Эта схема реализуется циклично и непрерывно, т.е. для всей системы процесс протекает непрерывно, тогда как каждая отдельно взятая колонка работает периодически.

В настоящее время реализуются схемы трёх- и четырёх-колоночных PCC-систем (3C- и 4C PCC), причём в последнем случае отдельная колонка задействована в процессе элюции, на другой протекает регенерация, а ещё на двух последовательно протекает нанесение, что позволяет уменьшить потерю продукта в случае, если одна из колонок ещё не прошла ступень регенерации к моменту завершения нанесения на другой колонке, что возможно в случае с 2C и 3C PCC. [5,6]

SMB-система (симулировано-подвижная неподвижная фаза, *simulated moving bed*) – многоколоночная непрерывная хроматографическая система, разделение в которой основано на движении элюента и стационарной фазы в противотоке.

По сравнению с непрерывной жидкостной хроматографией SMB-технология имеет ряд преимуществ, среди которых более высокая производительность при одновременной высокой чистоте целевого продукта, а также уменьшение объёма используемого растворителя.

Основной существенный недостаток применения SMB-систем – возможность разделения лишь на два выходящих потока, а не на опциональное количество фракций.

При этом SMB-система не предъявляет жёстких требований по эффективности разделения к используемым сорбентам, поскольку отдельно взятая колонка в системе может не доводить разделяемую фазу до требуемой чистоты; не полностью очищенные фракции будут выводиться из системы только тогда, когда их чистота достигнет требуемых значений. [7,8,9,10]

Необходимость повышения интенсивности процессов хроматографического разделения связана с запросом на повышение количества получаемого продукта без изменения его качества.

Таким образом, необходимо повысить массу белка, который способна обработать хроматографическая система за цикл работы, но здесь существует ограничение в виде допустимой нагрузки на сорбент; поэтому целесообразно сокращать время, необходимое для осуществления стадий протекания процесса, т.к. каждая отдельная подстадия ионообменной хроматографии ведётся при низком давлении и не очень высокой скорости потока, а следовательно, занимает много времени. [11] В этом случае интенсификации возможно достигнуть, в частности, путём параллельного ведения подстадий хроматографии при использовании мультиколоночных систем.

Отдельное внимание для повышения выхода целевого продукта уделяется снижению количества потерь, однако при хорошем разрешении пиков при ведении ионообменной хроматографии, количество потерь при существующей моноколоночной технологии не является критичным. В случае подбора мультиколоночной системы для интенсификации процесса необходимо подобрать такие условия, чтобы количество потерь не увеличилось, а хроматографическая чистота получаемого полупродукта существенно не снизилась.

При интенсификации хроматографии следует обращать внимание на следующие экономические критерии:

• Производительность процесса (количество продукта, производимого в единицу времени, а также с объёма используемой колонны);

• Разбавление конечного продукта (это влияет на трудоёмкость и затраты на последующих стадиях очистки);

• Расход подвижной фазы (от этого напрямую зависит, какие будут в итоге затраты в пересчёте на приготовление, хранение, трансфер элюента с учётом количества сырья, используемых емкостных аппаратов и вспомогательного оборудования). [12,13,14]

Следовательно, имея задачу интенсифицировать процесс путём применения мультиколоночной хроматографии, следует отметить, не будут ли перечисленные критерии идти вразрез с вводимой технологией. Оценить теоретически это можно на начальных этапах проработки, однако однозначный ответ дадут только конкретные расчёты от задаваемого, желаемого выхода по стадии.

При введении MCC, PCC, SMB хроматографии вместо существующей периодической технологии при оптимизации можно столкнуться с рядом ограничений, которые были описаны выше, в частности, с трудностями при разделении выходящих потоков. Но, помимо этого, следует обращать внимание на общую модель производства: достаточно трудно включить полностью непрерывную или полунепрерывную стадию ионообменной хроматографии в периодический процесс. Чаще всего потребуется оптимизация и других стадий производства, которая позволит действительно вести процесс непрерывно. В противном случае внедрение мультиколоночной хроматографии может просто не оправдать себя по затратам.

Заключение

Таким образом, технологии мультиколоночной хроматографии в различных своих вариациях действительно позволяют существенно сократить время проведения процесса, в частности благодаря параллельному проведению подготовки сорбента и непосредственного разделения рабочего раствора белка, а также повысить уровень автоматизации на данной стадии. [15] Трудности, возникающие при этом, довольно успешно устраняются путём модификаций основных вариантов мультиколоночных систем и разработкой новых, более совершенных технологий, которые, надо полагать, довольно скоро займут своё место на биотехнологических производствах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Способы очистки биофармацевтических белков от эн-дотоксинов клеточной стенки / Д.А. Гусаров [и др.] // Биотехнология. 2006. N 2. С. 44–49

2. ОФС.1.2.1.2.0008.18 Ионообменная хроматография. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М., 2018. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14

3. CYTIVA Ion exchange chromatography. Uppsala, 2021.

4. Ruland Y., Colin H., David L. Batch and multi column chromatography for the large scale production of biologicals, api's and food ingredients. 2011.

5. CYTIVA Continuous chromatography in downstream processing of a monoclonal antibody. Uppsala, 2020.

6. Purification of mAb by PCC Use of a continuous chromatography system for both resin screening and scale-up studies / L. Persson [et al.]. 2018.

7. Голубков В.С., Ходонов А.А. SMB-технология и её потенциальные применения в биотехнологии // Биофармацевтический журнал. 2010. С. 14–24.

8. Broughton D. B.,Gerhold G./ US Patent. 1961. N. 2. P. 985,589.

9. SimulatedMoving Bed: Basics and Applications / R. Nicoud [et al.]. Nancy,France: INPL, 1993. P. 65–88.

10. Verdot: process-scale chromatography process Chromatography Skid Isocratic System, Inline Dilution and Gradient Capability, Included in a Proven Platform Designed for your Purification Process. 2015.

11. Presentation of the FAST Separation Technology / G. Hyöky [et al.]. Presented at American Society of Sugar BeetTechnologiests. 30th General Meeting, February 1. Orlando, Florida, 1999

12. Гусаров Д.А. Оптимизация конфигурации ВЭЖХ колонны на примере производственной очистки инсулина человека // Биофармацевтический журнал: Технология производства биопрепаратов. 2009. С. 30–35.

13. Process and Device for separation with Variable-Length / P. Adam [et al.] // US Patent. 2000. N. 6. 136,198.

14. Hou K.C., Zaniewski R. Scaling-up of affinity chromatography by radial-flow cartridges // Biotechnol.Appl. Biochem. 1990. V. 12. P. 315–321

15. Balannec B., Hotier G. Preparative and Production Scale Chromatography. New York, USA: Marcel Dekker, 1993. P. 301.

SUMMARY

MULTI-COLUMN CHROMATOGRAPHY AS A TOOL FOR OPTIMISATION OF PURIFICATION PROCESSES OF BIOPHARMACEUTICALS

Soloveva M.A., 1st year undergraduate
Academic advise: **Kotova N.V**., Candidate of chemical sciences, senior lecturer
Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197002, Russian Federation
E-mail: soloveva.margarita@pharminnotech.com

This article describes the most commonly used multi-column chromatography technologies that can be applied to optimize the current single column batch ion exchange chromatography step to increase API capacity and reduce the duration of this step. The purpose of this work is to consider the models used for the process of ion-exchange chromatography with the connection of several columns and to draw a conclusion about the effectiveness of multicolumn chromatography compared to a batch process.

Keywords: *multi-column chromatography, batch chromatography, optimization, purification of proteins.*

REFERENCES

1. Purification methods of biopharmaceutical proteins from cell endotoxins / D.A. Gusarov [et al.] // Biotechnology. 2006. N 2. P. 44–49 (in Russian)

2. OFS.1.2.1.2.0008.18 Ion-exchange chromatography. Pharmacopeia Russian Federation XIV ed. Moscow, 2018. [Internet] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14 (in Russian)

3. CYTIVA Ion exchange chromatography. Uppsala, 2021.

4. Ruland Y., Colin H., David L. Batch and multi column chromatography for the large scale production of biologicals, api's and food ingredients. 2011.

5. CYTIVA Continuous chromatography in downstream processing of a monoclonal antibody. Uppsala, 2020.

6. Purification of mAb by PCC Use of a continuous chromatography system for both resin screening and scale-up studies / L. Persson [et al.]. 2018.

7. Golubkov V.S., Khodonov A.A. SMB-technology and its potential applications in biotechnology // Biopharmaceutical Journal. 2010. P. 14–24. (in Russian)

8. Broughton D. B.,Gerhold G./ US Patent. 1961. N. 2. P. 985,589.

9. SimulatedMoving Bed: Basics and Applications / R. Nicoud [et al.]. Nancy,France: INPL, 1993. P. 65 – 88.

10. Verdot: process-scale chromatography process Chromatography Skid Isocratic System, Inline Dilution and Gradient Capability, Included in a Proven Platform Designed for your Purification Process. 2015.

11. Presentation of the FAST Separation Technology / G. Hyöky [et al.]. Presented at American Society of Sugar BeetTechnologiests. 30th General Meeting, February 1. Orlando, Florida, 1999

12. Gusarov D.A. Optimization of HPLC column configuration on the example of industrial purification of human insulin // Biopharmaceutical journal: Biopreparation production technology. 2009. P. 30–35. (in Russian)

13. Process and Device for separation with Variable-Length / P. Adam [et al.] // US Patent. 2000. N. 6. 136,198.

14. Hou K.C., Zaniewski R. Scaling-up of affinity chromatography by radial-flow cartridges // Biotechnol.Appl. Biochem. 1990. V. 12. P. 315–321

15. Balannec B., Hotier G. Preparative and Production Scale Chromatography. New York, USA: Marcel Dekker, 1993. P. 301.

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОДУКТОВ БИОСИНТЕЗА STREPTOMYCES LEVORIS И STREPTOMYCES IMBRICATUS И ОСНОВНЫЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛЯЦИИ ИХ БИОСИНТЕЗА

Хайруллина С.Н., студ. 3 курса, **Палагина М.А.**, студ. 3 курса
Руководитель: **Топкова О.В.**, канд. биол. наук, доц. кафедры биотехнологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: sofija.hairullina@spcpu.ru

Обзор современных областей применения биологически активных веществ, получаемые с помощью Streptomyces levoris и Streptomyces imbricatus и способов их регуляции. Произведена оценка перспективности рассмотренных методов при решении исследовательских задач.

Ключевые слова: *леворин, имбрицин, регуляция биосинтеза.*

Продукты биосинтеза актиномицетов рода Streptomyces нашли свое применение в медицине, биотехнологии, пищевой промышленности, сельском хозяйстве. Больший исследовательский интерес вызывают противогрибковые антибиотики, производимые *Str. levoris* и *Str. imbricatus*, так как многие грибы наносят урон человеку со стороны его здоровья, а также на экономику сфер его деятельности.

Целью работы является оценка значимости различных факторов регуляции на биосинтез биологически активных веществ (БАВ), синтезируемыми *Str. levoris* и *Str. imbricatus* и способы их регуляции.

При выявлении перспективных направлений применения БАВ, производимых данными продуцентами, и способов их регуляции были взяты следующие основные задачи:

анализ ситуации в области использования продуктов биосинтеза стрептомицетов,

выявление направлений, позволяющих усовершенствовать культивирование данных продуцентов.

В последние годы увеличивается число пациентов с иммуносупрессией, на фоне которой часто развиваются микозы. В лечении микозов огромную роль играют противогрибковые антибиотики, полученные из продуктов микробного синтеза. Макролидные антибиотики составляют большой класс антибиотических веществ, характеризующихся наличием макроциклического лактонного кольца [1]. Они подразделяются на антибактериальные (группа эритромицина) и противогрибковые полиеновые антибиотики. Различия в химической структуре объясняют разницу в отношении спектра и механизма их действия.

К макролидным противогрибковым антибиотикам относят неполиеновые, таким является имбрицин. Неполиеновые антибиотики в настоящее время являются наименее изученными, но области применения становятся более обширными, поскольку биологическая активность их превышает уже хорошо изученных полиеновых антибиотиков [2].

Известно, что актиномицеты являются одной из крупнейших бактериальных сообществ, которые широко распространены как в наземных, так и водных биосистемах. Род Streptomyces является самым крупным родом, способным синтезировать антибиотики, и используется с середины XX века в промышленном производстве антибиотиков. Значительное количество антибиотиков выявлено в естественной среде, но менее чем 1% из них являются немедицинского назначения, которые могут использоваться как кормовые и для защиты растений [3]. Помимо антибиотиков стрептомицеты синтезируют и другие вторичные метаболиты, среди них можно выделить антибактериальные, противоопухолевые, пестицидные, инсектицидные и гербицидные вещества, а также фармакологические вещества, например, иммуномодуляторы, вазоактивные вещества и неврологические средства. Имеющие большое значение после антибиотиков продуктами Streptomyces являются ферменты: липазы, целлюлазы, пектиназы, ксиланазы, протеазы и амилазы [4]. Было выявлено, что Str. levoris и Str. imbricatus являются продуцентами антибиотиками леворина и имбрицина соотвественно.

Леворин содержит большое число сопряженных двойных связей, связываясь с эргостеролом цитоплазматической мембраны грибов, тем самым вызывает нарушение проницаемости мембраны, что приводит к лизису клетки [5]. Наибольшую активность проявляет в отношении *Candida albicans* и некоторых простейших.

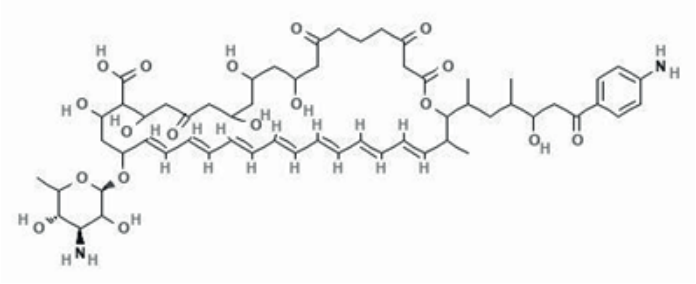


Рисунок 1. Структурная формула леворина

Имбрицин имеет эмпирическую формулу $C_{57}H_{103}N_3O_{20}$, на сегодняшний день неизвестна его структурная формула, но имеется предположение, что он вероятно близок по структуре азаломицин-F [6]. Данный антибиотик обладает высокой биологической активностью, широким спектром действия, низкой токсичностью, а также высокой стабильностью и низкой летучестью, что объясняет области применения в аграрной и животноводческой отрасли [7]. Механизм его действия заключается в увеличении проницаемости клеточных мембран, что приводит к гибели клетки из-за чрезмерного выхода жизненноважных клеточных компонентов.

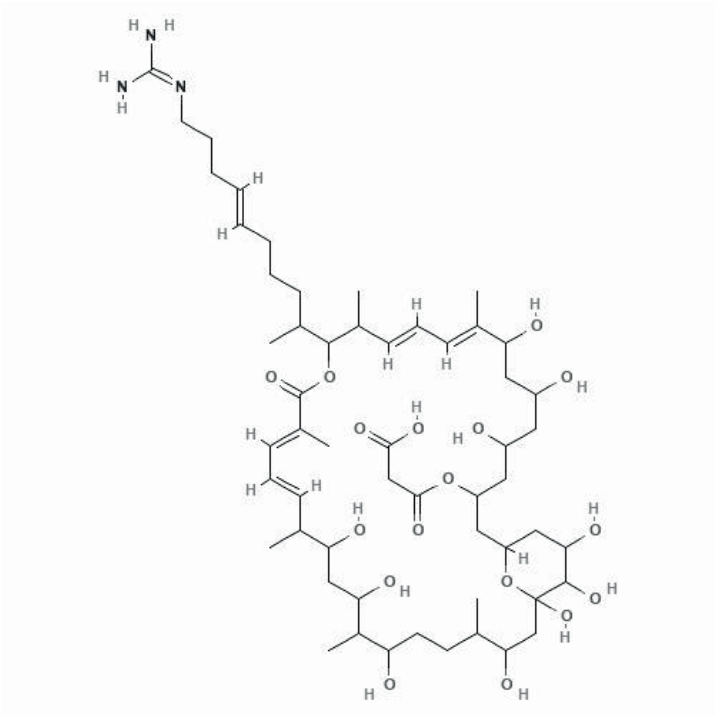


Рисунок 2. Структурная формула азаломицина F

Регуляция занимает ключевую роль в основе биосинтеза многих биологически активных веществ и является одним из приоритетных направлений исследований в области фундаментальной биотехнологии. В недавних исследованиях было выяснено, что имбрицин получают путем биосинтеза со сравнительно низкой активностью [8]. Среди отобранных штаммов антибиотическая активность достигала 2000 ЕД/мл, что является контрольным уровнем [9]. С этой целью было изучена регуляция биосинтеза. Для этого рассмотрели 3 вида регуляции:

1. Физическая регуляция. Так как культивирование продуцента имбрицина происходит на выскококонцентрированной и вязкой среде, поэтому было выяснено, что в условиях аэрации происходил активный синтез антибиотика. Максимальное значение аэрации 2,9 г O_2/л/ч увеличивал количество антибиотика, следовательно, понижение интенсивности аэрации приводит к возрастанию продолжительности процесса. При данных условиях количество имбрицина в культуральной жидкости будет достигать 4000 ЕД/мл.

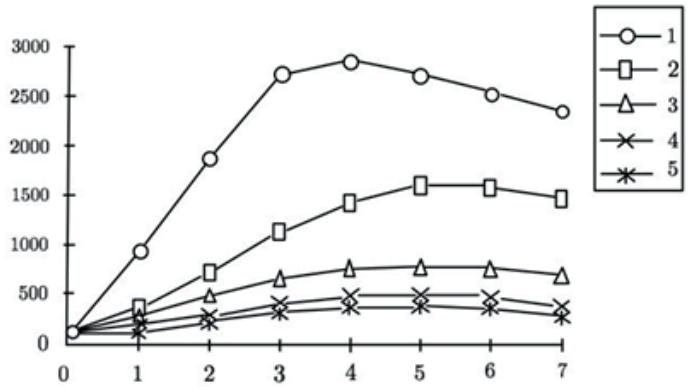


Рисунок 3. Динамика процессов биосинтеза имбрицина при культивировании продуцента в условиях, различающихся по интенсивности по аэрации среды (г O_2/л /ч): 1 – 2,9; 2 – 1,7; 3 – 0,9; 4 – 0,7; 5 – 0,5

2. Химическая регуляция. Исходя из того, что имбрицин локализуется в культуральной жидкости, было установлено, что некоторые соли натрия ($NaCl$, Na_2SO_3, Na_2CO_3) усиливают выделение имбрицина в среду, так как ионы натрия (Na^+) увеличивают клеточную проницаемость. В присутствии солей натрия повышается и эффективность экстракции антибиотика из биомассы органическими растворителями.

3. Биологическая регуляция. Установлено, что регуляцию могут осуществлять специфические вещества, синтезируемые самими микроорганизмами – эндогенные соединения,так как при их присутствии происходит усиление активности НАД-специфических дегидрогеназ – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутаматдегидрогеназы, поскольку они обеспечивают биосинтез антибиотика необходимыми восстановительными эквивалентами, а также в присутствии эндорегуляторов происходит усиление активности антибиотиков при подавлении активности энзимов ЦТК, что может позволяет включить пируват в образования поликетидной цепи молекулы антибиотика [10].

Существуют также пути регуляции биосинтеза антибиотика леворина. Одним из основных регуляторов является эндорегуляторное соединение, наибольшее накопление которого приводит к увеличению активности антибиотика. В процессе культивирования *Str. levoris* важно соблюдать оптимальный состав среды, значение pH, температуры и интенсивности аэрации.

Леворин применяется в медицине против дрожжеподобных грибов, в частности грибов рода *Candida* [11]. Кроме того, отмечается противоопухолевый эффект у некоторых производных леворина.

В последнее время предпринимаются попытки использовать антибиотики в качестве средств защиты от биоразрушений различных промышленных товаров и изделий. Особый интерес у исследователей вызывает имбрицин, воздействующий на низшие грибы, которые участвуют в ферментативном расщеплении природных полисахаридов и других соединений. Было обнаружено, что антибиотик немедицинского назначения имбрицин обладает мощным фунгицидным действием. Есть работы, в которых описаны результативные методы обработки бумаги этим соединением для предупреждения микроповреждений [12]. Имбрицином можно обрабатывать бумагу еще на стадии производства, что позволяет получать продукцию устойчивую к заселению грибами [13]. В пищевой промышленности имбрицин применяют в качестве консерванта, ограничивающего рост и развитие посторонней микрофлоры [14]. В сельском хозяйстве имбрицин может быть использован, как фунгицид, инсектицид, а также стимулятор роста и защитных функций растений [15].

Таким образом, произведенный обзор и анализ литературы позволяют нам утверждать, что понимание биосинтеза вторичных метаболитов, исследуемых стрептомицетов, приведет к прогрессу в области комбинаторного биосинтеза в биотехнологической и фармацевтической промышленности. Регуляция может быть осуществлена с помощью химических, физических и биологических факторов. Мы считаем, наиболее эффективно использовать комбинацию всех факторов регуляции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Соловьева С.Е., Олсуфьева Е.Н., Преображенская М.Н. Химическое модифицирование противогрибковых макролидных полиеновых антибиотиков // Успехи химии. 2011. Т. 80. N 2. С. 115-138.

2. Антибиотик немедицинского назначения имбрицин: биологическая активность, экологическая безопасность и перспективы использования для защиты растений / И. В. Бойкова [и др.] // Экологическая химия. 2018. Т. 27. N 5. С. 233-245.

3. Сергеева А.Г., Куимова Н.Г. Актиномицеты как продуценты биологически активных веществ //Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2006. N 22. С. 88-90.

4. Биоразнообразие актиномицетов рода Streptomyces, выделенных из почв Республики Татарстан, и их ферментативная активность / Б. Чулуун [и др.] // Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки. 2013. Т. 155. N. 1. С. 148-157.

5. Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx. (Дата обращения 06.03.2022).

6. Imbricin, an Antibiotic of Nonmedical Application: Biological Activity, Environmental Friendliness, and Prospects for Use in Plant Protection / I.V. Boikova [et al.] // Russian Journal of General Chemistry. 2018. T. 88. N. 13. C. 2937-2947.

7. Лукашевич Е.О. Фунгицидное действие биологически активных веществ, продуцируемых стрептомицетами // Инновации в здоровье нации : Сборник материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 08–09 ноября 2017 года. Санкт-Петербург: СПХФУ, 2017. С. 238-240.

8. Влияние аэрации и редокс-потенциала среды на биосинтез антибиотика имбрицина / М.Э. Сухаревич [и др.] // Материалы 4-ой Международной конференции «СПИД, рак и родственные проблемы». СПб., 1996. С.104.

9. Gorbunova N.A., Iakovleva E.P. The action of its own antibiotic on the producer of imbricin growing on an agarized medium // Antibiotiki i Khimioterapiia= Antibiotics and Chemoterapy [sic]. 2000. . Vol. 45(5). P. 6-8.

10. Топкова О.В., Яковлева Е.П., Колодязная В.А. Рост и развитие продуцента имбрицина в условиях ауторегуляции биосинтеза антибиотика // Международная научно-методическая конференция «Сандеровские чтения», посвященная памяти выдающегося отечественного ученого в области технологии лекарств Юрия Карловича Сандера 03-04 февраля 2012 года: сборник научных трудов. СПб.: Изд-во СПХФА, 2012. С. 54.

11. Белахов В.В. Фосфорорганические производные полиеновых макролидных антибиотиков: получение, медикобиологические свойства и перспективы применения // Успехи медицинской микологии. 2013. Т. 11. С. 302-304.

12. Действие имбрицина на целлюлозоразрушающие грибы / М.Э. Сухаревич [и др.] //Микология и фитопатология. 1995. Т. 29. N 4. С. 22-26.

13. Пат. 2580759 Российская Федерация, МПК A61L 2/16, Биоцидное действие / И.Л. Кузикова, Н.Г. Медведева, В.Э. Первак. Патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской академии наук (НИЦЭБ РАН), И.Л. Кузикова, Н.Г. Медведева, В.Э. Первак. № 2014153173/15;заявл. 25.12.2014. Опубл. 10.04.2016. Бюл. N 10. 9 с.

14. Защитные латексные покрытия в сыроделии: состояние и перспективы / А. Г. Снежко [и др.] // Сыроделие и маслоделие. 2012. N 1. С. 49-51.

15. Противогрибковый антибиотик немедицинского назначения имбрицин: получение, физико-химические свойства, структурные особенности и применение в промышленности и сельском хозяйстве: обзор / В.В. Белахов [и др.] // Экологическая химия. 2017. Т. 26. N 5. С. 233–248.

SUMMARY

PROMISING APPLICATIONS OF STREPTOMYCES LEVORIS AND STREPTOMYCES IMBRICATUS BIOSYNTHESIS PRODUCTS AND THE MAIN ASPECTS OF THEIR BIOSYNTHESIS REGULATION

Khairullina S.N., 3rd year student, **Palagina M.A.**, 3rd year student
Academic advise: **Topkova O.V.**, Candidate of Biological Sciences, senior lecturer
St.Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: sofija.hairullina@spcpu.ru

A review of modern fields of application of biologically active substances obtained with the help of *Streptomyces levoris* and *Streptomyces imbricatus* and methods for their regulation. The perspectiveness of the considered methods in solving various research problems is assessed.

Keywords: *levorin, imbricin, regulation of biosynthesis.*

REFERENCES

1. Solov'eva, S.E., Olsuf'eva E.N., Preobrazhenskaja M.N. Himicheskoe modificirovanie protivogribkovyh makrolidnyh polienovyh antibiotikov // Uspehi himii. 2011. Vol. 80.(2). P. 115-138. (in Russian)

2. Antibiotik nemedicinskogo naznachenija imbricin: biologicheskaja aktivnost', jekologicheskaja bezopasnost' i perspektivy ispol'zovanija dlja zashhity rastenij / I.V. Bojkova [et al.] // Jekologicheskaja himija. 2018. Vol. 27(5) P. 233-245. (in Russian)

3. Sergeeva A.G., Kuimova N.G. Aktinomicety kak producenty biologicheski aktivnyh veshhestv // Bjulleten' fiziologii i patologii dyhanija. 2006. N 22. P. 88-90. (in Russian)

4. Bioraznoobrazie aktinomicetov roda Streptomyces, vydelennyh iz pochv Respubliki Tatarstan, i ih fermentativnaja aktivnost' / B. Chuluun [et al.] // Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Serija Estestvennye nauki. 2013. Vol. 155(1). P. 148-157. (in Russian)

5. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennyh sredstv. [Internet]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx. (Accessed 06.03.2022). (in Russian)

6. Imbricin, an Antibiotic of Nonmedical Application: Biological Activity, Environmental Friendliness, and Prospects for Use in Plant Protection / I.V. Boikova [et al.] // Russian Journal of General Chemistry. 2018. T. 88. N. 13. C. 2937-2947.

7. Lukashevich E. O. Fungicidnoe dejstvie biologicheski aktivnyh veshhestv, produciruemyh streptomicetami // Innovacii v zdorov'e nacii : Sbornik materialov V Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem, Sankt-Peterburg, 08–09 nojabrja 2017 goda. – Sankt-Peterburg: SPKHPU, 2017. P. 238-240. (in Russian)

8. Vlijanie ajeracii i redoks-potenciala sredy na biosintez antibiotika imbricina / M.Je. Suharevich [et al.] // Materialy 4-oj Mezhdunarodnoj konferencii «SPID, rak i rodstvennye problemy», Sankt-Peterburg, 1996. P.104. (in Russian)

9. Gorbunova N.A., Iakovleva E.P. The action of its own antibiotic on the producer of imbricin growing on an agarized medium // Antibiotiki i Khimioterapiia= Antibiotics and Chemoterapy [sic]. 2000. Vol. 45(5). P. 6-8.

10. Topkova O.V., Jakovleva E.P., Kolodjaznaja V.A. Rost i razvitie producenta imbricina v uslovijah autoreguljacii biosinteza antibiotika //Mezhdunarodnaja nauchno-metodicheskaja konferencija «Sanderovskie chtenija», posvjashhennaja pamjati vydajushhegosja otechestvennogo uchenogo v ob-lasti tehnologii lekarstv Jurija Karlovicha Sandera 03-04 fevralja 2012 goda: sbornik nauchnyh trudov. SPb.: Izd-vo SPHFA, 2012. P. 54. (in Russian)

11. Belahov V.V. Fosfororganicheskie proizvodnye polienovyh makrolidnyh antibiotikov: poluchenie, medikobiologicheskie svojstva i perspektivy primenenija // Uspehi medicinskoj mikologii. 2013. Vol. 11. P. 302-304. (in Russian)

12. Dejstvie imbricina na celljulozorazrushajushhie griby / M. Je. Suharevich [et al]. // Mikologija i fitopatologija. 1995. Vol. 29(4) P. 22-26. (in Russian)

13. Pat. 2580759 Rossijskaja Federacija, MPK A61L 2/16, Biocidnoe dejstvie / I.L. Kuzikova, N.G. Medvedeva, V.Je. Pervak; patentoobladatel' Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe uchrezhdenie nauki Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij centr jekologicheskoj bezopasnosti Rossijskoj akademii nauk (NICJeB RAN). № 2014153173/15. Zajavl. 25.12.2014. Opubl. 10.04.2016. Bjul. N 10. 9 p. (in Russian)

14. Zashhitnye lateksnye pokrytija v syrodelii: sostojanie i perspektivy / A. G. Snezhko [et al.] // Syrodelie i maslodelie. 2012. N 1. P. 49-51. (in Russian)

15. Protivogribkovyj antibiotik nemedicinskogo naznachenija imbricin: poluchenie, fiziko-himicheskie svojstva, strukturnye osobennosti i primenenie v promyshlennosti i sel'skom hozjajstve: obzor / V.V. Belahov [et al.] // Jekologicheskaja himija. 2017. Vol. 26(5). P. 233–248. (in Russian)

Секция 5. Современные вопросы фармацевтической технологии

Фармацевтическая промышленность Российской Федерации является одним из драйверов развития современного здравоохранения и экономики. Основной целью развития фармацевтической промышленности РФ на период до 2030 года является обеспечение национальной лекарственной безопасности и лекарственной доступности во всех сегментах. Современная фармацевтическая технология позволяет разрабатывать и внедрять эффективные и при этом безопасные способы получения лекарственных форм. Однако ключевую роль в этом процессе, конечно, играет наука.

14 апреля 2022 года на базе Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета состоялось секционное заседание «Современные вопросы фармацевтической технологии». В работе конференции традиционно приняли участие студенты, аспиранты, молодые учёные и специалисты, работающие в области фармации. Свои работы представили 14 участников, ранее прошедшие отборочный этап. Тематики докладов касались вопросов применения компьютерного и математического моделирования, совершенствования технологических процессов, разработки лекарственных форм, а также средств на основе лекарственных растений.

Участие в конференции принимали не только учащиеся химико-фармацевтического университета, но и студенты Санкт-Петербургского государственного технологического института, Витебского государственного медицинского университета, а также молодые ученые кафедры факультета медицины университета Нови-Сад (Сербия).

В качестве экспертов приняли участие представители фармацевтических компаний: Сон Андрей Викторович – технолог отдела разработки готовых лекарственных форм ЗАО БИОКАД, Ибрагимова Алина Валерьевна – главный технолог компании АО «Вертекс», Черкасова Анна Владимировна – начальник лаборатории ТЛФ компании АО «Вертекс».

В связи с эпидемиологической обстановкой, работа, как и в предыдущие два года, проходила в дистанционном формате. Однако ограничения не помешали нам выслушать оригинальные доклады молодых ученых и обсудить актуальные профессиональные вопросы.

В этом году победителем секции по результатам голосования экспертов и преподавателей стала Ногаева Ульяна Валерьевна, аспирантка 2 года обучения кафедры технологии лекарственных форм СПХФУ, представившая доклад на тему: «Разработка состава и технологии мягкой лекарственной формы, обладающей противовоспалительным действием».

От лица жюри, преподавателей и экспертов выражаю искреннюю благодарность участникам конференции за плодотворную работу и интересные доклады, научным руководителям и наставникам за высокий уровень подготовки студентов, магистрантов и аспирантов, партнёрам и спонсорам конференции за сотрудничество и поддержку! Спасибо организаторам за этот праздник фармацевтической науки! До новых встреч!

Модератор секции
Елена Владимировна Флисюк
проректор по научной работе,
заведующий кафедрой технологии лекарственных форм,
д. фарм. н., профессор ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России

УДК 615.07

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПРОТИВОДИАБЕТИЧЕСКИХ ЭКСТРАКТОВ НА ОСНОВЕ ИМБИРЯ, ЧЕРНИКИ И ЖЕНЬШЕНЯ

Александрова Д.А., маг. 2 года обучения
Руководитель: **Легостева А.Б.**, канд. фарм. наук, доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: aleksandrova.darya@pharminnotech.com

Изучены два густых экстракта, один из них получен на основе побегов черники обыкновенной (Vaccinium myrtillus L.) и листьев женьшеня настоящего (Panax ginseng C.A.Mey.), другой – из корневищ имбиря аптечного (Amomum zingiber L.). Определены следующие характеристики: описание, подлинность, содержание флавоноидов, потеря в массе при высушивании, тяжелые металлы, гигроскопичность.

Ключевые слова: *густой экстракт, корневища имбиря аптечного, побеги черники обыкновенной, листья женьшеня настоящего, стандартизация, показатели качества.*

Сахарный диабет представляет собой группу метаболических состояний организма человека, характеризующихся наличием гипергликемии при отсутствии должного лечения. Данное заболевание включает в себя нарушения в выработке инсулина и/или механизме его действия. Долгосрочными специфичными осложнениями диабета являются ретинопатия, нефропатия и невропатия. Пациенты с диабетом также находятся в зоне повышенного риска по заболеваниям сердца, периферических артерий и сосудов головного мозга, катаракты. Вместе с тем, высок риск возникновения инфекционных заболеваний, таких как туберкулез и инфекции мочевых путей. Исход болезни может быть менее удачен, чем у пациентов без диабета.

Самой распространенной формой сахарного диабета является диабет 2 типа, определяющийся различной степенью инсулинорезестентности у пациентов. Следует отметить, что доля населения с невыявленным сахарным диабетом 2 типа в зависимости от страны составляет от 30 до 80 % [1].

Проблема эффективного лечения сахарного диабета не теряет своей важности из-за увеличения его распространенности. В течение последнего десятилетия численность мирового населения, страдающего данным недугом, увеличилась практически вдвое. Через 20 лет этот показатель может превысить отметку в 600 млн человек. Сахарный диабет также приводит к таким социально значимым негативным последствиям как приобретение инвалидности и смертности пациентов по причине сопутствующих данному заболеванию системных осложнений. Дальнейшее изучение этиологии и патогенеза сахарного диабета показывает необходимость в разработке новых противодиабетических лекарственных средств.

В такой ситуации при лечении больных сахарным диабетом актуальны исследования по использованию суммарных фитохимических препаратов, имеющих в своем составе биологически активные вещества в нативном состоянии. Лекарственные средства на основе растительного сырья оказывают активное и направленное действие на организм человека, крайне редко проявляют аллергические и мутагенные свойства, стимулируют защитные силы иммунной системы, применимы в комплексной терапии. При этом наблюдается достаточно высокое и стойкое лечебное воздействие при практическом отсутствии побочных отрицательных эффектов [2].

Целью исследования является проведение стандартизации двух противодиабетических густых экстрактов: один из них получен на основе побегов черники обыкновенной (Vaccinium myrtillus L.) и листьев женьшеня настоящего (Panax ginseng C.A.Mey.), другой – из корневищ имбиря аптечного (Amomum zingiber L.).

Задачами исследования являются определение таких характеристик данных густых экстрактов, как описание, подлинность, содержание флавоноидов, потеря в массе при высушивании. Для выбора упаковки экстрактов была поставлена задача анализа их гигроскопичности.

Материалы и методы

Объектами исследования являются два противодиабетических густых экстракта, один из них получен из побегов черники обыкновенной и листьев женьшеня настоящего, другой – на основе корневищ имбиря аптечного.

Согласно Государственной Фармакопее Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ XIV), густые экстракты – это вязкие массы с содержанием влаги не более 25 % [3].

Густой экстракт корневищ имбиря аптечного получен экстракцией растительного сырья 70-%ным этиловым спиртом методом ремацирации с делением экстрагента на части (интенсифицированной ультразвуком), с последующим сгущением водно-спиртового извлечения.

Густой экстракт побегов черники обыкновенной и листьев женьшеня настоящего получен экстракцией растительного сырья 50-%ным этиловым спиртом методом ремацирации с делением экстрагента на части (интенсифицированной ультразвуком), с последующим сгущением водно-спиртового извлечения.

Качественный анализ флавоноидов в густых экстрактах проведен методом восходящей тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах «Silufol UV-254» размером 15*15 мм.

Согласно данным научной литературы рассмотрены 2 системы растворителей для ТСХ [4]:

1. Бутанол:уксусная кислота:вода 4:1:5;
2. Хлороформ:ацетон:метанол 36:1:1.

Проявление в системе бутанол:уксусная кислота:вода проведено опрыскиванием хроматограммы 2%-ным спиртовым раствором алюминия хлорида с последующим просмотром под ультрафиолетовым светом.

Проявление в системе хлороформ:ацетон:метанол 36:1:1 проведено несколькими методами: просмотром под ультрафиолетовым светом, опрыскиванием хроматограммы 1%-ным спиртовым раствором ванилина с последующим просмотром под ультрафиолетовым светом, опрыскиванием хроматограммы 2%-ным спиртовым раствором хлорида алюминия с последующим просмотром под ультрафиолетовым светом.

Количественный анализ флавоноидов в густых экстрактах корневищ имбиря, побегов черники и листьев женьшеня проведен спектрофотометрическим методом. Содержание флавоноидов определено в пересчете на рутин.

Для количественного анализа флавоноидов использован спектрофотометр ShimadzuUVmini-1240 (Япония).

Показатели качества густых экстрактов определены в соответствии с ГФ РФ XIV и Фармакопеей Евразийского Экономического союза (ЕАЭС) [3, 5].

Результаты и обсуждение

Результаты стандартизации густого экстракта корневищ имбиря аптечного представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Результаты стандартизации густого экстракта корневищ имбиря аптечного

№ п/п	Наименование показателя	Метод анализа	Результаты
1	Описание	Органолептический	Вязкая масса темно-коричневого цвета с характерным запахом
2	Подлинность	Спектрофотометрический, ультрафиолетовая область 190-380 нм	Наблюдается максимум при λ=280,5 нм
		ТСХ, система растворителей бутанол:уксусная кислота:вода 4:1:5, проявление опрыскиванием 2%-ным раствором алюминия хлорида с последующим просмотром под ультрафиолетовым светом	Проявляется не менее 3 пятен в диапазоне R_f от 0,10 до 0,80
3	Содержание флавоноидов (в пересчете на рутин)	Спектрофотометрический с алюминия хлоридом, длина волны 404 нм	Не менее 0,90%
4	Потеря в массе при высушивании	ГФ XIV, ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании»	Не более 25%
5	Тяжелые металлы	ГФXIV, ОФС.1.2.2.2.0012.15 «Тяжелые металлы»	Не более 0,01%

Следует отметить, что для стандартизации густого экстракта корневищ имбиря методом ТСХ оставлена система растворителей бутанол:уксусная кислота:вода 4:1:5, поскольку система растворителей хлороформ:ацетон:метанол 36:1:1 не дает воспроизводимых результатов.

Результаты стандартизации густого экстракта побегов черники обыкновенной и листьев женьшеня настоящего представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты стандартизации густого экстракта побегов черники обыкновенной и листьев женьшеня настоящего

№ п/п	Наименование показателя	Метод анализа	Характеристика густого экстракта
1	Описание	Органолептический	Вязкая масса темно-коричневого цвета с характерным запахом
2	Подлинность	Спектрофотометрический, ультрафиолетовая область 190-380 нм	Наблюдается максимум при λ=280,5 нм
		ТСХ, система растворителей бутанол:уксусная кислота:вода 4:1:5, проявление опрыскиванием 2%-ным раствором алюминия хлорида с последующим просмотром под ультрафиолетовым светом	Проявляется не менее 3 пятен в диапазоне R_f от 0,09 до 0,52
3	Содержание флавоноидов (в пересчете на рутин)	Спектрофотометрический с алюминия хлоридом, длина волны 411 нм	Не менее 1,07 %
4	Потеря в массе при высушивании	ГФ XIV, ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании»	Не более 25%
5	Тяжелые металлы	ГФXIV, ОФС.1.2.2.2.0012.15 «Тяжелые металлы»	Не более 0,01%

Следует отметить, что для стандартизации густого экстракта побегов черники обыкновенной и листьев женьшеня методом ТСХ оставлена система растворителей бутанол:ускусная кислота:вода 4:1:5, поскольку система растворителей хлороформ:ацетон:метанол 36:1:1 не дает воспроизводимых результатов.

По степени гигроскопичности оба густых экстракта относятся к гигроскопичным. Данный результат позволяет выдвинуть требование герметичности к упаковке для хранения и транспортировки этих продуктов.

Заключение

Таким образом, проведена стандартизация двух густых экстрактов, один из них получен на основе побегов черники обыкновенной и листьев женьшеня настоящего, другой – из корневищ имбиря аптечного. Определен ряд параметров данных густых экстрактов, а также предложены оптимальные методы анализа данных объектов.

Полученные результаты в дальнейшем будут использоваться при разработке готовой лекарственной формы на основе исследуемых густых экстрактов имбиря, черники и женьшеня. В частности, гигроскопичность повлияет на выбор вспомогательных веществ и технологии лекарственной формы.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.36 Лекарственные средства из природного сырья

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Diagnosis and management of type 2 diabetes (HEARTS-D) // World Health Organization. 2020.

2. Использование натуральных растительных ингредиентов при лечении больных сахарным диабетом / К.А. Корейба [и др.] // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. 2020. N 3. С. 49-51.

3. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. [Электронное издание]. URL: https://femb.ru/ (Дата обращения: 20.02.2022)

4. Определение флавоноидов и исследование влияния условий хранения на их содержание в плодах облепихи методов ТСХ / О.В. Тринеева [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. 2012. N 5. С. 806-813.

5. О Фармакопее Евразийского экономического союза: Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 11 августа 2020 г. № 100. [Электронный ресурс] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_359911/ (Дата обращения: 20.02.2022).

SUMMARY

STANDARDIZATION OF ANTIDIABETIC EXTRACTS BASED ON GINGER, BLUEBERRY AND GINSENG

Aleksandrova D.A., 2nd year master student

Scientific supervisor: **Legosteva A.B.**, Ph.D., associate professor

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: aleksandrova.darya@pharminnotech.com

Two thick extracts, one was received from bilberry shoots (Vaccinium myrtillus L.) and ginseng leaves (Panax ginseng C.A.Mey.), the other one from ginger root (Amomum zingiber L.), were studied. The following characteristics were defined: description, authenticity, flavonoid content, weight loss on drying, heavy metals, hygroscopicity.

Keywords: *thick extract, ginger root, bilberry shoots, ginseng leaves, standardization, quality indicators.*

REFERENCES

1. Diagnosis and management of type 2 diabetes (HEARTS-D) // World Health Organization. 2020.

2. Tsyplakov D.E., Minabutdinov A.R., Agadzhanova K.V. The Use Of Natural Herbal Ingredients In The Treatment Of Diabetes / K.A. Koreyba [et al.] // Medicine. Sociology. Philosophy. Applied research. 2020. N 3. P. 49-51. (In Russian)

3. The State Pharmacopoeia of The Russian Federation. XIV-ed. [Internet]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (Accessed 20.02.2022) (In Russian)

4. Definition of flavonoids and research of influence of storage condition on their contents in Hippophaes Fruit a TLC method / O.V. Trineeva [et al.] // Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protsessy. 2012. N5. P. 806-813. (In Russian)

5. On the Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union: Decision of the Board of the Eurasian Economic Commission N 100 dated August 11. 2020. [Internet] URL : http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_359911/(Accessed 20.02.2022) (In Russian)

УДК 66.028.2

МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЕ ПРИ ПОМОЩИ АВТОМАТИЧЕСКОГО ДОЗИРУЮЩЕГО УСТРОЙСТВА

Алиев А.Р., студ. 3 курса
Руководитель: **Гусев К.А.**, мл. н. с.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: Andrej.aliev@spcpu.ru

Изучена актуальная технология создания микрокапсул методом диспергирования в несмешивающуюся жидкость с использованием автоматического дозирующего устройства. В ходе работы было экспериментально установлено влияние параметров технологического процесса на готовую продукцию и, с помощью внедрения дозатора, были предложены методы автоматизации процесса для контроля геометрических характеристик микрокапсул.

Ключевые слова: *микрокапсулы, автоматизация процесса, методы микрокапсулирования, дозирующее устройство.*

В последние десятилетия, технология микрокапсулирования приобретает всю большую актуальность и количество публикаций по данному методу непременно растет. Микрокапсулирование в химической технологии определяется как процесс заключения мелких частиц действующего вещества в тонкую оболочку пленкообразующего материала для создания лекарственных препаратов (ЛП) с заданными свойствами. Также помимо фармацевтических субстанций, технология используется для инкапсуляции клетки человека, животных и растительных клеток, микробов, ферментов и применяется в случаях, если инкапсулированный объект должен быть защищен от воздействия окружающей среды, например, иммунной системы пациента, или должен быть защищен от окисления или для реализации модифицированного высвобождения. Работа с живыми клетками предполагает изучение устойчивости клеток к физико-механическим и химическим взаимодействиям в процессе изготовления, однако в данной работе исследуется метод создание микрокапсул содержащие активный фармацевтический ингредиент (АФИ) и данный фактор учитываться не будет.

Одной из первых технологий получения микрокапсул является коацервация или фазовое разделение. Различают два вида коацервации: простая и сложная. Наиболее широко применяемым методом является метод простой коацервации. Коацервация – это процесс разделения раствора пленкообразователя под воздействием каких-либо факторов (изменение pH, добавление электролитов, изменение температуры), на два слоя: с разбавленным и концентрированным содержанием полимера. В настоящее время процесс коацервации высокомолекулярных соединений рассматривается как образование двухфазной системы в результате расслаивания. Одна фаза представляет собой раствор высокомолекулярного вещества в растворителе, вторая-раствор растворителя в высокомолекулярном веществе. Раствор, более богатый высокомолекулярным веществом, часто выделяется в виде капелек коацервата. При дальнейшем обезвоживании коацерваты переходят в осадок. Впоследствии оболочки капель подвергают затвердению для повышения механической прочности микрокапсул, которая осуществляется различными способами (охлаждением, испарением растворителя и др.). В медицинской практике наиболее часто применяются микрокапсулы размером от 100 до 1000 мкм.

В настоящее время существует множество инновационных подходов коацервации для создания микрокапсул и инкапсуляции клеток. Наиболее широко применяются следующие технологии производства, основанные на экструзии жидкости через сопло или матицу в несмешивающуюся среду:

1) Простое дозирование – базовая технология получения микрокапсул: растворенная в высокомолекулярном растворителе субстанция продавливается через отверстие иглы в несмешивающуюся жидкость, например, вазелиновое масло для формирования капсул (рис. 1а). Также во избежании слипания, необходимо постоянное перемешивание среды мешалкой. Благодаря своей простоте эта технология широко используется в лабораторной практике, однако недостатком считается то, что формируются капсулы с большим размером от 500 до 2000 мкм.

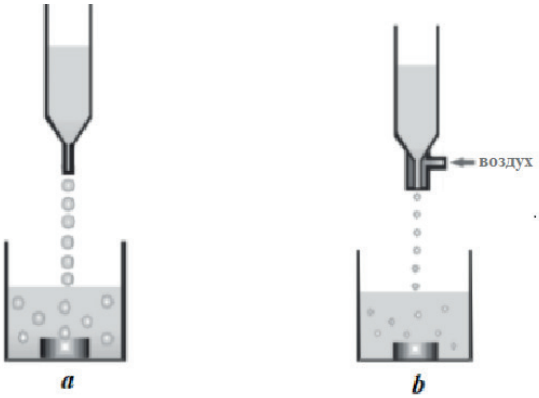


Рисунок 1. Простое дозирование (a) и дозирование с использованием направленного воздушного потока (b) [1]

2) Дозирование с использованием направленного воздушного потока. Маленькие однородные капсулы получаются, если на иглу или сопло установить дополнительную фокусирующую насадку, которая направляет воздушную струю на выходящий поток жидкости (рис. 1b). Эта технология позволяет получить капсулы диаметром от 200 мкм благодаря тому, что направленная воздушная струя обладает сильной перерезывающей силой. Недостатком этой технологии является очень низкая скорость потока, поэтому технология используется только для небольшого объема производства.

3) Формирование капсул под действием электростатических сил. Игла и стакан со средой помещаются под противоположные заряды. Жидкость заряжается электродом и продавливается из шприца, когда созданное электрическое поле достаточно велико, жидкость образует мениск и разделяется вследствие баланса между капиллярными и электродинамическими силами. Как и в технологии 2, скорость потока здесь очень низкая, поэтому этот метод используется только для небольшого объема производства. Используемые потенциалы составляют от 10 до 25 кВ.

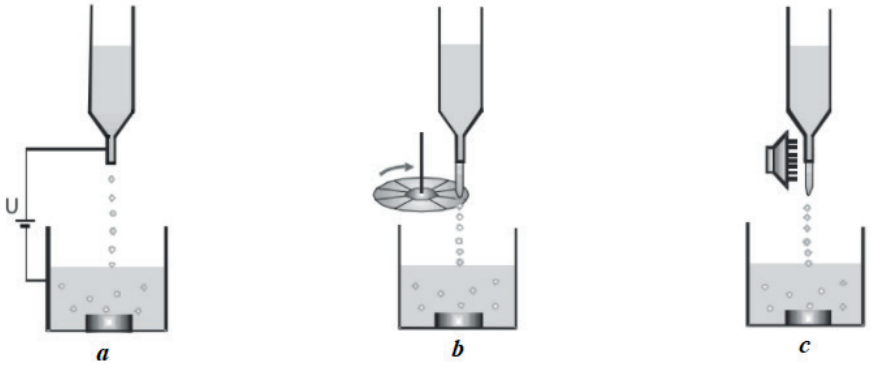


Рисунок 2. Электростатическое дозирование (a), разрезание вращающимся диском (b), вибрационное дозирование (c) [1]

4) Технология разрезания вращающимся диском. В промышленности широко используется для производства больших объемов микрокапсул. Капли формируются либо с помощью вращающегося сопла, либо с помощью вращающегося диска, который разрезает непрерывный поток жидкости.

5) Вибрационный метод позволяет создавать однородные, монодисперсные микрокапсулы благодаря вибрации. Вибрация иглы разбивает ламинарную струю на мелкие капли одинакового размера. С увеличением частоты вибрации, уменьшается размер частиц (рис. 3), однако при распылении сложнее контролировать размер создаваемых капсул. Данная технология подходит для крупных объем производства.

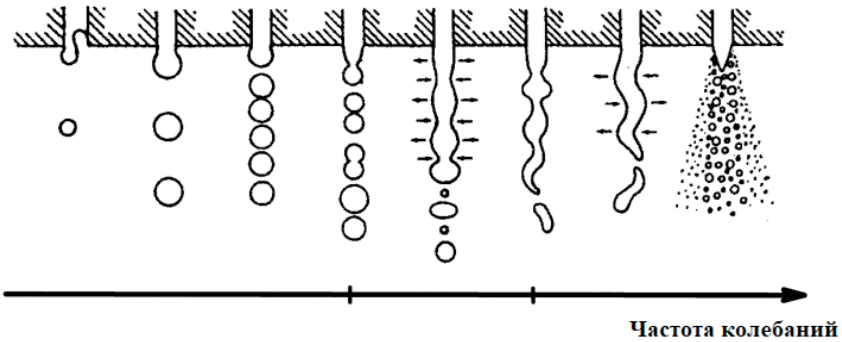


Рисунок 3. Изменение формы экструдата от частоты колебаний [5]

Среди всех вышеперечисленных методов получения микрокапсул основным узлом является дозирующие устройство, которое обеспечивает равномерную подачу раствора АФС, продавливая его через иглу. Зачастую, растворы высокомолекулярных соединений характеризуются высокими значениями вязкости и поверхностного натяжения, что создает значительные трудности при дозировании малых объемов. Исходя из реологических свойств полученного раствора АФС необходимо учитывать и компенсировать негативное влияние на этапе программирования сценария движения поршня.

Основной целью данной работы является автоматизация процесса микрокапсулирования.

Материалы и методы

Методика получения микрокапсул: предварительно приготовленный 10% раствор этилцеллюлозы в ацетоне перемешивают в течение 10-15 мин до образования однородного вязкого раствора. В полученный однородный вязкий раствор при работающей пропеллерной мешалке (400 об/мин) постепенно небольшими порциями вносят 3,0 г АФС и диспергируют в течение 10 мин до образования однородной дисперсии. В стеклянный стакан вместимостью 800 мл помещают 500 мл вазелинового масла, включают пропеллерную мешалку (600 об/мин) и по каплям, с помощью автоматического дозатора, добавляют дисперсию АФС в 10% раствор этилцеллюлозы в ацетоне в течение 30 мин. По окончании подачи дисперсии АФС помещают стеклянный стакан в водяную баню с температурой воды 40 °С и продолжают перемешивание в течение 2 часов при этом поддерживают температуру водяной бани. Готовые микрокапсулы отделяют от вазели-

нового масла фильтрованием через сито с размером пор 0,4 мм, и далее промывают 60 мл гексана. Сушат на открытом воздухе при комнатной температуре одни сутки.

Оборудование

Разработанное устройство является дозатором поршневого типа (рис. 4) и состоит из поршневой пары, в которой находится жидкая или вязкая среда и системы точного перемещения поршня. При движении поршня вниз, в системе образуется избыточное давление, которое выталкивает состав из шприца, в результате чего экструдируемое вещество дозируется через иглу. Такая система позволяет развивать большие давления, обеспечивать равномерность подачи материала и позволяет достичь высокой точности при дозировании. После продавливания всего объема, замена шприца происходит быстро и с минимальными усилиями со стороны оператора. Параметры дозирования и сценарий движения поршня задаются с помощью специальной программы, написанной на языке G-code.

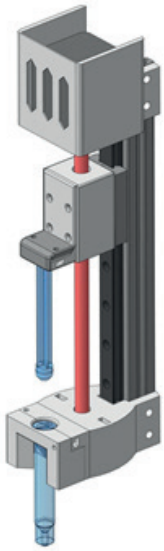


Рисунок 4. 3D модель дозатора

Описанное устройство, по точности дозирования является полноценным конкурентом промышленных моделей, в то время как стоимость изготовленного дозатора значительно меньше. Низкая стоимость оборудования позволяет проводить исследования в рамках лаборатории, не создавая дополнительных рисков.

Результаты и обсуждения

При проведении первого эксперимента процесс дозирования осуществлялся вручную с использованием медицинского шприца объемом 20 мл, на расстоянии 10–20 см над поверхностью несмешивающейся жидкости, со скоростью вращения мешалки 600 об/мин. Однако, при проведении эксперимента было установлено, что ацетон, используемый в качестве растворителя этилцеллюлозы, испаряется в промежутке между выходом из шприца и диспергировании в вазелиновом масле. Также, очевидно, что ручное дозирование не обеспечивает равномерное продавливание на всем временном отрезке.

Исходя из полученного результата было принято решение использовать автоматическое дозирующее устройство с установленным шприцом Nordson EFD объемом 3 мл, иглу со внутренним диаметром 0.84 мм и опустить кончик иглы в масло при постоянном перемешивании. В процессе микрокапсулирования со скоростью смещения поршня 15 мм/мин было установлено, что при продавливании раствора АФС в вазелиновое масло, которое обладает высокой скоростью уноса, капля не формируется, а вытягивается по движению потока и неконтролируемо обрывается (рис. 5). В результате микрокапсулы, после высушивания, не являлись однородными по форме и размеру. При уменьшении скорости дозирования до 5 мм/мин и использовании иглы с внутренним диаметром 0.61 мм, микрокапсулы имели меньший размер (менее 1000 мкм), однако эффект уноса раствора АФС после продавливания сохранился, поэтому процесс не является контролируемым и технология погружения иглы в масло не применима для создания однородных микрокапсул.

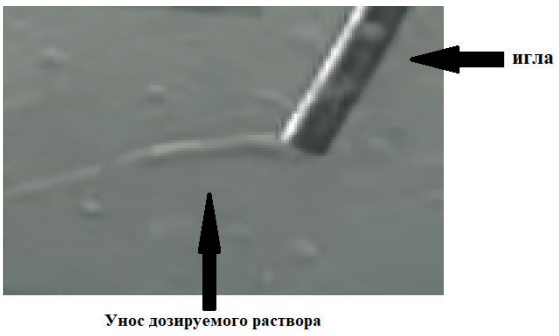


Рисунок 5. Унос раствора АФС в среде вазелинового масла

На основании полученных результатов, разработана методика диспергирования раствора АФС в несмешивающуюся жидкость, в которой учтены реологические свойства раствора, испарение ацетона на воздухе и прочие ограничения технологии, описанные ранее.

Методика дозирования

1) Раствор АФС переносим в шприц (с диаметром иглы не более 0,61 мм) из стеклянного стакана. При переносе, в объеме вещества образуются пузырьки воздуха, которые сложно удалить из-за высокой вязкости жидкости, поэтому для удаления воздуха из дозируемого объема используется центрифугирование в плотно закрытых шприцах или ультразвуковая баня с полным погружением шприцев.

2) Закрепляем шприц в дозатор и устанавливаем устройство так, чтобы расстояние между кончиком иглы и несмешивающейся жидкостью составляло не более 3 см.

3) Задаем параметры и траекторию движения поршня шприца. Движение поршня должны быть импульсными – развивать высокую скорость на малом отрезке. Раствор АФС обладает высокими значениями вязкости и поверхностного натяжения, и при дозировании не образует каплю, а вытягивается в тонкую нитку. Поэтому для формирования капли, после продавливания небольшого объема жидкости, задается ретракт (движение поршня в обратном направлении). Во время ретракта поршень быстро смещается в вверх на несколько миллиметров и создает пониженное давление в теле шприца, что и способствует отрыву сформировавшейся капли.

Скорректированная методика позволила создать микрокапсулы с лучшей воспроизводимостью по форме и с заданным размером – 1000 мкм.

Заключение

Автоматизация процесса позволяет исключить фактор человеческой ошибки и обеспечивает контроль параметров дозирования, которые имеют критическое значение для технологии микрокапсулирования. Благодаря внедрению высокоточного дозирующего устройства в технологический процесс, стало возможным однородное дозирование, создание программируемой траектории, в том числе и применение специальных методов для воспроизводства заданных геометрических характеристик микрокапсул.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.01.85 Автоматизация и автоматизированные системы

61.45.00 Технология химико-фармацевтических средств

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Electrostatic Microencapsulation of Living Cells / D. Lewinska [et al.] // Biocybernetics and Biomedical Engineering. 2008. Vol. 28(2). P. 69–84.

2. Жанибекова Н. Состояние и перспективы современной технологии микрокапсулирования в фармации. Вестник КазНМУ. 2014. N 5. С. 66-68

3. Martin-Banderas A., M. Ganan.-Calvo L., Fernandez-Arevalo M. Making Drops in Microencapsulation Processes // Letters in Drug Design & Discovery. 2010. Vol. 7(4). P. 300-309. DOI: 10.2174/157018010790945760

4. Development of an electronic aerosol system for generating microcapsules / Wai Yean Leonga [et al.] // Jurnal Teknologi. 2016. Vol. 78(5–7). P. 79–85. DOI: 10.11113/jt.v78.8718

5. Use of Vibration Technology for Jet Break-Up for Encapsulation of Cells and Liquids in Monodisperse Microcapsules / C. Hheinzen [et al.] // Fundamentals of cellimmobilisation biotechnology. 2002. Is. 241. P. 257–275. DOI: 10.1007/978-94-017-1638-3_14

SUMMARY

MICROENCAPSULATION USING AN AUTOMATIC DOSING DEVICE

Aliev A.R., 3nd year student
Scientific supervisor: **Konstantin G.A.**, Junior researcher
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: Andrej.aliev@spcpu.ru

The actual technology of creating microcapsules by dispersing into immiscible liquid using an automatic dispensing device has been studied. In the course of the work, the impact of the process parameters on the finished product was experimentally established and, with the introduction of the dispenser, methods for automating the process were proposed to control the geometrical characteristics of the microcapsules.

Keywords: *microcapsules, process automation, microencapsulation methods, dispensing devices.*

REFERENCES

1. Electrostatic Microencapsulation of Living Cells / D. Lewinska [et al.] // Biocybernetics and Biomedical Engineering. 2008. Vol. 28(2). P. 69–84
2. Zhanibekova H. Status and prospects of modern microencapsulation technology in pharmacy. Bulletin of KazNMU. 2014. N 5 P. 66-68 (in Russian)
3. Martin-Banderas A., M. Ganan.-Calvo L., Fernandez-Arevalo M. Making Drops in Microencapsulation Processes // Letters in Drug Design & Discovery. 2010. Vol. 7(4). P. 300-309. DOI: 10.2174/157018010790945760
4. Development of an electronic aerosol system for generating microcapsules / Wai Yean Leonga [et al.] // Jurnal Teknologi. 2016. Vol. 78(5–7). P. 79–85. DOI: 10.11113/jt.v78.8718
5. Use of Vibration Technology for Jet Break-Up for Encapsulation of Cells and Liquids in Monodisperse Microcapsules / C. Hheinzen [et al.] // Fundamentals of cellimmobilisation biotechnology. 2002. Is. 241. P. 257–275. DOI: 10.1007/978-94-017-1638-3_14

УДК 615:453.64

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОКРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ, ПОЛУЧЕННОЙ МЕТОДОМ ГАЗОФАЗНОГО ГИДРОЛИЗА, В ПРОИЗВОДСТВЕ ТАБЛЕТОК

Амерханов Р.Ю., студ. 4 курса (ORCID: 0000-0002-7307-3839)
Руководитель: **Вайнштейн В.А.**, проф., д. фарм. н.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: rus.amerkhan@gmai.com

Изучена возможность применения микрокристаллической целлюлозы, полученной методом газофазного гидролиза, в качестве наполнителя в производстве таблеток. На примере разных составов и соотношений вспомогательных веществ рассмотрены характеристики гранулятов и таблеток в зависимости от соотношения наполнителей.

Ключевые слова: *микрокристаллическая целлюлоза, МКЦ, таблетки, вспомогательные вещества, наполнители.*

Введение. В настоящий момент во всех аспектах отечественной промышленности особенно остро стоит вопрос импортозамещения. Нельзя забывать, что помимо активных фармацевтических субстанций (АФС) для производства лекарственных средств требуются также вспомогательные вещества. В технологии твердых лекарственных форм чаще всего более 50% от массы таблетки занимают наполнители. Соответственно, из всех групп вспомогательных веществ, требующих импортозамещения, производство наполнителей будет являться наиболее крупнотоннажным. Так, при производстве серии таблеток общей массой одна тонна и содержании 20% действующего вещества, 75% наполнителя, 3% увлажнителя и 2% опудривающего вещества стоит предположить, что при трудностях с поставками вспомогательных веществ в Россию легче будет организовать доставку 30 кг увлажнителя и 20 кг опудривающего вещества, чем 750 кг наполнителя.

В качества наполнителя для импортозамещения развивается способ получения микрокристаллической целлюлозы (МКЦ) методом газофазного гидролиза, разработанный в Санкт-Петербургском Лесотехническом университете (ЛТУ). Этот метод позволяет получать МКЦ с меньшей себестоимостью в основном за счет уменьшения количества используемого хлористого водорода в процессе синтеза. Также из-за технологических условий процесса микробиологическое загрязнение возможно только после стадии отбеливания (одной из финальных стадий производства), а значит при промышленном производстве затраты на чистые помещения (воздушные фильтры, очистка и т.д.) будут значительно меньше, так как чистые зоны потребуются только для финальных стадий технологического процесса (измельчения, просева, упаковки).

На основании анализа составов таблеток из инструкций в государственном реестре лекарственных средств (ГРЛС) МКЦ является востребованным вспомогательным веществом во многих композициях таблеток. В частности, входит в состав трех самых продаваемых за декабрь 2021 года в аптечном сегменте лекарственных препаратов (ЛП): Арбидола, Эликвиса и Ксарелто [1]. В ГРЛС можно найти составы таблеток представленных препаратов, регистрационные номера: ЛСР-003900/07, ЛП-002007 и ЛП-002318, соответственно [2]. Так, в ретроспективе можно оценить натуральный объем продаж этих трех ЛП, разделив стоимостной объем аптечных продаж на среднюю стоимость упаковки и по данным из ГРЛС оценить массу МКЦ в проданных за выбранный период таблетках (табл. 1).

Таблица 1 – Анализ натурального объема рынка МКЦ для трех ЛП в декабре 2021 г.

Торговое наименование	Арбидол	Эликвис	Ксарелто
Доля от общего объема аптечных продаж в декабре 2021 г., % [1]	2,0	1,4	1,3
Стоимостной объем аптечных продаж в декабре 2021 г., млн руб. [1]	2 227,6	1 541,1	1 431,7
Примерная средняя цена за упаковку, руб.	300	1750	3000
Примерный объем продаж ЛП в декабре 2021 г., млн уп.	7,4	0,9	0,5
Среднее количество ед. ЛП в уп., шт. [2]	20	40	35
Примерный объем проданного ЛП в декабре 2021 г., в млн шт. таблеток	148,0	36,0	17,5
Масса МКЦ в одной таблетке, мг [2]	57,9	82,0	40,0
Примерная масса МКЦ в проданных ЛП в декабре 2021 г., кг	8 569,2	2 952,0	700,0
Итого, примерная масса МКЦ в трех ЛП, проданных в декабре 2021 г., кг	120221,2		

Таким образом, только для этих трех препаратов в розничном сегменте примерный объем потребления МКЦ составил 12 тонн за 1 месяц. Также стоит учесть, что эти препараты занимают в сумме 4,7% всего розничного сегмента, а розничный рынок занимает примерно 60% от общего объема фармацевтического рынка [1]. Помимо этого известно, что на продажу идет далеко не вся произведенная продукция – часть списывается как потери во время технологического процесса, часть уходит в таблетки, отправляющиеся на контроль качества и хранение для изучения стабильности. Таким образом, можно сделать вывод большой востребованности этого вспомогательного вещества и целесообразности импортозамещения МКЦ.

Для оценки возможности применения МКЦ, полученной методом газофазного гидролиза, были получены опытные образцы от коллег из ЛТУ для получения и анализа таблеток с использованием разных композиций вспомогательных веществ. По опыту предыдущей работы, связанной с изучением технологических свойств МКЦ, полученной методом газофазного гидролиза, было принято решение получать таблетки методом влажной грануляции с использованием в качестве растворителя водный раствор поливиниллпирролидона (ПВП)[3]. Также в ходе работы было решено оценить влияние соотношения разных вспомогательных веществ в составе таблетки на ее технологические свойства. Для этого использовались составы с разным содержанием МКЦ и лактозы.

Основная часть

В первой части работы в качестве АФС был выбран парацетамол, разные композиции которого уже изучались в ходе предыдущей работы по изучению данной МКЦ [3], поэтому было решено взять составы с сильным уклоном по массе наполнителя либо в сторону МКЦ, либо в сторону лактозы (табл. 2).

Работа проводилась в лабораторных условиях: грануляты готовились в ступке при постепенном добавлении увлажнителя до получения массы, уминающейся в комок, но не прилипающей к рукам, сушились при температуре 55 ^{0}С и протирались через сито с диаметром отверстий 1 мм. Грануляты опудривались стеаратом магния в аналоге «пьяной» бочки и прессовались при усилии прессования 0,3 кН. Грануляты и таблетки проверялись по ряду показателей качества (табл. 3).

Таблица 2 – Составы парацетамола

Соотношение МКЦ и лактозы	МКЦ/лактоза – 40 / 4		МКЦ/лактоза – 32 / 12		МКЦ/лактоза – 5 / 39	
Ингредиенты	На одну таблетку массой 400, мг	В %	На одну таблетку массой 400, мг	В %	На одну таблетку массой 400, мг	В %
Парацетамол	200	50	200	50	200	50
МКЦ	160	40	128	32	20	5
Лактоза	16	4	48	12	156	39
Крахмал	12	3	12	3	12	3
ПВП (в составе 20% водного раствора)	8	2	8	2	8	2
Стеарат магния	4	1	4	1	4	1
Итого	400	100	400	100	400	100

Таблица 3 – Свойства гранулятов и таблеток парацетамола разных составов

Соотношение МКЦ и лактозы	МКЦ/лактоза – 40 / 4	МКЦ/лактоза – 32 / 12	МКЦ/лактоза – 5 / 39
Сыпучесть 10 г гранулята, с	1,42	1,3	1,13
Прочность на раздавливание, Н	89,3	42,6	44,6
Истираемость, %	0,26	1,04	1,23
Распадаемость, мин	не распались	18	10

В ретроспективе можно выделить очень плохую смачиваемость МКЦ в процессе грануляции, что вылилось в некачественную грануляцию состава «40/4» и из-за большой доли непрогранулировавшегося порошка прочность таблеток оказалась слишком высокой, что губительно сказалось на распадаемости. Также в ходе первого эксперимента была получена другая косвенная информация о параметрах технологического процесса, позволившая в будущем провести более качественный анализ составов амброксола.

Во второй части работы в качестве АФС был использован амброксол. В сравнении с двумя составами разного содержания МКЦ и лактозы будет приводиться состав из ГРЛС без использования МКЦ (табл. 4) – регистрационное удостоверение PN003725/01 [2].

Таблица 4 – Составы амброксола

Соотношение МКЦ и лактозы	МКЦ/лактоза – 50 / 20		МКЦ/лактоза – 20 / 50		Только лактоза	
Ингредиенты	На одну таблетку массой 400, мг	В %	На одну таблетку массой 400, мг	В %	На одну таблетку массой 400, мг	В %
Амброксола гидрохлорид	30	7,5	30	7,5	50	12,5
МКЦ	80	20	200	50	-	-
Лактоза	200	50	80	20	285	71,25
Крахмал	78	19,5	78	19,5	60	15
ПВП (в составе 20% водного раствора)	8	2	8		-	-
Стеарат магния	4	1	4	1	5	1,25
Итого	400	100	400	100	400	100

Таблица 5 – Свойства гранулятов и таблеток амброксола разных составов

Соотношение МКЦ и лактозы	МКЦ/лактоза – 50 / 20	МКЦ/лактоза – 20 / 50	Только лактоза
Сыпучесть 10 г гранулята, с	1,35	1,07	0,98
Прочность на раздавливание, Н	78,6	102,8	97,4
Истираемость, %	0,35	0,40	0,30
Распадаемость, мин	9,0	8,5	10
Средняя масса таблетки, г	0,3903	0,4039	0,3838
Среднее квадратическое отклонение	0,0170	0,0109	0,0107
Относительное отклонение, %	1,36	0,79	0,88

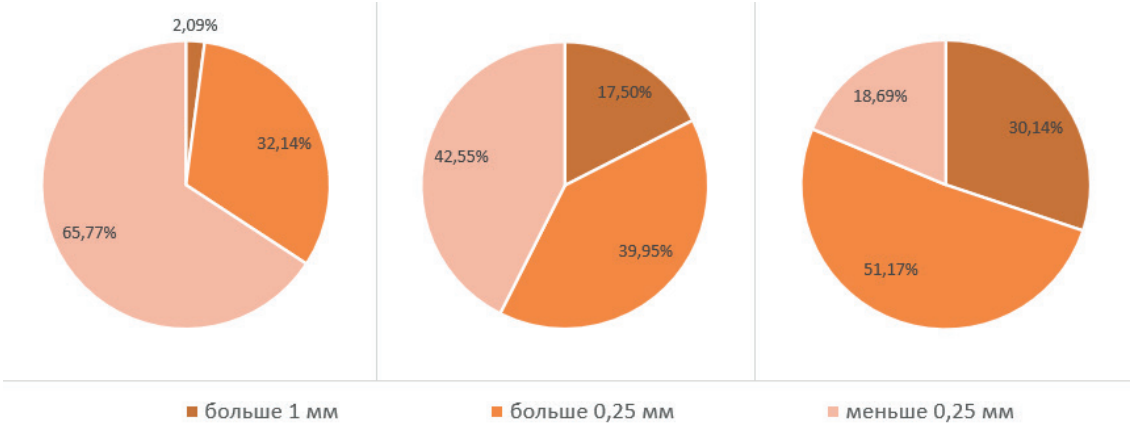


Рисунок 1. Диаграммы фракционных составов МКЦ/лактоза: 50/20, 20/50 и состава без МКЦ, соответственно

Почти по всем показателям (табл. 5) прослеживается четкая тенденция улучшения технологических свойств гранулятов и таблеток с уменьшением содержания МКЦ в таблетке. Чтобы наглядно показать влияние МКЦ на плохую смачива-

емость смеси при гранулировании приведены диаграммы фракционного состава смесей (рис. 1). Плохая смачиваемость приводит к тому, что часть сырья не агломерируется должным образом и остается в непрогранулированном состоянии. Уменьшение значений среднего квадратического отклонения и относительного отклонения дают нам понимание также о лучшей воспроизводимости технологии прессования при снижении доли МКЦ. При этом стоит отметить, что показатели таблеток с содержанием 50% МКЦ прошли все фармакопейные требования, даже оставляя некоторый запас надежности.

Заключение

В ходе выполнения работы было получено представление об объеме рынка МКЦ в качестве наполнителя для таблеток в фармацевтической промышленности в Российской Федерации. В результате воссоздания разных композиций вспомогательных веществ в таблетках парацетамола и амброксола получено представление о влиянии соотношения МКЦ и лактозы в таблетке на ее технологические свойства.

По результатам работы нельзя заявить, что предоставленные образцы МКЦ благоприятно влияют на свойства гранулятов и таблеток, однако, по результатам анализа полученных таблеток амброксола, таблетки вообще без использования МКЦ уступают аналогу с маленьким содержанием МКЦ по показателю распадаемости. Также косвенно был подтвержден тезис предыдущей работы по анализу МКЦ, полученной методом газофазного гидролиза, о том, что эта МКЦ уступает зарубежным аналогам [3]. Грануляты с повышенным содержанием МКЦ гораздо хуже смачиваются и уступают по всем показателям. Однако стоит отметить, что большинство таблеток с преимущественным содержанием МКЦ прошли фармакопейные испытания, а значит ее применение может быть экономически оправдано дешевизной сырья и возможными потенциальными проблемами с поставками зарубежных марок. Также важно упомянуть, что опытные образцы получены не на конечном варианте оборудования по гидролизу МКЦ. Наши коллеги из ЛТУ модернизируют процесс, чтобы промышленные серии минимально уступали зарубежным аналогам по качеству.

На данный момент я вижу три направления продолжения работы:

1. Закрепить полученные данные, проведя анализ разных составов таблеток с АФС лоратадин по аналогии с составами амброксола.

2. Воссоздать из каждого эксперимента состав с наибольшим количеством МКЦ, но использовать уже импортное сырье, чтобы оценить диапазон влияния на технологические свойства таблетки соотношения вспомогательных веществ и изменения марки МКЦ. Подтвердить или опровергнуть гипотезу о плохих технологических свойствах опытных образцов из-за неотработанной технологии производства МКЦ.

3. Воссоздать промышленные условия и сделать промышленную серию нескольких составов, чтобы оценить возможность применения МКЦ не только в лабораторных условиях, но и в промышленных.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.74.31 Наполнители и добавки общего и специального назначения

ЛИТЕРАТУРА

1. Фармацевтический рынок России 2021: аналит. Обзор. декабрь 2021 // DSM Group. [Электронный ресурс]. URL: https://dsm.ru/upload/iblock/76a/g9pj91lu2qh6xnhbsuxfqfpcfngk98md.pdf (Дата обращения 24.02.2022).

2. Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx (дата обращения: 24.02.2022).

3. Гришанин В.С. Сравнительное изучение возможности применения в технологии таблеток микрокристаллической целлюлозы, полученной методом газофазного гидролиза // Сборник материалов XI Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». Т.1. СПб., 2021. С. 137-140.

SUMMARY

POSSIBILITY OF APPLICATION OF MICROCRYSTALLINE CELLULOSE OBTAINED BY GAS-PHASE HYDROLYSIS METHOD IN THE TECHNOLOGY OF TABLETS

Amerkhanov R.Y., 4th year student (ORCID: 0000-0002-7307-3839)
Scientific supervisor: **Weinstein V.A.**, Dr. pharm sciences, prof.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: rus.amerkhan@gmai.com

The overview of technological properties of tablets produced using microcrystalline cellulose obtained by gas-phase hydrolysis method. Comparable study of tablets with different ratio of microcrystalline cellulose and lactose as diluents.

Keywords: *microcrystalline cellulose, MCC, tablets, excipients, diluents.*

REFERENCES

1. Pharmaceutical market of Russia 2021: a review. December 2021 // DSM Group. [Internet]. URL: https://dsm.ru/upload/iblock/76a/g9pj91lu2qh6xnhbsuxfqfpcfngk98md.pdf (appeal date 24.02.2022). (in Russian)
2. State register of medicines of the Russian Federation [Internet]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx (appeal date 24.02.2022). (in Russian)
3. Grishanin V.S. Comparative study of the possibility of application of microcrystalline cellulose obtained by gas-phase hydrolysis method in the technology of tablets // XI Conference of Students and Postgraduates with International Participation "Young Pharmacy Potential of the Future". T. 1. Saint-Petersburg. 2021. P. 137-140. (in Russian)

УДК 66.047.912

ОПТИМИЗАЦИЯ ВЫСОТЫ ПСЕВДООЖИЖЕННОГО СЛОЯ НА ОСНОВЕ ПРОЦЕССА МОДЕЛИРОВАНИЯ

Банайтис Р.П., маг. 1 года обучения
Руководитель: **Сорокин В.В.**, канд. фарм. наук, доцент
Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: banajtis.roman@pharminnotech.com

В ходе данной работы оптимизирована высота псевдоожиженного слоя при сушке лактозы безводной и целлюлозы микрокристаллической с помощью программы Barracuda Virtual Reactor с целью уменьшения потерь на операции и износа рукавного фильтра.

Ключевые слова: *оптимизация, псевдоожиженный слой, сушка, влагочувствительные вещества, вспомогательные вещества, моделирование.*

При производстве влагочувствительных препаратов предъявляются строгие требования к влажности используемых вспомогательных веществ. В связи с этим, в качестве подготовительной операции, может выполняться сушка вспомогательных веществ. Данный процесс требует отдельной проработки, поскольку физические характеристики отдельных вспомогательных веществ и гранулята могут сильно различаться, следовательно, использовать те же параметры оборудования и процесса невозможно.

При проведении процесса сушки вспомогательных компонентов впервые, например, при осуществлении трансфера технологии нового лекарственного препарата, необходимо однозначно определить требуемую скорость подающегося воздуха. В противном случае, некорректно выбранная скорость воздуха может привести к засорению рукавного фильтра мелкодисперсным материалом, а также к большому количеству потерь вспомогательных веществ, подвергаемых сушке.

Обусловлено это слишком высоким уровнем псевдоожиженного слоя, при котором основная его доля находится в верхней части камеры сушильного аппарата. На современных сушильных аппаратах псевдоожиженного слоя предусмотрена функция встряхивания и продувки рукавных фильтров, однако она не всегда может оказать должный эффект. При этом необходимо помнить о зависимости интенсивности сушки от скорости подаваемого воздуха. Слишком низка скорость подаваемого воздуха приведет к снижению коэффициента массоотдачи и увеличению продолжительности процесса сушки. Поэтому важно определить оптимальное соотношение «скорость воздуха/высота псевдоожиженного слоя» [1].

Целью данной работы явилось моделирования процесса псевдоожижения в специальном программном обеспечении *Barracuda Virtual Reactor*, позволяющее подобрать скорость воздуха, при которой уровень псевдоожиженного слоя будет находится в средней части аппарата.

Материалы и методы

Для моделирования псевдоожиженного слоя использовано программное обеспечение *Barracuda Virtual Reactor*. Данное ПО использует метод Multiphase particle-in-cell (3D-MPIC) method. Это численный метод моделирования взаимодействий частицы-жидкость и частицы-частицы в расчетах вычислительной гидродинамики (*Computational Fluid Dynamics – CFD)*. Данный метод обеспечивает большую стабильность, чем метод моделирования частиц в ячейках, за счет одновременной обработки твердых частиц как вычислительных частиц и как потока. В подходе MP-PIC свойства частицы отображаются из лагранжевых координат в эйлерову сетку с помощью функции интерполяции [2].

В процессе моделирования использованы лактоза безводная *(DMN-Fonterra Excipients GmbH & CO KG, CAS №63-42-3)*, целлюлоза микрокристаллическая *(JRS Pharma GmbH & CO, CAS №9004-34-6)*. Показатели, такие как: истинная плотность материала, насыпная плотность и фракционный состав, которые необходимы для построения модели приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Технологические параметры вспомогательных веществ

Вспомогательное веществ	Истинная плотность, к/м^3	Насыпная плотность, г/мл	Фракционный состав
Лактоза безводная 22 AN	1525	0,620	> 45 мкм – 6 % 45 – 150 мкм – 40 % 150 – 250 мкм – 77 % 250 мкм < – 100 %
Целлюлоза микрокристаллическая	1500	0,300	> 32 мкм – 17 % 32 – 75 мкм – 74 % 75 – 250 мкм – 99 % 250 мкм < – 100 %

В качестве оборудования, для которого производилось моделирование процесса псевдоожижения, выступала сушилка в псевдоожиженном слое производителя Cos.Mec (Италия), модель LFX 60 TW. Для построения 3D-модели оборудования использована программа SolidWorks. Параметры сушильной камеры приведены в таблице 2. Полученная 3D-модель приведена на рис. 1.

Таблица 2 – Параметры сушильной камеры

Параметр	Значение, мм
Высота сушильной камеры	1533
Высота продуктовой корзины	294
Диаметр сушильной камеры	612
Диаметр газораспределительной решетки	420

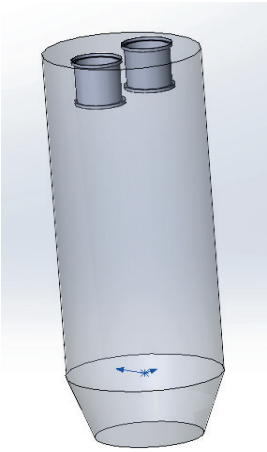


Рисунок 1. 3D модель сушилки псевдоожиженного слоя

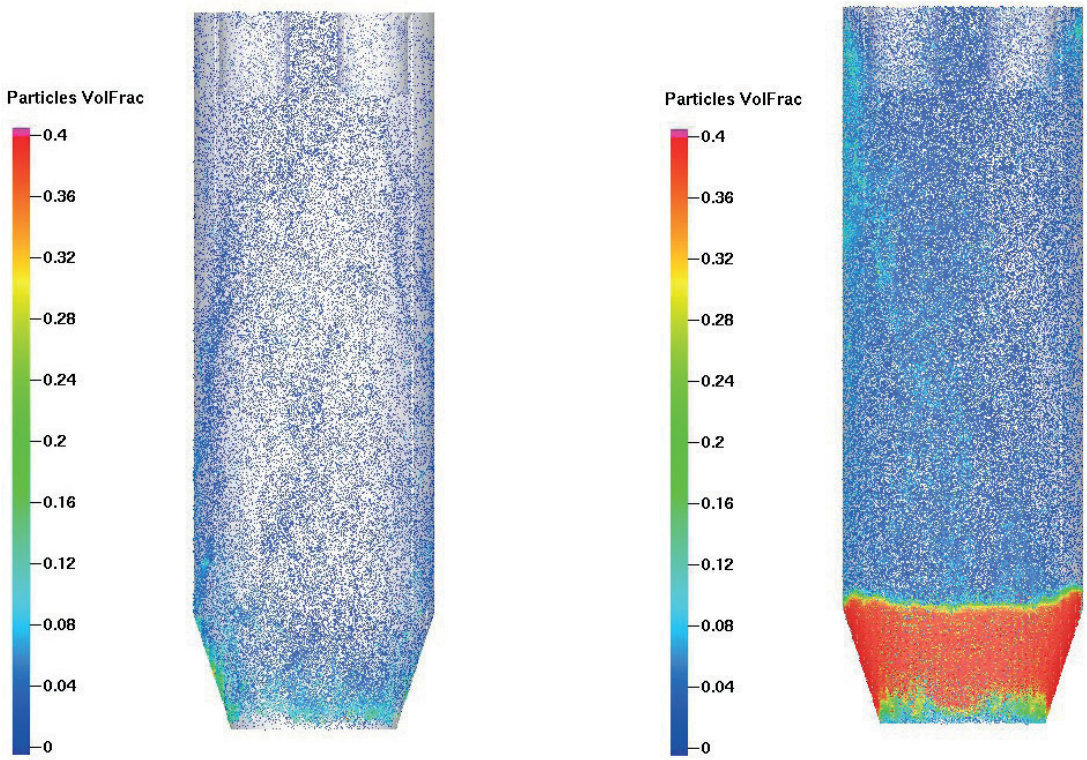
Технологические параметры процесса, заданные при создании модели псевдоожиженного слоя, приведены в таблице 3. В ходе исследования скорость подаваемого воздуха изменялась.

Таблица 3 – Параметры процесса

Параметр	Значение
Давление в камере сушилки	1 атм.
Температура входящего воздуха	25 °С
Исходная скорость воздуха	5 м/с
Масса целлюлозы, загруженной в корзину	18,0 кг
Масса лактозы безводной, загруженной в корзину	37,2 кг

Результаты моделирования оценивались визуально, по верхней границе псевдоожиженного слоя.

На первом этапе получены результаты для исходной скорости входящего воздуха, равной 5 м/с, для оценки приемлемости высоты псевдоожиженного слоя. Полученные результаты приведены на рис. 2.



а) б)

Рисунок 2. Исходная высота псевдоожиженного слоя для а) целлюлозы и б) лактозы

Исходя из рис. 2 можно сделать вывод, что витающие частицы находятся на уровне рукавных фильтров, в результате чего, свободно на нем оседают. Следовательно, установленная скорость входящего воздуха является некорректной для проведения процесса.

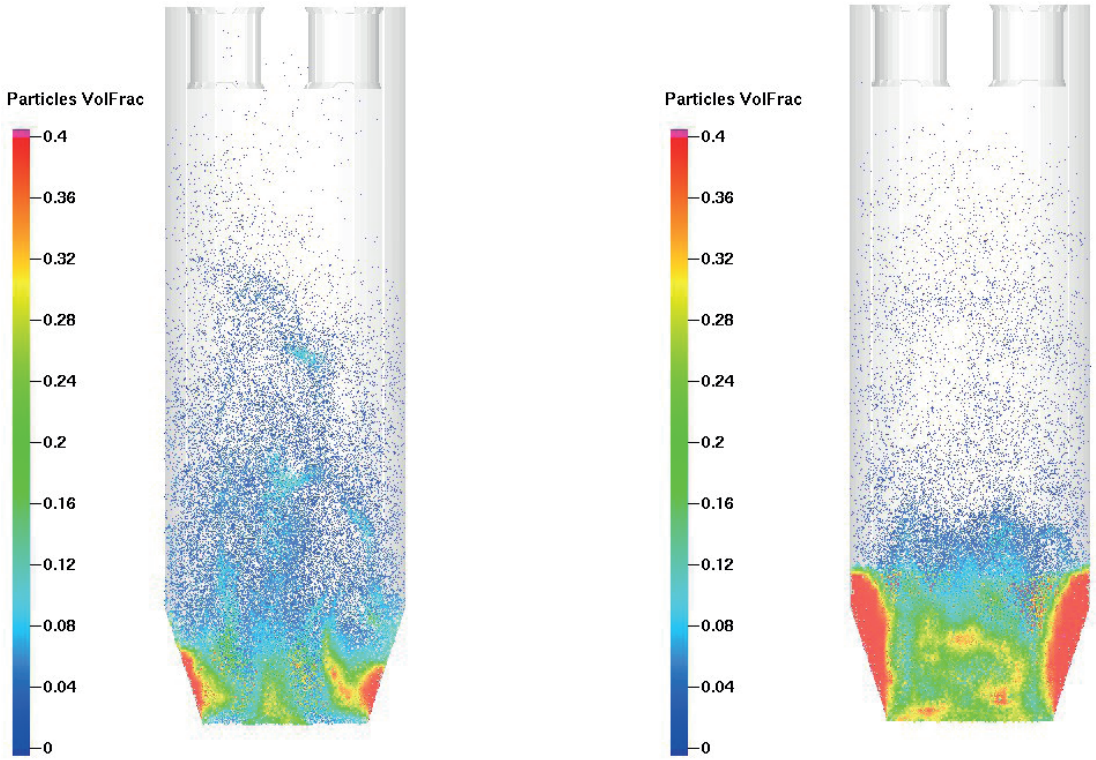
На втором этапе работы проводился подбор скорости входящего воздуха, для которой высота псевдоожиженного слоя является приемлемой. Шаг уменьшения скорости составлял 1 м/с до получения высоты слоя, не достигающей рукавных фильтров. В таблице 4 обозначены результаты в диапазоне скоростей 1-5 м/с.

Таблица 4 – Результаты второго этапа исследования

Установленная скорость, м/с	Лактоза безводная	Целлюлоза микрокристаллическая
5	–	–
4	–	–
3	–	–
2	–	–
1	+	+

Для обоих вспомогательных веществ при скорости входящего воздуха, равной 1 м/с, псевдоожиженный не достигал рукавных фильтров. Однако высота слоя едва ли достигает середины сушильной камеры, исходя из рис. 3. Следовательно, имеется запас по скорости воздуха, который необходим интенсификации процесса сушки.

В связи с этим на третьем этапе осуществлен выбор корректной скорости входящего воздуха в интервале 1–2 м/с. В результате, скорость входящего воздуха для сушки целлюлозы микрокристаллической составляет 1,3 м/с, для сушки лактозы безводной – 1,35 м/с. Высота псевдоожиженного слоя для принятых скоростей изображена на рис. 3.



а) б)

Рисунок 3. Высота псевдоожиженного слоя при выбранной скорости для а) целлюлозы и б) лактозы

Заключение

Таким образом, по результатам работы получена модель процесса сушки с помощью программного обеспечения *Barracuda Virtual Reactor*. С использованием модели определена скорость входящего воздуха при сушке в псевдоожиженном слое целлюлозы микрокристаллической и лактозы безводной, при которой высота псевдоожиженного слоя является оптимальной.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность
61.01.00 Общие вопросы химической технологии и химической промышленности
61.55.09 Сырье и вспомогательные материалы
61.45.00 Технология химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Фролов В.Ф. Лекции по курсу «Процессы и аппараты химической технологии». СПб.: ХИМИЗДАТ, 2020. 608 с.
2. Программное обеспечение CPFD Software. [Электронный ресурс] URL: https://cpfd-software.com/

SUMMARY

OPTIMIZATION OF THE FLUIDIZED BED HEIGHT BASED ON THE MODELING PROCESS

Banaytis R.P., 1st year undergraduate
Scientific supervisor: **Sorokin V.V.**, Candidate of Pharmacy science, associate professor
St. Petersburg Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: banajtis.roman@pharminnotech.com

In the course of this work, the height of the fluidized bed was optimized during the drying of anhydrous lactose and microcrystalline cellulose using the Barracuda Virtual Reactor program in order to reduce operation losses and wear of the bag filter.

Keywords: *optimization, fluid bed drying, drying, hygroscopic excipient, excipients, modeling.*

REFERENCES

1. Frolov V.F. Lectures on the course «Processes and apparatuses of chemical technology» St. Petersburg: KHIMIZDAT, 2020. 608 p. (in Russian)
2. CPFD Software. [Internet] URL: https://cpfd-software.com/

УДК 615.32: 615.453.7

ЛЕДЕНЦЫ НА ОСНОВЕ ФИТОСУБСТАНЦИЙ, КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА

Богомолова Е.А., студ. 2 курса (ORCID: 0000-0003-0814-8379)
Руководитель: **Абросимова О.Н.**, канд. фарм. наук, доц.
(ORCID: 0000-0002-0274-0139)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ekaterina.bogomolova@spcpu.ru

В статье представлен обзор по лекарственной форме «Леденцы», рассмотрены преимущества и недостатки по отношению к другим лекарственным формам. Выделены основные стадии технологического процесса, определены группы вспомогательных веществ, необходимые для получения леденцов, отвечающих требованиям Государственной Фармакопеи (ГФ). Обоснована целесообразность разработки леденцов на основе фитосубстанций.

Ключевые слова: *леденцы, лекарственное растительное сырье, лекарственная форма, фитосубстанция.*

Разработка лекарственных средств на основе лекарственного растительного сырья (ЛРС) остается актуальной задачей в современной фармацевтической практике, так как фитопрепараты обладают рядом преимуществ: широкий спектр фармакологической активности, безопасность при рациональном применении, отсутствие многих побочных эффектов, в том числе и риска развития резистентности патологической микрофлоры. С другой стороны, не менее актуальна задача разработки разнообразных лекарственных форм на основе фитопрепаратов, представляющих собой, как правило, спирто-водные извлечения из ЛРС, которые обеспечивали бы лекарственный препарат теми или иными свойствами, необходимыми для конкретной области применения [1, 2]. Задача расширения возможностей использования отечественного лекарственного растительного сырья, отличающегося эффективностью и безопасностью, является одним из основных стратегических направлений развития фармацевтической отрасли Российской Федерации согласно «Стратегии лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 года» [3].

В Государственной фармакопее Российской Федерации XIV [4] впервые введена общая фармакопейная статья «Леденцы», согласно которой леденцы – твердая дозированная лекарственная форма, получаемая способом выливания, содержащая одно или несколько действующих веществ, равномерно распределенных в соответствующей основе, и предназначенная для рассасывания с целью оказания местного действия в полости рта и глотке.

Постепенное всасывание биологически активных лекарственных веществ через слизистые полости рта и горла является преимуществом при назначении лечения пациентам, которые не могут глотать твердые лекарственные препараты. В большинстве случаев леденцы используют при воспалительных заболеваниях полости рта и горла в качестве лекарственных средств анестезирующего или антибактериального спектра действия. За счет поддержания концентрации активного вещества на уровне терапевтической дозы достигается длительность воздействия на поверхность слизистой оболочки, а лекарственные вещества остаются стабильными в массиве газонепроницаемой карамели. Такие лекарственные препараты отличаются относительно невысокой стоимостью и малыми затратами времени на производство. Использование нескольких действующих веществ обеспечивает возможность разработки лекарственных для пациентов с различными хроническими заболеваниями. Леденцы характеризуются удобством в применении (особенно в педиатрической и гериатрической практике), имеют эстетический внешний вид, приятный вкус и запах [5-13].

Несмотря на широкий ряд преимуществ, невозможно исключить существующие недостатки леденцов. Вероятность бесконтрольного употребления лекарственных препаратов детьми, пациентами с нарушениями когнитивных функций и риск их случайного проглатывания. Содержание сахара в леденцах необходимо учитывать при назначении их больным сахарным диабетом, а также лицам, находящимся на низкокалорийной диете. При разработке состава лекарственных препаратов в форме леденцов важным аспектом будет являться необходимость минимизации отрицательного воздействия карамели на зубную эмаль [5-13].

Леденцы получают методом выливания. В таблице приведены вспомогательные вещества, применяемые в производстве леденцов [8].

Таблица – Вспомогательные вещества, применяемые в производстве леденцов

Группа вспомогательных веществ	Примеры вспомогательных веществ
Основа	Мальтоза, сахароза, декстроза, глюкоза
Связующие	Кукурузный сироп, сахарный сироп, желатин, поливинилпирролидон, метилцеллюлоза
Смазывающие	Стеариновая кислота, стеарат магния, стеарат кальция, полиэтиленгликоль, растительные масла и жиры
Ароматизаторы	Ментол, эвкалиптовое масло, вишневый ароматизатор, мята и другие
Красители	Каротин, хлорофилл, индигокармин, эозин, титана диоксид и другие, разрешенные для применения в пищевой и фармацевтической промышленности
Загустители	Желатин, ксантановая камедь, крахмал, пектин, альгин и каррагинан
Увлажнители	Глицерин, пропиленгликоль и сорбит

Основные стадии технологического процесса представлены на рисунке 1.

Рисунок 1. Основные стадии в технологии леденцов [14]

На рисунке 2 представлены леденцы-плацебо, полученные в лабораторных условиях согласно предложенной технологии.

Рисунок 2. Леденцы-плацебо

Поскольку стоимость разработки нового химического вещества очень высока, фармацевтические компании в настоящее время сосредоточены на разработке новых систем доставки лекарственных средств с улучшенной эффективностью и биодоступностью, применение которых будет способствовать минимизации побочных эффектов. Установлено, что леденцы на основе фитосубстанций как лекарственная форма способны удовлетворить этим требованиям [1, 6, 8].

На сегодняшний день на российском фармацевтическом рынке [15] отсутствуют лекарственные препараты в форме леденцов, однако сведения, полученные из проанализированных источников, позволяют утверждать, что научная деятельность, направленная на проведение дальнейших исследований, которые смогут послужить отправной точкой на пути к появлению лекарственных препаратов в виде данной формы на рынке, является перспективной.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Обоснование состава и разработка технологии изготовления леденцов на основе фитопрепарата «Дентос» / Н.Р. Варина [и др.] // Международный журнал экспериментального образования. 2015. N 12 (часть 4). С. 492-495.

2. Акамова А.В., Немятых О.Д., Наркевич И.А. Многовекторный маркетинговый анализ российского рынка фитопрепаратов // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. N 4. С. 276-280.

3. Об утверждении Стратегии лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 года и плана ее реализации : Приказ от 13 февраля 2013 г. № 66 (ред. от 13.07.2021) [Электронный ресурс]. URL: https://docs.cntd.ru/document/499003360

4. Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронный ресурс]. URL: https://femb.ru/

5. Физико-химические и технологические аспекты разработки сублингвальных таблеток / А.М. Шевченко [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2015. N 2 (часть 2). С. 481-481.

6. Development and characterization of paracetamol medicated lollipops / H. A. Hejaz [et al.] // Pharmaceutical Technology in Hospital Pharmacy. 2020. Vol. 5(1). P. 20200012. https://doi.org/10.1515/pthp-2020-0012.

7. Pundir S., Lal Verma A.M. Review article on Lozenges // Journal der Pharmazie Forschung. 2014. N 2. P. 1–10.

8. Chewable lozenge formulation: A review / M.S. Umashankar [et al.] // International Research Journal of Pharmacy. 2016. Vol. 7(4). P. 9-16. https://doi.org/10.7897/2230- 8407.07432

9. Sevinç Özakar R., Kara M., Maman A. Preparation, characterization, and radiation absorption study of bentonite clay included soft chewable lozenge formulations // Journal of Pharmacy Technology. 2020. Vol. 1(3). P. 54-59. https://doi.org/0.37662/jpt.2021.7

10. Majekodunmi S.O. A review on lozenges // American Journal of Medical Sciences and Medicine. 2015. Vol. 5(2). P. 99-104. https://doi.org/ 10.5923/j.ajmms.20150502.07.

11. Choursiya S., Andheriya D. Review on lozenges // Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2018. Vol. 8(6-A). P. 124-128.

12. Allen LV. Troches and lozenges // Secundum Artem. 1998. Vol. 4(2). P. 23-25.

13. Development and in-vitro evaluation of candy based medicated lollipops: a novel system of drug delivery / M. Rathod [et al.] // Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2018. Vol. 8(4). P. 196-204. https://doi.org/10.22270/jddt.v8i4.1764.

14. Shojaei H.A. Development of medicated Lozenges // Journal of Pharmaceutical Sciences. 1998. Vol. 1(1). P.15-30.

15. Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx. (Дата обращения 03.03.2022).

SUMMARY

LOLLIPOPS BASED ON PHYTOSUBSTANCES AS A PROMISING DOSAGE FORM

Bogomolova E.A., 2nd year student (ORCID: 0000-0003-0814-8379)
Academic advise: **Abrosimova O.N.,** Candidate of Pharmaceutical Sciences, docent
(ORCID: 0000-0002-0274-0139)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: ekaterina.bogomolova@spcpu.ru

The article presents an overview of the dosage form «Lollipops», the advantages and disadvantages in relation to other dosage forms are considered. The main stages of the technological process are highlighted, defined groups of excipients required for the production of lollipops that meet the requirements of the State Pharmacopoeia. The expediency of development of lollipops on the basis of phytosubstances is substantiated.

Keywords: *lollipops, medicinal herbal ingredients, dosage form, phytosubstance.*

REFERENCES

1. Justification composition and development of technology for the manufacture of lollipops based on phytopreparation «Dentos» / N.R. Varina [et al.] // International Journal of Experimental Education. 2015. N 12 (part 4). P. 492-495 (in Russian)

2. Akamova A.V., Nemyatykh O.D., Narkevich I.A. Multiple view marketing analysis of the russian plant-based drugs market // Drug development and registration. 2017. N 4. P. 276-280. (in Russian)

3. On approval of the Strategy of drug provision of the population of the Russian Federation for the period up to 2025 and its implementation plan : Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of February 13, 2013 № 66. [Internet] URL: https://docs.cntd.ru/document/499003360 (in Russian)

4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. [Internet] URL: https://femb.ru/ (in Russian)

5. Physico-chemical and technological aspects of the development of sublingual tablets / A.M. Shevchenko [et al.] // Modern problems of science and education. 2015. N 2 (part 2). P. 481-481. (in Russian)

6. Development and characterization of paracetamol medicated lollipops / H. A. Hejaz [et al.] // Pharmaceutical Technology in Hospital Pharmacy. 2020. Vol. 5(1). P. 20200012. https://doi.org/10.1515/pthp-2020-0012.

7. Pundir S., Lal Verma A.M. Review article on Lozenges // Journal der Pharmazie Forschung. 2014. N 2. P. 1–10.

8. Chewable lozenge formulation: A review / M.S. Umashankar [et al.] // International Research Journal of Pharmacy. 2016. Vol. 7(4). P. 9-16. https://doi.org/10.7897/2230- 8407.07432

9. Sevinç Özakar R., Kara M., Maman A. Preparation, characterization, and radiation absorption study of bentonite clay included soft chewable lozenge formulations // Journal of Pharmacy Technology. 2020. Vol. 1(3). P. 54-59. https://doi.org/0.37662/jpt.2021.7

10. Majekodunmi S.O. A review on lozenges // American Journal of Medical Sciences and Medicine. 2015. Vol. 5(2). P. 99-104. https://doi.org/ 10.5923/j.ajmms.20150502.07.

11. Choursiya S., Andheriya D. Review on lozenges // Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2018. Vol. 8(6-A). P. 124-128.

12. Allen LV. Troches and lozenges // Secundum Artem. 1998. Vol. 4(2). P. 23-25.

13. Development and in-vitro evaluation of candy based medicated lollipops: a novel system of drug delivery / M. Rathod [et al.] // Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2018. Vol. 8(4). P. 196-204. https://doi.org/10.22270/jddt.v8i4.1764.

14. Shojaei H.A. Development of medicated Lozenges // Journal of Pharmaceutical Sciences. 1998. Vol. 1(1). P. 15-30.

15. State registry of medicinal products [Internet] URL: https://grls.rosminzdrav.ru/ (Date of treatment 03/03/2022). (in Russian)

УДК 58.085

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ПРЕДПОСЕВНОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО МАТЕРИАЛА ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО *SCUTELLARIA BAICALENSIS GEORGI* В УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ *IN VITRO*

Бронских Е.Д., студ. 3 курса
Руководитель: **Пивоварова Н.С.,** к.фарм.н., доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ekaterina.bronskih@spcpu.ru

Среди важнейших областей современной биотехнологии особое место занимает микроклональное размножение растений, находящее широкое практическое применение, в том числе и для сохранения редких видов лекарственных растений. В статье предложена схема стерилизации семян и проростков *S. baicalensis*, позволяющая получать оптимальное соотношение количества жизнеспособных эксплантов и процента контаминации при введении их в условия выращивания *in vitro*.

Ключевые слова: *микроклональное размножение, стерилизация, Шлемник байкальский S. baicalensis, гипохлорит натрия, перекись водорода, УФ излучение, in vitro.*

Введение. Одной из глобальных проблем современности стало стремительное сокращение и исчезновение ареалов произрастания лекарственных растений. Загрязнение окружающей среды, иррациональная хозяйственная деятельность, чрезмерное использование природных ресурсов приводит к снижению объемов биоразнообразия растений. Поэтому одним из приоритетных направлений национальной экологической политики является применение эффективных методов для сохранения и восстановления редких и ценных видов растений. В настоящее время исследователи, для решения данной задачи, используют методы фитобиотехнологии.

Шлемник байкальский – многолетнее травянистое растение семейства *Lamiaceae*, которое обладает широчайшим спектром биологически активных веществ. Метаболомный анализ *S. baicalensis* показал, что растение в целом содержит более 2000 химических соединений, среди них 781 предположительно имеет лекарственные свойства.

Шлемник байкальский содержит ряд биологически активных веществ, ценных для человека – это флавоноиды (байкалин, байкалеин, вогонин, скутеллярин), кумарины, большое количество пирокатехинов, крахмал, дубильные вещества, липиды и др.

Особый интерес вызывают флавоны шлемника: байкалеин, вогонин и их глюкурониды – байкалин и вогонозид, которые обладают антимикробным, гипотензивным, гемостатическим и цитотоксическим действием.

Ареал распространения *S. baicalensis* в России ограничен. Он встречается в Восточном Забайкалье, среднем Приамурье и юго-западном Приморье. Протяженность ареала произрастания с запада на восток превышает 1500 км, с севера на юг – 1000 км. Учитывая это, его заготовка как ценного лекарственного растения может привести к истощению природных популяций, поэтому большую роль приобретает изучение альтернативных путей его культивирования [1, 2].

Перспективным направлением биотехнологии является метод микроклонального размножения. При небольшом количестве исходного материала в кратчайшие сроки при использовании этого метода удается получить большее число растений и потомство, генетически идентичное исходному виду или форме [3].

На результативность микроклонального размножения влияет много факторов, как эндогенного, так и экзогенного характера. Поскольку значительная часть растительного материала теряется на первых этапах при разработке протоколов микроразмножения, важно правильно определить и применить приемы и методы выделения и стерилизации эксплантов. При размножении в культуре *in vitro* растений существует ряд ограничений, связанных, в первую очередь, с небольшим объемом растительного материала, находящегося в распоряжении экспериментатора [4].

Также серьезные затруднения при введении в культуру вызывают внутренние инфекции, наличие грибов или бактерий внутри эксплантa, имеющего ослабленный иммунитет. Различные контаминации снижают скорость роста, коэффициент размножения и даже вызывает гибель растения. Поэтому большое значение имеет эффективность стерилизации эксплантов перед получением посадочного материала. Она зависит от стерилизующего агента, а главным образом – от правильно подобранной концентрации и продолжительности времени обработки стерилизующим соединением, с целью освобождения от инфекции и получения высокого выхода жизнеспособных, регенерирующих эксплантов [4, 5].

Таким образом, разработав рациональный подход для предпосевной обработки растительного материала, можно добиться снижения уровня контаминации, повышения качества посевного материала, а также создания благоприятных условий для роста и развития культуры в условиях выращивания *in vitro*. Поэтому **целью** нашего исследования является выбор оптимального метода предпосевной стерилизации растительного материала *S. Baicalensis* для получения жизнеспособных и не контаминированных эксплантов в условиях выращивания *in vitro*.

Исходя из цели, были поставлены **задачи исследования**:

1. Изучить методы предпосевной стерилизации растительных объектов в условиях выращивания *in vitro*.
2. Установить наиболее лучший способ стерилизации семян и проростков *S. Baicalensis* при введении их в условия выращивания *in vitro*.

Материалы и методы

Для асептического введения в культуру *in vitro* использовали семена Шлемника байкальского *Scutellaria baicalensis Georgi*.

Получение эксплантов осуществлялось двумя путями:

1. Проращиванием семян в асептических условиях на питательной среде.
2. Выращиванием проростков из семян на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри и их дальнейшая пересадка на питательную среду.

Культивирование осуществляли на стерильной питательной среде Мурасиге – Скуга с добавлением цитокининов НУК в концентрации 6 мг/л, кинетина в концентрации 2 мг/л, а также тиамина в концентрации 1 мг/л. Проращивание проводили в темноте при температуре +25°С и относительной влажности воздуха 60-70%. Ёмкости с проростками размещали на стеллажах световой установки культурального помещения при температуре +25°С, фотопериоде день/ночь – 16/8 ч, освещенности 6000 лк, относительной влажности воздуха 60-70%.

Стерилизацию исходного материала проводили по схеме:

1. промывка проточной водой;
2. обработка 70% раствором этанола;
3. обработка стерилизующим агентом;
4. трёхкратная промывка автоклавированной водой очищенной.

В качестве стерилизующих агентов выбраны 3,5% р-р белизны (гипохлорит натрия) с различным временем экспозиции, 3% р-р H_2O_2 (24 ч) и УФ излучение (30 мин).

Для оценки успешности стерилизации учитывали жизнеспособность объектов и наличие контаминации.

Результаты и обсуждения

Для получения жизнеспособной растительной культуры в условиях *in vitro* следует предварительно подобрать правильные условия для стерилизации посевного материала. Стерилизующие агенты по степени дезинфицирующего действия условно делятся на вещества, обладающие сильным, средним и слабым дезинфицирующим действием [4]. Так, выбранные нами, «Белизна» и перекись водорода относятся к соединениям со средним и слабым дезинфицирующим действием соответственно. Поэтому следовало подобрать такие концентрации стерилизующих агентов и экспозиции, которые не повреждали бы семена, не угнетали их всхожесть, а также обеспечивали максимальную стерильность.

Таблица 1 – Результативность применения различных способов стерилизации семян *S. Baicalensis*

Способ стерилизации	Кол-во проросших семян	Кол-во некротизированных проростков	% выживших	% контаминации
3.5% р-р белизны (10 мин)	18	2	89	5
3% р-р H_2O_2	2	0	100	50
УФ	8	0	100	65

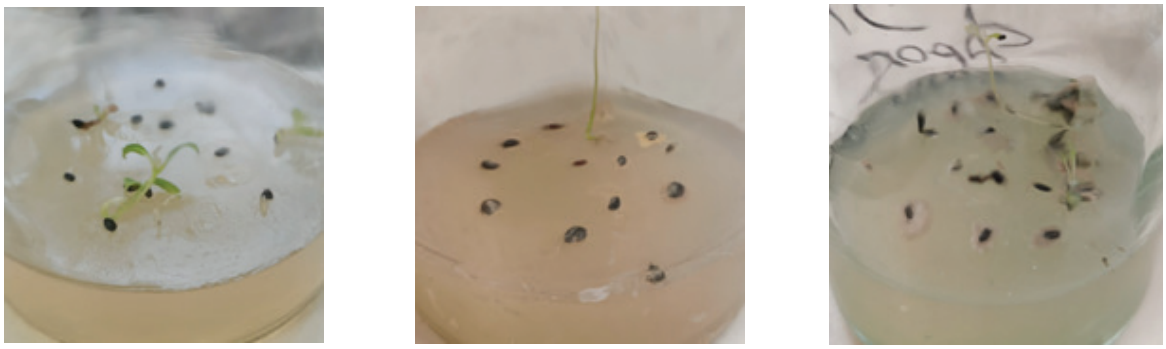
В литературе описано много различных соединений, применяемых для биоцидной обработки эксплантов. Чаще всего используют гипохлориты («Белизна») в виде 3,5-10% раствора с временем воздействия от 5 до 20 минут. Соединения гипохлоритов являются клеточным ядом, поэтому оказывают высокое повреждающее воздействие на растительные объекты [4].

В нашем опыте мы использовали 3,5% р-р белизны с временем экспозиции 10 минут. Такой способ стерилизации позволяет сократить уровень контаминации до 5%. Выживаемость проростков составляет 89%.

Для более щадящего воздействия выбрали 3% р-р H_2O_2 с временем выдержки 24 часа, так как перекись водорода, по сравнению с другими стерилизующими соединениями, оказывает наименьшее повреждающее действие на экспланты. В результате проведенного опыта контаминация составляла 50% при уровне выживаемости 100%.

В последние годы в практику стали внедрять электротехнологические методы воздействия на растения и семена для их предпосевной обработки. Одним из перспективных направлений является использование УФ излучения, так как известно, что оно оказывает бактерицидное воздействие, а также стимулирует рост растений [4].

Семена обрабатывали в полуасептичных условиях УФ лампой при длине волны 302-365 нм в течение 30 минут. При таком способе стерилизации наблюдался максимальный уровень контаминации (65%), при этом выживаемость проростков составляла 100%.



3.5% р-р белизны | 3% р-р H_2O_2 | УФ

Рисунок 1. Внешний вид семян *S. Baicalensis* после применения различных способов стерилизации

При проращивании семян на питательной среде в асептичных условиях наблюдался малый процент всхожести (рис. 1), поэтому принято решение о вводе в культуру *in vitro* проростков растений.

После изучения результативности применения различных способов стерилизации семян в качестве стерилизующего объекта выбрали 3,5% р-р белизны, так как при его использовании наблюдалась минимальная контаминация. Стерилизацию эксплантов проводили при достижении длины стебля 2,5-3 см.

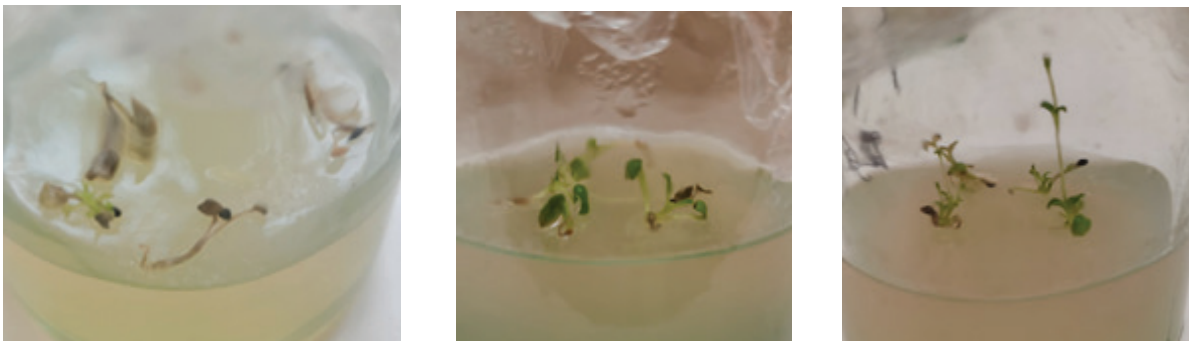
Таблица 2 – Результативность применения различных способов стерилизации проростков *S. Baicalensis*

Способ стерилизации	Кол-во посаженых	Кол-во жизнеспособных	Кол-во некротизированных	% выживших	% контаминации
70% р-р этанола (30 сек)+ +3.5% белизна (5 мин)	20	0	20	0	8
70% р-р этанола (30 сек)+ +3.5% белизна (2 мин)	20	9	11	45	12
70% р-р этанола (2 мин)	15	12	3	80	40

Проростки обрабатывали 70% р-ром этанола (30 сек.) и 3,5% белизной (5 мин). При таком методе стерилизации в течение 14 дней наблюдался некроз тканей и гибель всех объектов. При этом контаминация минимальна и составляла 5%.

Для уменьшения повреждающего воздействия на экспланты сократили время экспозиции в 3,5% белизне до 2 минут. Такой способ обработки позволил увеличить выживаемость проростков до 24%, контаминация не превышала 12%.

Для полного предупреждения некроза тканей решили отказаться от воздействия основного стерилизующего агента (рис. 2), а проводить обработку только 70% р-ром этанола с увеличением времени выдержки до 2 минут. В результате проведенных опытов наблюдали 80% выживаемость проростков, при этом уровень контаминации увеличился до 40%.



70% р-р этанола (30 сек)+ +3.5% белизна (5 мин) | 70% р-р этанола (30 сек)+3.5% белизна (2 мин) | 70% р-р этанола (2 мин)

Рисунок 2. Внешний вид проростков *S. Baicalensis* после применения различных способов стерилизации

Заключение

Культивирование растений в условиях *in vitro* играет важную роль в сохранении биоразнообразия дикорастущих лекарственных растений. Такой подход становится альтернативным методом получения в короткие сроки оздоровленных объектов для возврата в естественные условия произрастания. Кроме того, микроклональное размножение применимо для получения посадочного материала в лекарственном растениеводстве.

Установлено, что на этапе введения в культуру *in vitro* необходимо максимально снизить уровень инфицированности растительного материала. Для этого применяют различные химические соединения. Подобрав оптимальные условия (концентрацию и время воздействия стерилизующего агента) можно добиться высоких показателей стерильности и жизнеспособности эксплантов.

В ходе проведенных исследований нами было установлено, что**:**

1) Эффективным способом стерилизации семян *S. Baicalensis* является обработка 3,5% р-ром белизны с временем экспозиции 10 минут, так как контаминация в таком случае не превышает 5%.

2) Для уменьшения повреждающего воздействия при стерилизации на проростки *S. Baicalensis* можно использовать 70% р-р этанола как самостоятельный стерилизующий агент при увеличении времени его воздействия до 2 минут.

3) Получению качественного посевного материала *S. Baicalensis* для введения в культуру *in vitro* способствует стерилизация семян и дальнейшее их проращивание в асептичных условиях, так как в таком случае наблюдается оптимальное соотношение количества жизнеспособных эксплантов и процента их контаминации.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00 Биотехнология

62.33.29 Культивирование растительных клеток и тканей

ЛИТЕРАТУРА

1. Бронских Е.Д., Орехова И.А., Шебитченко Т.С. Изучение процессов метаболизма и накопления вторичных метаболитов в культуре ткани Шлемника байкальского Scutellaria baicalensis georgi // Сборник материалов конференции «Молодая фармация – потенциал будущего», 15 марта – 23 апреля 2021г. Т. 1. 2021. С. 123-126.

2. Зарипова А.А. Введение в культуру in vitro Шлемника байкальского // Бюллетень ботанического сада саратовского государственного университета. 2016. Т. 14. N 1. С. 94-98.

3. Доан Т.Т., Калашникова Е.А., Молканова О.И. Клональное микроразмножение редких и исчезающих видов растений // Известия ТСХА. 2012. N 5. С. 48-52.

4. Бронских Е.Д., Пивоварова Н.С. Обзор методов предпосевной стимуляции семян и стерилизации растительных объектов в условиях выращивания in vitro // Сборник научных трудов IX Международная научная конференция молодых учёных «Современные тенденции развития технологий здоровьсбережения». М.: ФГБНУ ВИЛАР, 2021. С. 103-109. doi.org/10.52101/9785870191027_2021_103

5. Микроклональное размножение растений / В. Демидчик [и др.] // Наука и инновации. 2019. N 6(196). С. 4-11.

SUMMARY

COMPARISON OF THE METHODS OF PRE-SOWING STERILIZATION OF THE PLANT MATERIAL OF *SCUTELLARIA BAICALENSIS GEORGI* UNDER *IN VITRO* GROWTH CONDITIONS

Bronskikh E.D., 3rd year student

Scientific supervisor: **Pivovarova N.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Assoc. professor

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: ekaterina.bronskih@spcpu.ru

Among the most important areas of modern biotechnology, a special place is occupied by microclonal propagation of plants, which finds wide practical application, including for the conservation of rare species of medicinal plants. The article proposes a scheme for the sterilization of seeds and seedlings of S. baicalensis, which makes it possible to obtain the optimal ratio of the number of viable explants and the percentage of contamination when they are introduced into in vitro growing conditions.

Keywords: *micropropagation, sterilization, Baikal skullcap S. baicalensis, sodium hypochlorite, hydrogen peroxide, UV radiation, in vitro.*

REFERENCES

1. Bronskikh E.D., Orekhova I.A., Shebitchenko T.S. Studying the processes of metabolism and accumulation of secondary metabolites in the culture of the Baikal skullcap tissue Scutellaria baicalensis georgi // Proceedings of the conference «Young pharmacy – the potential of the future», March 15 – April 23, 2021. T. 1. 2021. P. 123-126. (in Russian)

2. Zaripova A. A. Introduction to culture in vitro of the Baikal Skullcap // Byulleten of the botanical garden of Saratov State University. 2016. Vol. 14. N 1. P. 94-98. (in Russian)

3. Doan T.T., Kalashnikova E.A., Molkanova O.I. Clonal micro-reproduction of rare and endangered plant species // Izvestiya TSKHA. 2012. N 5. P. 48-52. (in Russian)

4. Bronskikh E.D., Pivovarova N.S. Review of methods of pre-sowing stimulation of seeds and sterilization of plant objects under in vitro growing conditions // Collection of scientific papers IX International Scientific Conference of Young scientists «Modern trends in the development of health-saving technologies». M.: VILAR State Medical University, 2021. P. 103-109. doi.org/10.52101/9785870191027_2021_103 (in Russian)

5. Microclonal reproduction of plants / V. Demidchik [et al.] // Science and innovation. 2019. N 6(196). P. 4-11. (in Russian)

УДК 57:085.23

ИЗУЧЕНИЕ РОСТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ ГАРДЕНИИ ЖАСМИНОВИДНОЙ

Бугаев А.С., студ. 4 курса
Руководитель: **Пивоварова Н.С.**, канд. фарм. наук, доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: artem.bugaev@spcpu.ru

Изучены основные ростовые характеристики клеточной культуры гардении жасминовидной с целью определения оптимальных сроков культивирования. По результатам исследования получены данные для построения динамических графиков роста, определены основные ростовые характеристики. Выявлено, что фаза замедления роста наступает позднее, чем у каллусных культур других растений. Гардения жасминовидная относится к долгорастущим культурам. Для изучения морфологии растительных клеток проведена микроскопия образца.

Ключевые слова: *культура растительных клеток, гардения жасминовидная, ростовые характеристики.*

Известно, что многие биологически активные вещества, применяемые в фармацевтической, пищевой, косметической и парфюмерной промышленности, получают из растительного сырья [1].

Гардения жасминовидная (лат. Gardenia jasminoides, syn. Gardenia augusta) – вид древесных растений рода Гардения (Gardenia) семейства Мареновые (Rubiaceae), относится к лекарственным [2]. Гардения жасминовидная является растением, применяемым в народной медицине, и используется как жаропонижающее, противовоспалительное и кровоостанавливающее средство. В китайской традиционной медицине применяется в качестве антиспастического средства при головных болях и заболеваниях дыхательных путей, воспалении желчных путей и желудочно-кишечного тракта, в качестве мочегонного средства при заболеваниях почек, как симптоматическое – при бессоннице и переутомлении [3].

Актуальность работы определена тем, что получение каллусной культуры гардении жасминовидной позволит в дальнейшем провести изучение химического состава и фармакологических свойств биологически активных веществ.

Целями данной работы являлись:

1. Определение оптимального срока культивирования каллусной культуры гардении жасминовидной для получения наибольшего прироста биомассы.
2. Изучение морфологии клетки.

Для достижения поставленных целей сформулировали следующие задачи:

1. Определить значения основных ростовых характеристик и построить графики динамики роста культуры.
2. Провести микроскопию растительных клеток.

Материалы и методы

Объектом исследования являлась каллусная культура гардении жасминовидной, полученной в 2021 г. Культуру выращивали на агаризованной питательной среде Мурасиге и Скуга поверхностным методом, при температуре 26±1°С, в темноте на протяжении 30 суток. Состав питательной среды Мурасиге и Скуга представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Состав питательной среды Мурасиге и Скуга

Компоненты питательной среды	Количество
Маточный раствор макросолей	50 мл/л
Маточный раствор микросолей	1 мл/л
Железа-хелат	5 мл/л
Тиамин гидрохлорид	1 мг/л
Пиридоксин	0,5 мг/л
Никотиновая кислота	0,5 мг/л
Мезо-Инозит	100 мг/л
Кинетин	2 мг/л

Компоненты питательной среды	Количество
α – нафтилуксусная кислота	6 мг/л
Сахароза	30 г/л
Агар-агар	7 г/л

Внешний вид каллусной культуры представлен на рис. 1.

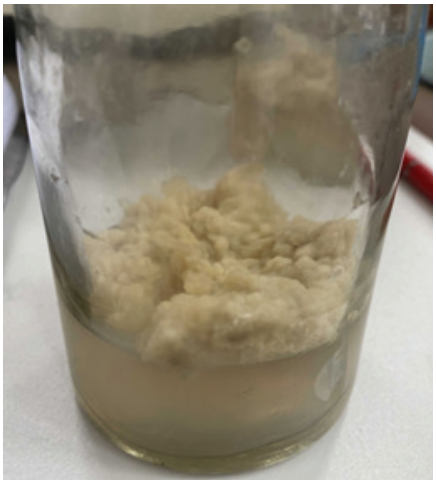


Рисунок 1. Каллусная культура гардении жасминовидной (пассаж № 7, 30 сутки роста)

Через двое суток, после пересева культуры на свежую питательную среду, взяли первую пробу для определения сырой массы каллуса. Каллусную культуру отделили от агаризованной питательной среды и взвесили на аналитических весах. Затем сырую биомассу высушивали в течение двух суток и затем вновь взвесили для определения сухой массы. Аналогичные операции по измерению влажной и сухой биомассы проведены на 5, 8, 12, 16, 20, 26, 30 сутки.

Основные ростовые показатели, включающие увеличение биомассы, удельную скорость роста, индекс роста, время удвоения биомассы, а также содержание воды в клетках определили расчетными методами с помощью приведенных ниже формул [4].

Формула для определения увеличения биомассы (г) имеет вид:

$$M = W_t - W_0,$$

где W_t – конечный вес биомассы (г);
W_0 – исходный вес биомассы (г).

Формула для определения удельной скорости роста (сут$^{-1}$) имеет вид:

$$\mu = \frac{\ln W_t - \ln W_0}{t},$$

где W_t – конечный вес биомассы (г);
W_0 – исходный вес биомассы (г),
t – время культивирования (сутки).

Формула для определения индекса роста (относительные Ед.) имеет вид:

$$I = \frac{W_t - W_0}{W_0},$$

где W_t – конечный вес биомассы (г);
W_0 – исходный вес биомассы (г),
t – время культивирования (сутки).

Формула для определения времени удвоения биомассы имеет вид:

$$\tau = \frac{\ln 2}{\mu},$$

где μ – удельная скорость роста (сут$^{-1}$).

Формула для определения содержания воды в клетках (%) имеет вид:

$$X = \frac{W_{t,\text{сыр}} - W_{t,\text{сух}}}{W_{t,\text{сыр}}} * 100\ \%,$$

где $W_{t,\text{сыр}}$ – конечный вес сырой биомассы,
$W_{t,\text{сух}}$ – конечный вес сухой биомассы.

Определение жизнеспособности клеток проводили с использованием витальных красителей. Результаты окрашивания оценивали при помощи микроскопии (микроскоп цифровой Bresser LCD 50x-2000x, Германия) Микроскопия клеток проводилась с применением техники «давленный» препарат при увеличении 200 и 400 [5].

Результаты и обсуждение

Известно, что каллусные клетки в процессе роста проходят ряд фаз развития: лаг-фазу, экспоненциальную, стационарную, фазу гибели или деградации [4]. При этом наблюдается физиологическая асинхронность клеточной популяции. При помощи таких показателей, как индекс роста, удельная скорость и время удвоения биомассы можно охарактеризовать рост каллусных культур. Данные, полученные в ходе исследования приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Динамические показатели роста культуры клеток гардении жасминовидной (приведены среднеарифметические значения результатов трех определений, имеющих отклонение не более 5%)

Время, сутки	Сырая масса, г	Сухая масса, г	Увеличение биомассы, г		Удельная скорость роста, $сут^{-1}$		Индекс роста, отн. Ед.		Время удвоения биомассы		Содержание воды в клетках %
			Для сырой массы	Для сухой массы	Для сырой массы	Для сухой массы	Для сырой массы	Для сухой массы	Для сырой массы	Для сухой массы	
2	4,89	0,37	0	0	0	0	0	0	0	0	92,43
5	6,40	0,53	1,51	0,16	0,090	0,12	0,31	0,43	7,70	5,78	91,72
8	7,37	0,62	2,48	0,25	0,068	0,086	0,51	0,68	10,19	8,06	91,59
12	8,46	0,71	3,57	0,34	0,055	0,065	0,73	0,91	12,60	10,66	91,61
16	10,00	0,85	5,11	0,48	0,051	0,059	1,05	1,30	13,59	11,75	91,50
20	13,62	1,05	8,73	0,68	0,057	0,058	1,79	1,84	12,16	11,95	92,29
26	16,11	1,31	11,22	0,94	0,050	0,053	2,30	2,54	13,86	13,08	91,87
30	16,08	1,28	11,19	0,91	0,050	0,044	2,29	2,50	13,86	15,75	92,04

Графики динамики роста каллусной культуры гардении жасминовидной приведены на рисунках 2 и 3 соответственно.

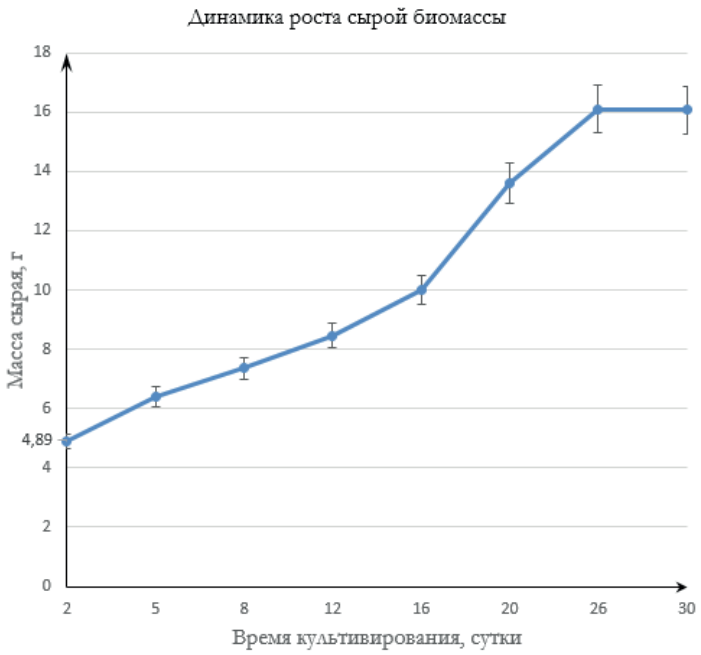


Рисунок 2. График динамики роста по сырой биомассе

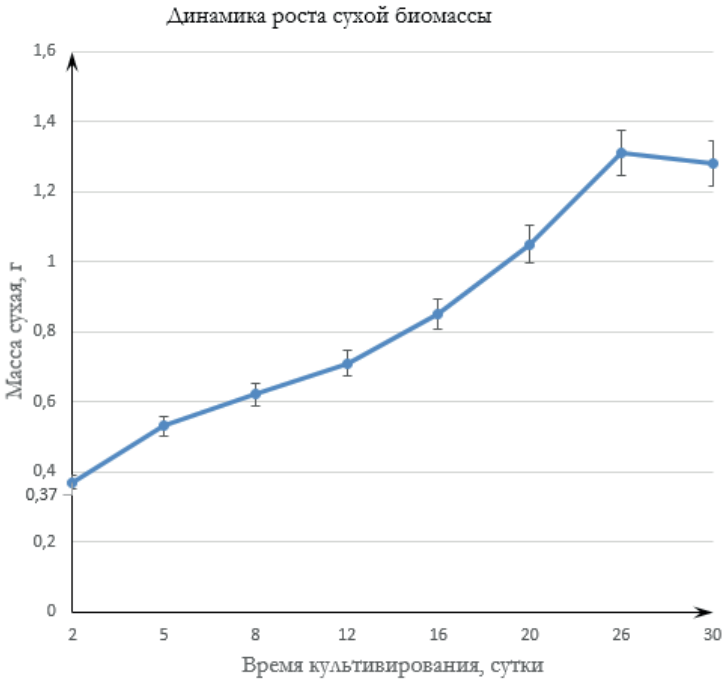


Рисунок 3. График динамики по сухой биомассе

Графики динамики роста каллусной культуры имеют S-образный вид, что характерно для большинства растительных культур. На основе полученных данных определили интервалы фаз роста: начальный период медленного роста (лаг-фаза) длится с 2 по 8 сутки, фаза экспоненциального роста с 8 по 20 сутки, фаза замедления роста с 20 по 26 сутки и стационарная фаза с 26 по 30 сутки.

Для большинства культур цикл роста составляет 30 суток, при этом стационарная фаза наступает в среднем на 20 сутки. Культура гардении жасминовидной относится к долгорастущим из-за позднего наступления стационарной фазы роста. В связи с этим было принято решение в дальнейшем увеличить продолжительность культивирования до 40 суток и провести аналогичные исследования.

Микроскопия одиночной клетки и клеточной цепочки представлены на рисунках 4 и 5 соответственно. Основную массу полученного гетерогенного каллуса составляют клетки меристематического типа.

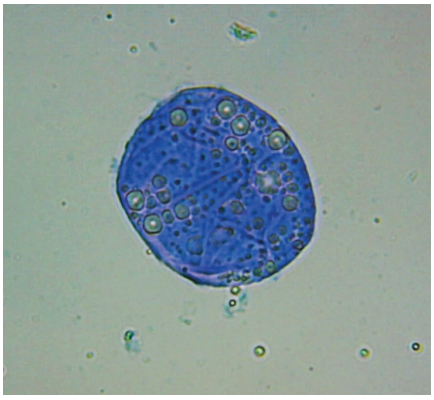


Рисунок 4. Микроскопия одиночной клетки гардении жасминовидной

Рисунок 5. Микроскопия клеточной цепочки гардении жасминовидной

Заключение

В ходе работы определено, что культура гардении жасминовидной относится к долгорастущим. Предположительно, оптимальный срок культивирования составляет 40 суток.

Проведена микросокпия, в ходе которой выявлено, что основную массу каллусной культуры составляют клетки меристематического типа.

ТЕМАТИЧЕСКАЯ РУБРИКА

62.33.29 Культивирование растительных клеток и тканей

ЛИТЕРАТУРА

1. Буркова Е.А., Канарский А.В., Канарская З.А. Перспектива применения фитобиотехнологии для получения биологически активных веществ // Вестник Казанского технологического университета. 2014. Т. 17. N 14. С. 342-356.

2. Salim S.A.A., Hamza S.Y. An. Efficient Protocol for Micro Propagation of Gardenia Jasminoides Ellis // Biosciences Biotechnology Research Asia. 2017. Vol. 14(2). http://dx.doi.org/10.13005/bbra/2505

3. Fravel B.W. Pyrans and their Benzo Derivatives: Applications // ResearchGate. 2008. Vol. 3. P. 701-726. doi:10.1016/b978-008044992-0.00609-x

4. Кузнецова Вл.В., Кузнецова В.В., Романова Г.А. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений. М.: БИНОМ ; Лаборатория знаний, 2015. 498 с.

5. Применение методов окраски дрожжей для оценки их физиологического состояния / С.Г. Давыденко [и др.] // Пиво и напитки. 2011. N 9. С. 8-11.

SUMMARY

STUDYING THE GROWTH CHARACTERISTICS OF THE CALLUS CULTURE OF GARDENIA JASMINOIDES

Bugaev A., 4th year student
Scientific supervisor: **Pivovarova N.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences, senior lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: artem.bugaev@spcpu.ru

The main growth characteristics of the cell culture of gardenia jasminoides were studied in order to determine the optimal terms of cultivation. Based on the results of the study, data were obtained for constructing dynamic growth graphs, and the main growth characteristics were determined. It was found that the growth retardation phase occurs later than in callus cultures of other plants. Gardenia jasmine belongs to long-growing crops. To study the morphology of plant cells, microscopy of the sample was carried out.

Keywords: *plant cell culture, gardenia jasminoides, growth characteristic.*

REFERENCES

1. Burkova E.A., Kanarsky A.V., Kanarskaya Z.A. The prospect of using phytobiotechnology to obtain biologically active substances // Bulletin of the Kazan Technological University. 2014. Vol.17(14). P. 342-356. (in Russian)

2. Salim S.A.A., Hamza S.Y. An. Efficient Protocol for Micro Propagation of Gardenia Jasminoides Ellis // Biosciences Biotechnology Research Asia. 2017. Vol. 14(2). http://dx.doi.org/10.13005/bbra/2505

3. Fravel B.W. Pyrans and their Benzo Derivatives: Applications // ResearchGate. 2008. Vol. 3. P. 701-726. doi:10.1016/b978-008044992-0.00609-x

4. Kuznetsova Vl.V., Kuznetsova V.V., Romanova G.A. Molecular genetic and biochemical methods in modern plant biology. Moscow: BINOM ; Knowledge Laboratory, 2015. P. 498. (in Russian)

5. Application of yeast staining methods to assess their physiological state / S.G. Davydenko [et al.] // Beer and drinks. 2011. N 9. P. 8-11. (in Russian)

УДК 519.252

ПРИМЕНЕНИЕ ЯЗЫКА ПРОГРАММИРОВАНИЯ R И ИНТЕГРИРОВАННОЙ СРЕДЫ РАЗРАБОТКИ RSTIDIO ДЛЯ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ДАННЫХ

Бутомо Т.В., маг. 1 года обучения
Руководитель: **Сорокин В.В.,** к.ф.н., доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: butomo.timur@pharminnotech.com

В связи с существующими ограничениями на использование существенной части статистического программного обеспечения, была проведена оценка возможности использования языка программирования R и интегрированной среды разработки RStudio на предмет их функциональных возможностей для оценки производственных данных. Разработана пользовательская функция, позволяющая выполнять операции корреляционного и регрессионного анализа в задачах определения концентрации веществ в растворах. Показано, что несмотря на определенные преодолимые проблемы (например, отсутствие графического интерфейса), язык R и среда разработки RStudio могут стать альтернативой коммерческому программному обеспечению.

Ключевые слова: *статистическая обработка, свободное программное обеспечение, интегрированная среда разработки, корреляционный анализ, регрессионный анализ, язык программирования.*

Согласно рекомендациям Международной комиссии по гармонизации технических требований к регистрации фармацевтических продуктов (ICH), предназначенных для применения человеком, обязательными компонентами фармацевтической системы качества являются средства измерения и анализа параметров и показателей, установленных стратегией контроля. К таковым относятся, в частности, статистические методы и методы управления данными (data management). Будучи частью системы мониторинга работы процесса и качества продукта эти компоненты позволяют не только достигать надлежащего качества конечного продукта и продуктов промежуточных стадий, но также и выявлять критические области производства с целью их непрерывного улучшения [1].

Кроме того, рекомендации ICH в части фармацевтической разработки выводят на первый план метод управления качеством продукта, известный как «качество через разработку» (quality by design). В руководстве ICH Q8 «качеств через разработку» определяется как системный подход к разработке, который начинается с заранее определенных целей и делает акцент на понимании продукта и процесса, а также на контроле процесса, основывающимся на строгих научных предпосылках и системе управления рисками для качества. Реализация этого метода предполагает, прежде всего, анализ критических параметров того или иного процесса (CPP) и их воздействия на критические показатели качества продукта (CQA) [2]. Выполнение всех сопутствующих достижению этой цели действий невозможно без применения статистических методов анализа, а также методов планирования эксперимента (DoE).

По этим причинам в современной фармацевтической промышленности возрастает важность применения методов цифровых технологий в части анализа производственных данных. Однако, в этой связи, возникает вопрос о наличии и доступности программного обеспечения, которое позволило бы осуществлять различные действия, связанные со статистическим анализом и математическими операциями.

Большинство вышеописанного программного обеспечения не является свободным и требует от предприятия дополнительных затрат на приобретение лицензии. К числу таковых программных пакетов можно отнести Minitab, JMP, MS Office Excel.

Microsoft Office Excel позволяет хранить результаты эксперимента в табличном формате, а также проводить их базовую обработку (нахождение некоторых параметров описательной статистики, построение диаграмм и графиков, расчет линии тренда). Тем не менее, в области обработки данных MS Excel обладает достаточно узким функционалом, однако это программное обеспечение широко используется для хранения «сырых» данных. Удобство хранения данных в формате «xlsx» заключается в том, что программные средства, применяемое для статистического анализа, зачастую позволяют производить импорт из файлов этого расширения. Кроме того, MS Office Excel обладает минимально необходимым функционалом для программирования на языке Visual Basic for Application, что позволяет автоматизировать некоторые действия в MS Office Excel. Однако этот язык программирования сочетает в себе ряд существенных недостатков: высокая ресурсоемкость при работе с большими массивами данных, нестабильность при извлечении данных из сети Интернет, отсутствие поддержки для операционных систем MacOS и Linux.

Программа Minitab позволяет визуализировать данные и проводить их статистический анализ. Функционал данного ПО включает в себя расчет множества статистических критериев и применение разнообразных методов анализа (описательная статистика, корреляционный анализ, регрессионный анализ, планирование эксперимента и прочие). Программа оснащена графическим пользовательским интерфейсом, что делает ее удобной в использовании, однако недостатком является необходимость приобретения лицензии для полноценной работы, что в существующих геополитических условиях может быть не реализуемо.

Язык программирования R лишен вышеназванного недостатка, однако интерфейс базовой внутренней среды разработки данного языка может быть менее удобен в использовании. Это можно сгладить, однако, применением среды RStudio, которая упрощает написание программ на языке R, включением в пользовательский интерфейс таких функции

импорта данных из файлов MS Excel и текстовых документов, а также добавлением возможности доступа к командной строке напрямую из программы, визуализацией заданных переменных и массивов данных, и пр. Существенным преимуществом языка R является наличие большого количества пользовательских пакетов с наборами тех или иных функций, которые находятся в свободном доступе. Установка пакетов может также осуществляться напрямую из RStudio при наличии подключения к сети Интернет.

В связи с этим необходимо рассматривать свободное статистическое программное обеспечение и применимость его для решения задач валидации процессов производства лекарственных препаратов. При этом в процессе рассмотрения альтернатив проприетарного программного обеспечения необходимо, как следует из сказанного выше, обращать особое внимание на стабильность при работе с данными в сети Интернет, поддержка программного обеспечения разработчиками, возможность применения в различных операционных системах, а также непосредственный функционал программных средств.

Целью настоящей работы, таким образом, является обзор возможности применения языка программирования R и интегрированной среды разработки RStudio в качестве инструмента для статистической обработки производственных и аналитических данных. На основании этого выделен ряд конкретных задач:

1. Написание программного кода (пользовательской функции), позволяющего проводить элементы корреляционного и регрессионного анализ экспериментальных данных, а именно, вычислять коэффициента корреляции Пирсона и коэффициента ранговой корреляции Спирмена, строить модель линейной регрессии, выводить графики и статистики для оценки регрессионной модели, а также предсказывать значения отклика;

2. Проведение корреляционного и регрессионного анализа данных, содержащих результаты троекратных измерений оптической плотности раствора препарата Торасемид при различных его концентрациях.

Результаты и обсуждение

В качестве исходных данных рассматривается результат эксперимента по определению оптической плотности раствора Торасемида в различных его концентрациях. Данные приведены в таблице.

Таблица – Результат определения оптической плотности раствора Торасемида

Концентрация Торасемида в растворе, %	Оптическая плотность		
	A_1	A_2	A_3
50	0,1911	0,1910	0,1912
80	0,2732	0,2737	0,2740
90	0,3061	0,3062	0,3062
100	0,3315	0,3315	0,3317
110	0,3658	0,3659	0,3657
120	0,4023	0,4022	0,4019

Представленные выше данные хранились в формате «xlsx» и импортировались в программу при помощи функции среды разработки Import Dataset From Excel (параметры окна импорта изображен на рисунке 1). При импорте таблицы, она была записана как значение переменной table1.

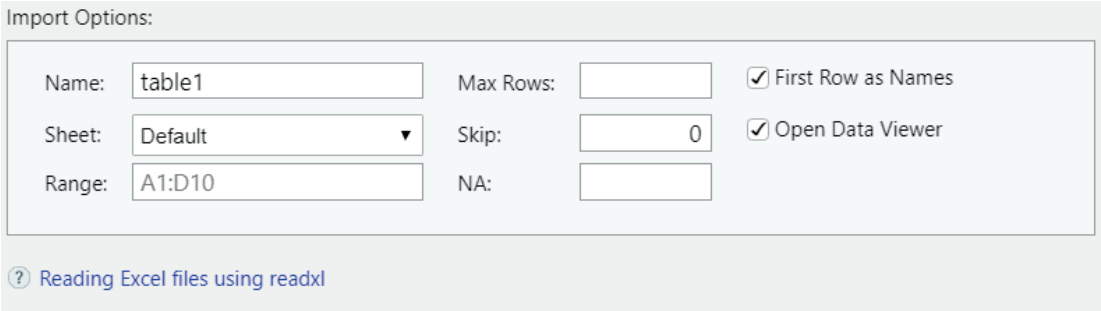


Рисунок 1. Интерфейс окна импорта данных

Среда разработки RStudio позволяет импортировать не только неизменный массив данных, но также и выделять из него необходимые для работы данные непосредственно на этапе импорта. В частности, параметр Range отвечает за импортируемую область ячеек, параметр Max Rows – за число импортируемых строк, параметр Skip – за число неимпортируемых строк (отсчет сверху вниз).

Исходный код представляет собой пользовательскую функцию regression(), принимающей на вход три аргумента: исходный фрейм обрабатываемых данных, номер столбца фрейма данных, содержащего значения зависимой переменной, а также значение независимой переменной, для которой необходимо предсказать значение отклика. Вместе с комментариями, программа занимает 46 строк. Код состоит из пяти участков, разбитых по критерию выполняемых операций:

1. Первый участок кода находит среднее значение измерений и создает новый фрейм данных, соединяя исходный массив и столбец, содержащий средние;

2. Второй участок вычисляет коэффициенты корреляции Пирсона и Спирмена;

3. Третий участок выполняет построение регрессионной линейной модели и выведение статистик для ее оценки:

4. Четвертый участок выводит нормальный график квантиль-квантиль, график зависимости остатков от значений зависимой переменной, предсказанных линейной моделью, а также график зависимости остатков от порядка проведения эксперимента.

5. Пятый участок осуществляет прогноз по построенной линейной модели.

Результат применения функции regression() к указанному выше фрейму данных (предсказание проводится для оптической плотности, равной 0.38) изображен на рисунке 2.

```
[1] 0.9984575 1.0000000

Call:
lm(formula = x_data ~ y_mean, data = y)

Residuals:
      1       2       3       4       5       6 
-1.3529  1.0658  0.1936  1.7053  0.2651 -1.8769 

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)    
(Intercept)  -12.510      2.964   -4.22   0.0135 *  
y_mean       334.184      9.292   35.97 3.57e-06 ***
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

Residual standard error: 1.542 on 4 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.9969,	Adjusted R-squared:  0.9961 
F-statistic:  1294 on 1 and 4 DF,  p-value: 3.567e-06

       1 
114.4803 
```

Рисунок 2. Результат выполнения пользовательской функции, выводимый в консоль

Коэффициент Пирсона составил 0.9985, а коэффициент Спирмена – 1. Коэффициенты уравнения прямой линии указаны под заголовком Coefficients, свободный член составил -12.51, а коэффициент при зависимой переменной – 334.184. Кроме того, в качестве результата выведены статистики (коэффициент детерминации, скорректированный коэффициент детерминации, значение F-статистики, p-значение), по которым возможно оценить построенную модель. В последней строчке указано предсказанное значение концентрации Торасемида в растворе при заданной оптической плотности 0.38.

Графические данные, также позволяющие сделать вывод об адекватности построенной модели, представлены на рисунках 3-5.

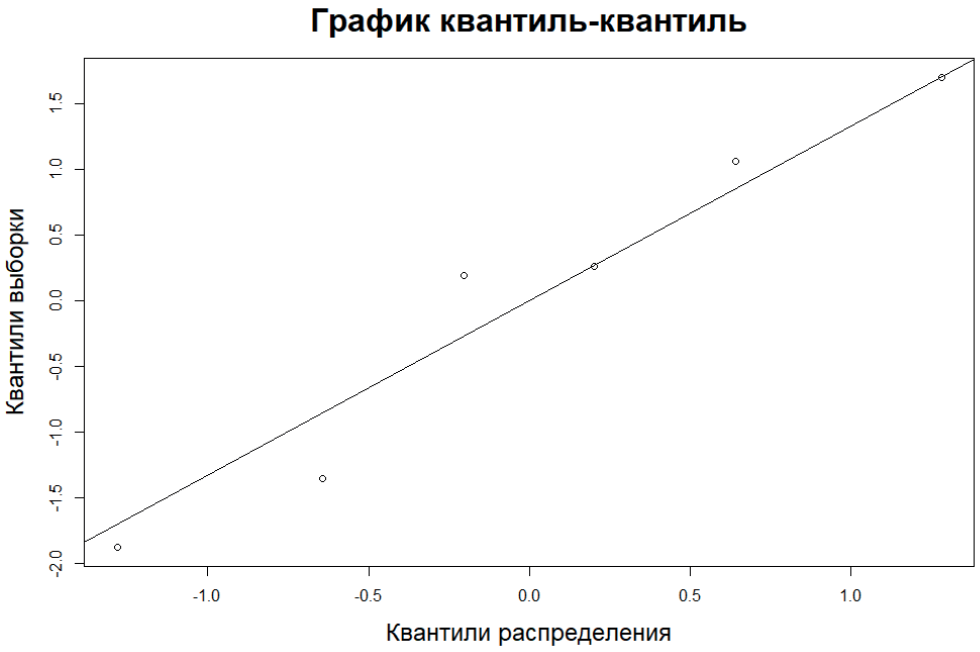


Рисунок 3. Нормальный график квантиль-квантиль

График квантиль-квантиль позволяет судить о нормальности распределения остатков. В данном случае, исходя из вида графика, можно предположить о том, что остатки распределены по нормальному распределению.

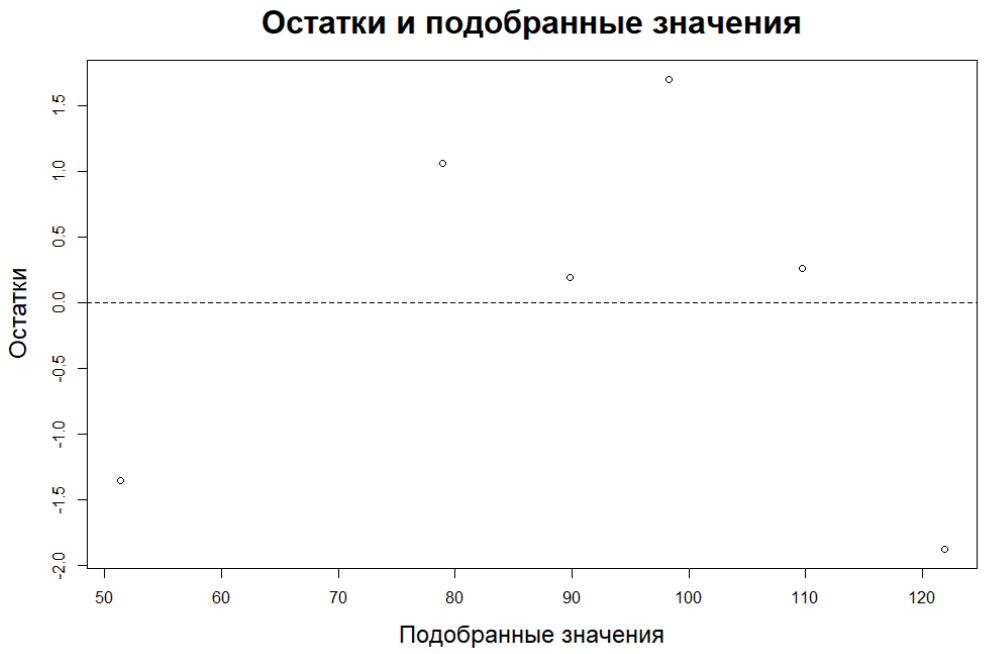


Рисунок 4. График зависимости остатков от предсказанных значений

График зависимости остатков от предсказанных значений позволяет судить о наличии или отсутствии выбросов в исходных данных. Наблюдается близость точек графика к нулевой линии, что позволяет говорить об отсутствии выбросов. Кроме того, случайный характер распределения точек относительно нулевой линии говорит о постоянстве дисперсии.

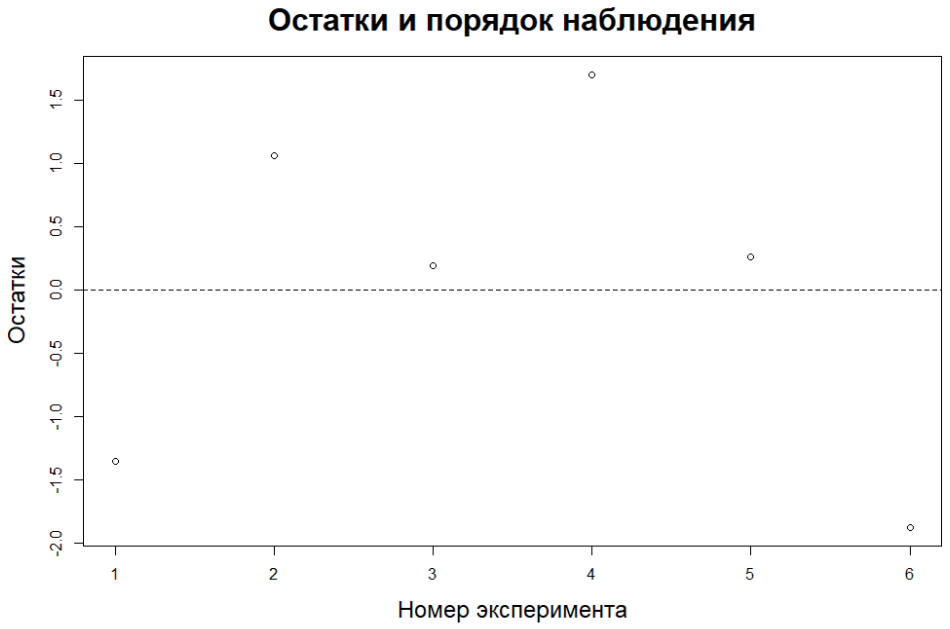


Рисунок 5. График зависимости остатков от порядка измерений

График, изображенный на рисунке 5, позволяет оценить распределение остатков в зависимости от номера наблюдения/измерения. Иными словами, с помощью данного графика возможно оценить распределение остатков во времени. На графике не наблюдается цикличности или постоянного возрастания/убывания. Это позволяет говорить о случайности распределения остатков во времени и их независимости друг от друга.

Как можно видеть, решение некоторых задач корреляционного и регрессионного анализа при помощи языка программирования R и интегрированной среды разработки RStudio является возможным, а полученные результаты не уступают по исчерпываемости результатам, получаемым с помощью проприетарного программного обеспечения для статистической обработки данных и математических вычислений. Поскольку в ходе работы был написан программный код, который позволил успешно выполнить корреляционный анализ исходных и построить модели линейной регрессии, можно предположить, что язык программирования R и интегрированная среда разработки RStudio могут служить альтернативой статистическим программным пакетам, распространяемым посредством проприетарной лицензии.

Тем не менее, прежде чем говорить о переходе на бесплатное статистическое программное обеспечение, необходимо решить ряд вопросов, встающих при работе с языком R:

1. Нестабильность кодировки при использовании кириллического шрифта;
2. Возможность автоматического импорта данных в программу в момент их загрузки в указанную директорию;
3. Возможность создания графического интерфейса;
4. Возможность анализа производственных данных в реальном времени.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

83.77: Методы и средства сбора, обработки и анализа статистической информации
83.77.23: Системы обработки статистической информации

ЛИТЕРАТУРА

1. Система фармацевтического качества (ICH Q10). Перевод: PharmAdvisor, версия перевода от 15.06.2021. URL: https://pharmadvisor.ru/document/tr3641/ (дата обращения: 20.12.2021).

2. Фармацевтическая разработка (ICH Q8). Перевод: PharmAdvisor, версия перевода от 04.12.2020. URL: https://pharmadvisor.ru/document/tr3614/ (дата обращения: 24.12.2021).

SUMMARY

APPLICATION OF PROGRAMMING LANGUAGE R AND INTEGRATED DEVELOPMENT ENVIRONMENT RSTIDIO FOR STATISTICAL PROCESSING OF PRODUCTION AND LABORATORY DATA

Butomo T.V., 1st year undergraduate
Scientific supervisor: **Sorokin V.V.**, Candidate of Pharmacy science, associate professor
St. Petersburg Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: butomo.timur@pharminnotech.com

Due to existing restrictions on the use of a significant part of the statistical software, the possibility of using the R programming language and the RStudio integrated development environment was evaluated for their functionality for evaluating production data. A custom function has been developed that allows performing operations of correlation and regression analysis in problems of determining the concentration of substances in solutions. It is shown that despite certain surmountable problems (for example, the lack of a graphical interface), the R language and the RStudio development environment can become an alternative to commercial software.

Keywords: *statistical processing, free software, integrated development environment, correlation analysis, regression analysis, programming language.*

REFERENCES

1. Pharmaceutical quality system (ICH Q10). Translation: PharmAdvisor, translation version dated 06/15/2021. URL: https://pharmadvisor.ru/document/tr3641/ (Accessed 06.03.2021). (in Russian)

2. Pharmaceutical development (ICH Q8). Translation: PharmAdvisor, translation version dated 12/04/2020. URL: https://pharmadvisor.ru/document/tr3614/ (Accessed 06.03.2021). (in Russian)

УДК: 66.045.5

ВОЗМОЖНОСТИ СОВРЕМЕННОГО ПО И ПРИМЕНЕНИЕ ИХ ДЛЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ И ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССА ТЕПЛООБМЕНА В ЗМЕЕВИКОВОМ ТЕПЛООБМЕННИКЕ

Валеева М.Е., студ. 3 курса, **Чеснокова А.А.**, студ. 3 курса
Руководитель: **Турманидзе Г.Н.**, ассистент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: mariya.valeeva@spcpu.ru

Описаны возможности моделированияи оптимизации процесса теплообмена в змеевиковом теплообменнике на примере охлаждения этилового спирта путём изменения расхода жидкостей с использованием современного программного обеспечения Ansys. Для моделирования змеевикового теплообменника использовалось построение графической 3D модели процессов теплообмена на стадии охлаждения этилового спирта. Также были получены контуры скоростей потоков и температуры в трубном и межтрубном пространствах, наглядно демонстрирующие характер данного процесса.

Ключевые слова: *Ansys, моделирование, теплообмен, CFX, змеевиковый теплообменник, оптимизация, этиловый спирт.*

Змеевиковые теплообменники – тип оборудования, широко распространенный и применяемый во всех отраслях мировой промышленности, в том числе и в фармацевтической. Данная популярность в применении рассматриваемого аппарата обусловлена простотой эксплуатации конструкции и ее относительной компактностью. Помимо перечисленных превосходств, неоспоримыми преимуществами змеевиковых теплообменников является большая поверхность теплообмена, высокие скорости теплоносителей (1 – 2 м/с) и низкая металлоемкость.

Вышеперечисленные достоинства змеевиковых теплообменников в настоящее время делают их важной составляющей широкого спектра оборудования и технологий. Использование современного программного обеспечения (ПО) для моделирования процесса теплообмена позволит увеличить спектр применения данного типа оборудования путем внедрения его модификаций в ранее незадействованных областях и в будущем может быть использовано с целью его конструкционной оптимизации.

В связи с этим целью работы является изучение возможностей современного ПО и применение их для проектирования различных модификаций теплообменных аппаратов на примере змеевикового теплообменника. Для достижения цели работы были поставлены следующие задачи:

• спроектировать змеевиковый теплообменник для охлаждения этилового спирта с помощью программы Ansys R10 2019;

• изучить возможности моделирования процесса теплообмена современным ПО

• проанализировать спроектированную модель.

Объектом исследования являлся змеевиковый теплообменник для охлаждения этилового спирта (рисунок 1).

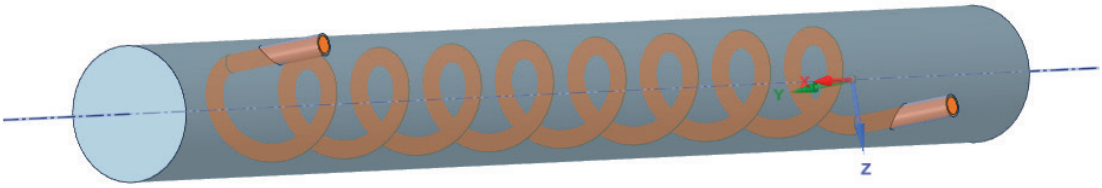


Рисунок 1. Змеевиковый теплообменник

Ansys – это универсальная система конечно-элементного анализа, широко использующаяся специалистами для линейных и нелинейных, стационарных и нестационарных пространственных задач механики деформируемого твердого тела и механики конструкций и их процессов взаимодействия, задач механики жидкости и газа, теплопередачи и теплообмена, а также электродинамики, акустики и механики связанных полей. Возможность сопряжения системы Ansys с многочисленными системами автоматизированного проектирования (САПР) делает данную программу быстрой и удобной в применении при проектировании для самых разнообразных целей. В данной работе в качестве САПР-системы была выбрана программа Solidworks 21.

Предварительное моделирование конструкций и анализ протекающих в них процессов позволяет увидеть результат еще до воплощения проекта, что позволяет избежать нежелательных финансовых затрат на производство, так называемых, «пробных» конструкций. Описанное преимущество делает исследование возможностей программ, работающих на базе метода конечно-элементного анализа, очень перспективным направлением деятельности.

К недостаткам змеевиковых теплообменников относится сложность изготовления, невозможность работы при высоких давлениях, трудности герметизации спиралей. Поскольку выбранный тип теплообменного аппарата является технологически сложным в изготовлении оборудованием и имеет ряд ограничений при выборе сред и конструкционных особенностей, имеется необходимость его предварительного проектирования до введения в производство.

В программе Ansys R1 2019 мы разработали 3D модель теплообменника (рисунок 2). В качестве модельных сред были выбраны вода H_2O, CAS № 7732-18-5 и этиловый спирт C_2H_6O, CAS № 64-17-5. Этанол, двигаясь по змеевику, охлаждался водой, которая подавалась по межтрубному пространству. Нами были заданы названия и размеры участков аппарата, а также физические величины используемых в модели материалов:

• внутренний диаметр отверстия змеевика – 8 мм;

• внутренний диаметр отверстия трубы – 60 мм;

• длина теплообменника – 600 мм;

Мы построили сетку, задав ее размеры. Процесс построения сетки позволил разбить пространство модели на отдельные участки, в которых рассчитываются параметры потоков. Затем нами были заданы параметры процесса, характеристики потока и теплообмена.

• скорость потока в змеевике – 2 м/с;

• скорость потока в межтрубном пространстве – 1 м/с;

• температура потока на входе в змеевик – 351°К;

• температура потока в межтрубном пространстве – 288°К.

Рисунок 2. Сетка построенной геометрической модели змеевикового теплообменника

Программа рассчитала параметры потоков и построила контуры скоростей, температуры, давления и контур движения потоков (рисунки 3-5).

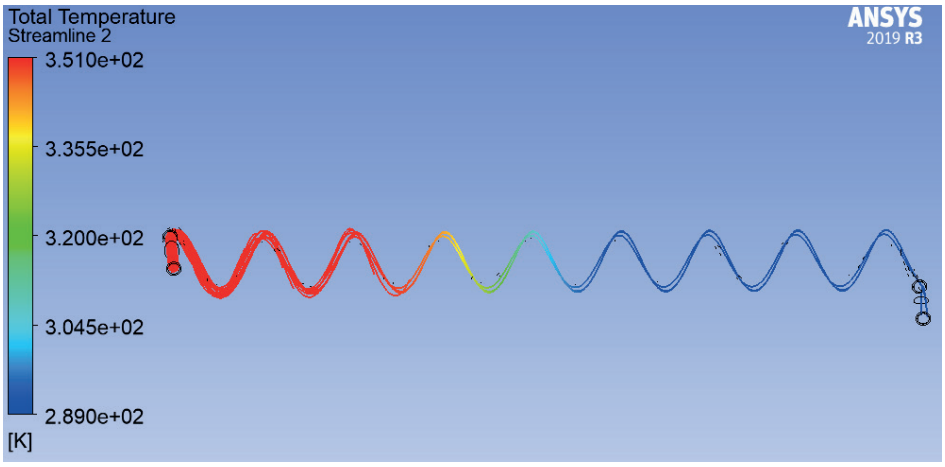


Рисунок 3. Контур температуры и движение потока в змеевике

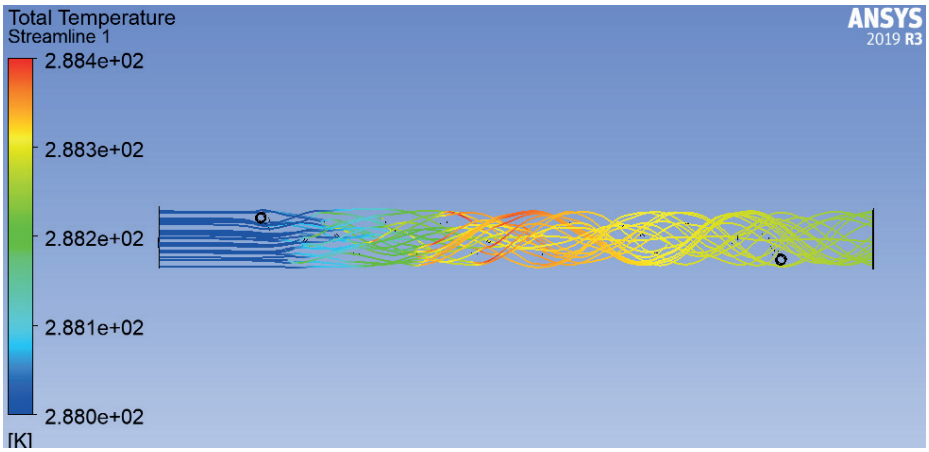


Рисунок 4. Контур температуры и движение потоков в межтрубном пространстве

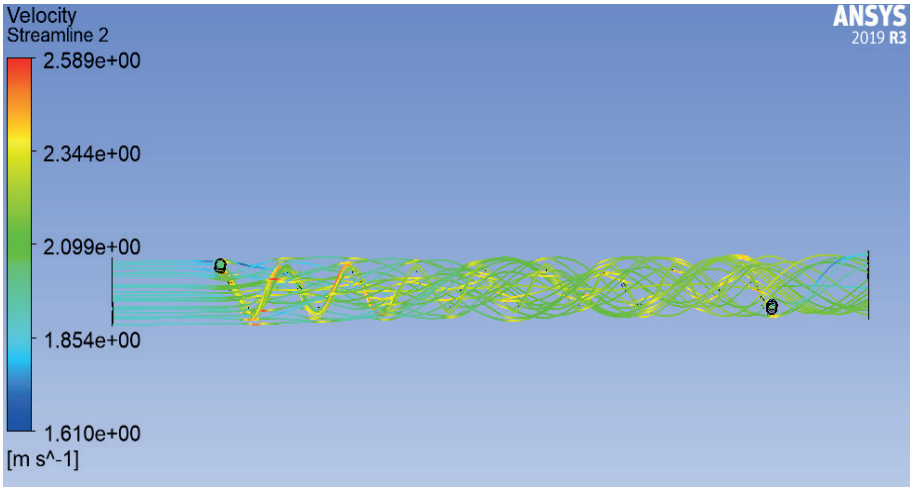


Рисунок 5. Контур скорости потоков в змеевике и в межтрубном пространстве с точками параметров

Заключение

Показана возможность использования современного ПО для моделирования процесса теплообмена в теплообменном аппарате. С помощью ПО Ansys была разработана модель охлаждения этилового спирта водой в змеевиковом теплообменнике с заданными характеристиками аппарата и среды. Были построены контуры температур, скоростей, давления и движения сред.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.01.77 Методы исследования и моделирования. Математические и кибернетические методы в химической технологии

ЛИТЕРАТУРА

1. Chemical Process Equipment / J.R. Couper [et al.] // Waltham: Elsevier. 2012. P. 285-292.

2. Thermal Analysis of Shell and Tube Heat Exchanger / Rajkamal M.D. [et al.] // International Journal of Pure and Applied Mathematics. 2018. Vol. 119(12). P. 14299 – 14306.

SUMMARY

POSSIBILITIES OF MODERN SOFTWARE AND THEIR APPLICATION FOR DESIGN AND OPTIMIZATION OF THE HEAT TRANSFER PROCESS IN A SPIRAL HEAT EXCHANGER

Valeeva M.E., 3nd year student**, Chesnokova A.A.**,3nd year student

Scientific supervisor: **Turmanidze G.N.,** assistant

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: mariya.valeeva@spcpu.ru

The possibilities of modeling and optimizing the heat exchange process in a coil heat exchanger are described using the example of cooling ethyl alcohol by changing the flow rate of liquids using modern Ansys software. To simulate a coil heat exchanger was used the construction of a graphical 3D model of heat exchange processes at the cooling stage of ethyl alcohol. Contours of flow velocities and temperatures in the pipe and inter-pipe spaces were also obtained, clearly demonstrating the nature of this process.

Keywords: *Ansys, modeling, heat exchange, CFX, coil heat exchanger, optimization, ethyl alcohol.*

REFERENCES

1. Chemical Process Equipment / J.R. Couper [et al.] // Waltham: Elsevier. 2012. P. 285-292.

2. Thermal Analysis of Shell and Tube Heat Exchanger / Rajkamal M.D. [et al.] // International Journal of Pure and Applied Mathematics. 2018. Vol. 119(12). P. 14299 – 14306.

УДК 53.088.3

ОЦЕНКА ПОГРЕШНОСТИ ПРИ РАСЧЕТЕ ТЕПЛОПЕРЕДАЧИ В ЦИЛИНДРИЧЕСКИХ КАНАЛАХ

Валеева М.Е., студ. 3 курса, **Ушакова Е.А.**, студ. 3 курса

Руководитель: **Маркова А.В.**, к.т.н., доцент

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация

E-mail: mariya.valeeva@spcpu.ru

Получены соотношения для величины погрешности расчетов трубчатых теплообменных аппаратов при неучтённой кривизне сечения канала. Показано, что при сотношении наружного и внутреннего диаметра трубы $k \leq 1{,}1$ погрешность составляет менее 5%. В ином случае погрешность может существенно возрастать и зависит не только от величины k, но и от отношения коэффициентов теплоотдачи n. Проведена численная оценка величины погрешности при различных значениях k и n. Сделан вывод, что при $k > 1{,}1$ следует отдавать предпочтение уравнению теплопередачи, учитывающему цилиндрическую форму канала.

Ключевые слова: *трубчатый теплообменник, теплопередача, уравнение теплопередачи, термическое сопротивление, термическая проводимость, коэффициент теплоотдачи.*

В фармацевтической промышленности широкое применение находят трубчатые теплообменники, в которых один из теплоносителей движется внутри цилиндрического канала, а другой – тем или иным образом омывает наружную по-

верхность цилиндрического канала. В широко распространённых поверочных и проектных методиках расчета таких аппаратов, обычно пренебрегают кривизной сечения канала, считая цилиндрическую поверхность плоской. Такой подход значительно упрощает вычисления, однако приводит к некоторой погрешности в расчетах. В связи с этим целью данной работы является оценка величины возникающей погрешности, а также определить допустимый диапазон использования приближения «плоской стенки».

Заметим, что среди разнообразных конструкций теплообменных аппаратов плоская теплопередающая поверхность практически не встречается. С определённой долей условности плоской можно считать лишь пластину пластинчатого теплообменника. В трубчатых теплообменных аппаратах поверхность теплообмена является цилиндрической, причем внутренняя и наружная поверхность цилиндра могут существенно различаться.

Проведём анализ погрешности, возникающей при не учёте кривизны канала. Для этого запишем уравнение теплопередачи для цилиндрической трубы, считая при этом стенку, разделяющие теплоносители, плоской. Будем рассматривать стенку, разделяющие теплоносители, без загрязнений, что вполне оправдано для асептических условий фармацевтической промышленности. В этом случае уравнение теплопередачи будет иметь вид:

$$Q = \frac{1}{R}F\Delta t_{cp} = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_{\text{нар}}F} + \frac{1}{\alpha_{\text{вн}}F} + \frac{\delta_{\text{ст}}}{\lambda_{ст}F}}\Delta t_{cp} \quad \#(1)$$

где Q – количество передаваемой теплоты, (Вт);
R – суммарное термическое сопротивление,
F – поверхность теплообмена;
α – коэффициент теплоотдачи;
$\lambda_{ст}$ –коэффициент теплопроводности стенки трубы;
$\delta_{ст}$ – толщина стенки трубы;
$\Delta t_{ср}$ – средняя движущая сила теплопередачи.

Индексы «*вн*» и «*нар*» относятся к теплоносителям внутри и снаружи трубы.

Поверхность теплообмена определим по среднему радиусу трубы, как принято согласно распространённым методикам [1]: $F = 2\pi R_{ср}L$, где L – длина поверхности, равная длине трубы, $R_{ср}$ – ширина поверхности, равная среднеарифметическому значению между внутренним и наружным радиусом цилиндрической трубы: $R_{ср} = (R_{вн} + R_{нар})/2$.

Уравнение (1) широко используется при расчете трубчатых теплообменных аппаратов.

Для поверхности длиной 1 метр знаменатель первого сомножителя уравнения (1) можно представить следующим образом:

$$\frac{1}{\alpha_{\text{нар}}F} + \frac{1}{\alpha_{\text{вн}}F} + \frac{\delta_{\text{ст}}}{\lambda_{ст}F} = \frac{1}{2\pi R_{cp}\alpha_{\text{нар}}} + \frac{1}{2\pi R_{cp}\alpha_{\text{вн}}} + \frac{\delta_{\text{ст}}}{2\pi R_{cp}\lambda_{ст}} \quad \#(2)$$

Введем обозначение: $k = F_{нар}/F_{вн}$. Заметим, что для оребрённых теплообменников k называют коэффициентом увеличения поверхности, $k > 1$.

Для трубчатых теплообменников $k = R_{нар}/R_{вн}$. Тогда $R_{ср} = R_{вн}(k+1)/2$, а $\delta_{ст} = R_{нар} - R_{вн} = R_{вн}(k-1)$.

Если учитывать кривизну цилиндрической трубы, то уравнение (2) принимает иной вид [1]:

$$\frac{1}{2\pi R_{\text{нар}}\alpha_{\text{нар}}} + \frac{1}{2\pi R_{\text{вн}}\alpha_{\text{вн}}} + \frac{\ln\left(\frac{R_{\text{нар}}}{R_{\text{вн}}}\right)}{2\pi\lambda_{ст}} \quad \#(3)$$

Сравним термические сопротивления плоской и цилиндрической стенок. Для этого первое запишем следующим образом:

$$\frac{\delta_{\text{ст}}}{2\pi R_{cp}\lambda_{\text{ст}}} = \frac{R_{\text{нар}} - R_{\text{вн}}}{2\pi\lambda_{\text{ст}}\frac{R_{\text{нар}} + R_{\text{вн}}}{2}} = \frac{R_{\text{вн}}(k-1)}{\pi\lambda_{\text{ст}}R_{\text{вн}}(k+1)} = \frac{(k-1)}{\pi\lambda_{\text{ст}}(k+1)},$$

а второе как:

$$\frac{\ln\left(\frac{R_{\text{нар}}}{R_{\text{вн}}}\right)}{2\pi\lambda_{\text{ст}}} = \frac{\ln(k)}{2\pi\lambda_{\text{ст}}},$$

Отношение проводимостей плоской и цилиндрической стенок Θ равно:

$$\Theta = \frac{\frac{\ln(k)}{2\pi\lambda_{\text{ст}}}}{\frac{(k-1)}{\pi\lambda_{\text{ст}}(k+1)}} = \frac{(k+1)\ln(k)}{2(k-1)},$$

На рисунке 1 показана зависимость Θ от *k*. Из рисунка следует, что проводимость плоской стенки больше, чем цилиндрической. Увеличение *k* приводит к возрастанию Θ. Однако величина расхождения невелика. Так, при *k* = 2 погрешность составляет 4% (рис. 1).

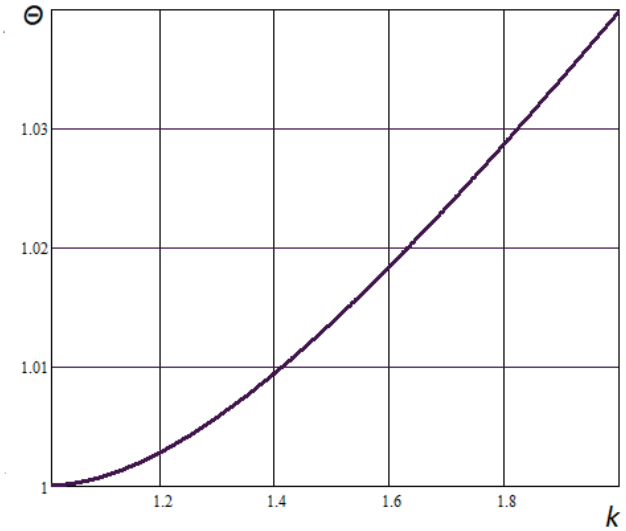


Рисунок 1. Зависимость Θ от *k*

Таким образом, при расчете проводимости (или сопротивления) собственно стенки цилиндрической трубы, её вполне можно считать плоской.

Сравним соотношения (2) и (3) при условии, что термическое сопротивление стенок является пренебрежимо малым. Это справедливо для некоторых видов теплопередачи, к примеру, если труба металлическая, а коэффициенты теплоотдачи невелики. Обозначим $n = \alpha_{нар}/\alpha_{вн}$. Теоретически $0 < n < \infty$, однако, исходя из действительных значений коэффициентов теплоотдачи, $10^{-3} < n < 10^{3}$. Из уравнения (2) следует:

$$\frac{1}{2\pi R_{ср}\alpha_{нар}} + \frac{1}{2\pi R_{ср}\alpha_{вн}} = \frac{1}{2\pi R_{вн}\alpha_{вн}\frac{k+1}{2}}\left(\frac{1}{n}+1\right) = \frac{1}{2\pi R_{вн}\alpha_{вн}\frac{k+1}{2}}\frac{1+n}{n},$$

Из уравнения (3) можно получить выражение:

$$\frac{1}{2\pi R_{нар}\alpha_{нар}} + \frac{1}{2\pi R_{вн}\alpha_{вн}} = \frac{1}{2\pi R_{вн}\alpha_{вн}}\left(\frac{1}{kn}+1\right) = \frac{1}{2\pi R_{вн}\alpha_{вн}}\frac{1+kn}{kn},$$

Отношение суммарных проводимостей для «плоской» и цилиндрической поверхностей Θ_1 равно:

$$\Theta_1 = \frac{\frac{1}{2\pi R_{вн}\alpha_{вн}}\frac{1+kn}{kn}}{\frac{1}{2\pi R_{вн}\alpha_{вн}\frac{k+1}{2}}\frac{1+n}{n}} = \frac{(1+kn)(k+1)}{2k(1+n)} \quad \#(4)$$

Зависимость Θ_1 от *k* и *n* показана на рисунке 2. Из рисунка 2 следует, что при прочих равных условиях при $n > 1$ проводимость «плоского» канала выше, а при $n < 1$ выше проводимость цилиндрического канала.

Из рисунка 2 также следует, что с увеличением *k* и *n* погрешность может достигать довольно больших значений, причем в сторону увеличения при $n > 1$, и в сторону уменьшения при $n < 1$. Для стандартных стальных труб 20×2 мм *k* = 1,25 (кривая 2), погрешность «плоской» аппроксимации доходит до 10÷12%. Из рисунка 2 следует также, что увеличение погрешности наблюдается в диапазоне $10^{-1} < n < 10$, за пределами интервала погрешность максимальна и постоянна. Действительно, уравнение (4) приводится к виду:

$$\Theta_+ = \lim_{n\to\infty}\frac{(1+kn)(k+1)}{2k(1+n)} = 0{,}5(k+1) \quad \#(5)$$

$$\Theta_- = \lim_{n\to 0}\frac{(1+kn)(k+1)}{2k(1+n)} = 0{,}5\frac{(k+1)}{k} \quad \#(6)$$

Предельное значение погрешности Θ_∞ зависит только от *k*.

Заметим, что пренебрежение отношением $Pr/Pr_{ст}$ при расчете коэффициентов теплоотдачи приводит к погрешности всего лишь 5÷6%.

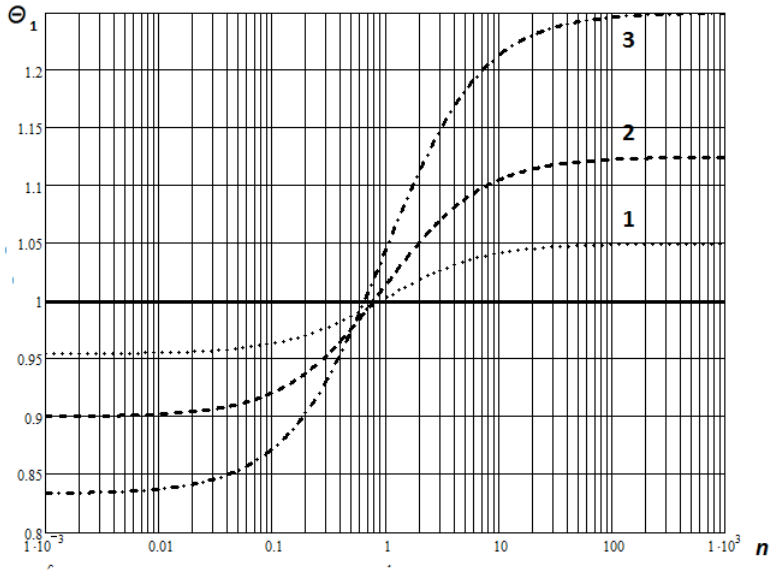


Рисунок 2. Зависимость Θ_1 от *n* (1 – *k* =1,1; 2 – *k* =1,25; 3 – *k* =1,5)

Рассмотрим случай, когда сопротивлением стенки трубы $R_{ст}$ сравнимо с коэффициентами теплоотдачи. Будем учитывать последние слагаемые в уравнениях (2) и (3) в долях от $\alpha_{вн}$: $1/R_{ст} = m\alpha_{вн}$. Из уравнения (4), с учетом небольшой разнице в проводимостях «плоской» и цилиндрической стенок (рис. 1), можно получить выражение для отношения проводимостей Θ_2 с учетом термического сопротивления стенки:

$$\Theta_2 = \frac{[1 + kn(m+1)](k+1)}{2k[1 + n(m+1)]} \quad \#(7)$$

На рисунке 3 приведены графики, построенные по уравнению (5) для *k* =1,25.

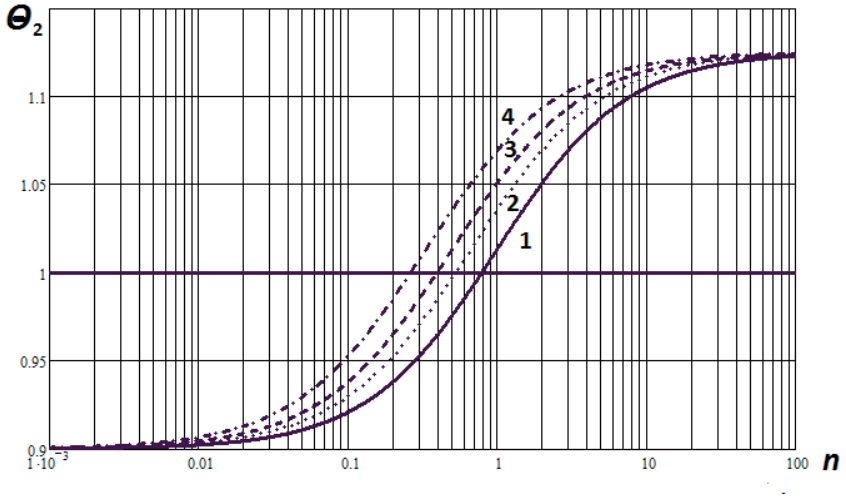


Рисунок 3. Зависимость Θ_2 от *n*
1 – *m* = 0; 2 – *m* = 0,25; 3 – *m* =1,0; 4 – *m* = 2

Из рисунка 3 следует, что с увеличением *m* кривые 2- 4 сдвигаются в область меньших *n*, однако характер кривых не меняется (по сравнению с кривой 1). Величина максимальной погрешности также одинакова и не зависит от *n*.

Заключение

Таким образом, на основе проведенного анализа можно сделать следующие выводы.

1. При $k \leq 1{,}1$ при расчете теплопередачи можно использовать соотношение (1). Погрешность вычислений при этом составит менее 5% для всех *n*, т.е. для любых значений коэффициентов теплоотдачи.

2. При $k > 1{,}1$ и $0{,}1 < n < 10$ погрешность вычислений зависит и от *k*, и от *n*. Её величину можно оценить по рис. 2 или рис.3, а также рассчитать по формулам (4) или (5).

3. При $k > 1{,}1$ и $n < 0{,}1$ и $n > 10$ погрешность вычислений зависит только от *k* и рассчитывается по формулам (5) или (6).

Заметим, что при $k > 1{,}1$ при расчете теплопередачи следует отдавать предпочтение соотношению (3).

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность;
61.01.00 Общие вопросы химической технологии и химической промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kakaç Sadic, Hongtan Liu, Anchasa Pramuanjaroenkij. Heat exchangers: selection, rating, and thermal design. New York: CRC Press LLC, 2012. 605 p. https://doi.org/10.1201/9780429469862

SUMMARY

ESTIMATION OF THE ERROR IN THE CALCULATION OF HEAT TRANSFER IN CYLINDRICAL CHANNELS

Valeeva M.E., 3nd year student, **Ushakova E.A.,** 3nd year student
Scientific supervisor: **Markova A.V.,** Ph.D. of Technical Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: mariya.valeeva@spcpu.ru

The relations for the error value of calculations of tubular heat exchangers with an unaccounted curvature of the channel section are obtained. It is shown that when comparing the outer and inner diameter of the pipe $k \leq 1{,}1$, the error is less than 5%. Otherwise, the error may increase significantly and depends not only on the value of k, but also on the ratio of heat transfer coefficients n. The numerical estimation of the error value at different values of k and n is carried out. It is concluded that at $k > 1.1$, preference should be given to the heat transfer equation taking into account the cylindrical shape of the channel.

Keywords: *tubular heat exchanger, heat transfer, heat transfer equation, thermal resistance, thermal conductivity, heat transfer coefficient.*

REFERENCES

1. Kakaç Sadic, Hongtan Liu, Anchasa Pramuanjaroenkij. Heat exchangers: selection, rating, and thermal design. New York: CRC Press LLC, 2012. 605 p. https://doi.org/10.1201/9780429469862

УДК 61.45.39

ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ ФИТОПРЕПАРАТОВ, ПОВЫШАЮЩИХ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ

Ванторина Д.Д., маг. 1 год обучения
Руководитель: **Каухова И.Е.**, д. фарм. н., профессор
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: vantorina.darya@pharminnotech.com

Рассмотрены составляющие работоспособности. Представлено обоснование лекарственной формы фитопрепаратов для поддержания работоспособности и пути введения.

Ключевые слова: *работоспособность, фитопрепараты, интерназальное введение, мягкая лекарственная форма, БАВ, повышающие работоспособность.*

Двадцатые годы двадцать первого столетия абсолютно поменяли формат работы и отношение к ней. Большой объем деятельности происходит в дистанционном формате, тем самым теряются рамки восьмичасового рабочего дня. И все это происходит в затяжном тревожном информационном поле.

Во всех видах работ есть общие черты – постоянный стресс и напряженность.

Вышеописанная ситуация определяет актуальность темы исследований – разработка состава и технологии фитопрепаратов, повышающих работоспособность.

Задачами работы являются:

• рассмотрение понятия работоспособность, что оно в себя включает;

• изучение лекарственного растительного сырья, содержащего биологически активные вещества (БАВ), повышающих работоспособность;

• обоснование выбора лекарственной формы фитосубстанции и пути ее введения.

Основная часть

Работоспособность – состояние человека, определяемое возможностью физиологических и психических функций организма, которое характеризует его способность выполнять конкретное количество работы заданного качества за

требуемый интервал времени. В процессе труда работоспособность не является стабильной, подвергается изменениям, соответствующим различным фазам (периодам) [1].

Работоспособность зависит от внешних и внутренних факторов. К внешним можно отнести климатические условия, освещение, окружающую атмосферу. Внутренние факторы могут зависеть от внешних, так как люди с разной выносливостью, устойчивостью к стрессу, знаниями своего организма, умениями проявляют разную продуктивность. Говоря о внутренних факторах, на которые потенциально можно повлиять приемом фитопрепаратов, следует выделить ряд терминов.

Тонус – (физиологическое), длительное стойкое возбуждение нервных центров и мышечной ткани, не сопровождающееся утомлением [2].

Бодрость – психологическое состояние субъекта, характеризующееся полнотой сил, активной деятельностью, энергией [2].

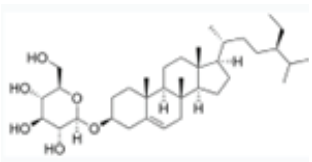
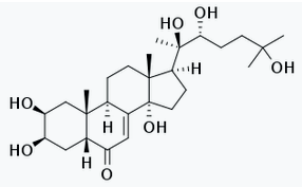
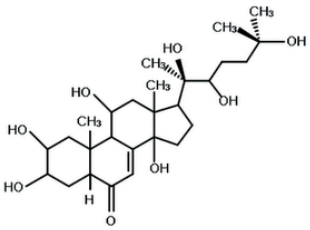
Память – одна из психических функций и видов умственной деятельности, предназначенная сохранять, накапливать и воспроизводить информацию. Способность длительно хранить информацию о событиях внешнего мира и реакциях организма и многократно использовать её в сфере сознания для организации последующей деятельности [2].

Растения, содержащие вещества, влияющие на работоспособность.

С давних времен люди использовали отвары и настои различных растений для повышения иммунитета, устойчивости к внешним факторам, бодрости. В таблице представлен перечень ряда растений, содержащих БАВ, влияющих на работоспособность

Таблица – Растения, содержащие вещества, влияющие на работоспособность

Растения	Вещество	Структурная формула	Действие
Рейнутрия японская, кожура винограда, шелковица	Ресвератрол (фитоалексин, производное транс-стильбена, полифенол)		**Нейропротекторное.** Снижает образование в мозгу животных бляшек, характерных для болезни Альцгеймера и других нейродегенеративных заболеваний **Кардиопротекторное.**
Кофе, кукуруза, рис, пшеница, ячмень и овёс, пижма девичья, зверобой	Мелатонин (гормон)		**Антиоксидантный.** Способностью мелатонина нейтрализовать свободные радикалы. **Антидепрессант.** **Антистрессорный.** Ослабляет эмоциональную реактивность.
Облепиха крушевидная (масло)	Фитостерины	*β -ситостерин*	Уменьшения холестерина (уменьшается объём его всасывания в кишечнике)
Зверобой	Гиперицин		Подавление депрессии и тревоги
Розмарин	Алкалоиды (розмарицин), урсоловая и розмариновая кислоты, дубильные вещества, бетулиновая кислота, кофейная кислота		Тонизирующе действие, снимает стресс и нервное напряжение. Улучшает мозговое кровообращение, память.
Базилик, черная смородина	Рутин		Улучшает кровообращение, антиоксидант
Лимонник китайский	Схизандрин		Адаптогенное, общетонизирующее и психостимулирующее действие

Растения	Вещество	Структурная формула	Действие
Элеутерококк колючий	Элеутерозид А, В, В-1, С, D, Е, F. А	 *элеутерозид А*	Общетонизирующее и адаптогенное действие, повышает неспецифическую резистентность организма
Рапонтикум сафлоровидный (Левзея)	Экдистен		Повышает умственную и физическую работоспособность, обладает тонизирующим эффектом. Является метаболическим средством.
Живучка туркестанская	Туркестерон		Тонизирующее действие, стимулирует работоспособность, предохраняет от негативного воздействия различных стрессорных факторов. Под действием Туркестерон усиливается биосинтез белка в организме, особенно в мышечной ткани, стимулируется эритропоэз и иммуногенез.

С целью выбора метода получения фитосубстанции, обогащенной БАВ адаптогенного стимулирующего действия, были проанализированы физико-химические свойства ряда входящих в эти растения веществ.

Ресвератрол (3,4',5-Trihydroxy-trans-stilbene; 5-[(1E)-2-(4-Hydroxyphenyl) ethenyl]-1,3-benzenediol). По химической структуре ресвератрол относится к ароматическим поликетидам. Подкласс: дифениловые эфиры, бифенилы, дибензилы и стильбены. Категория: Поликетиды. Ресвератрол слабо растворим в воде: 3 мг / 100 мл. Растворим в органических растворителях, таких как этанол, ДМСО и диметилформамид, приблизительно при 65 мг / мл; растворимость в PBS (забуференный фосфатом физиологический раствор) при pH 7,2 составляет приблизительно 100 мкг / мл [3].

Мелатонин (N-[2-(5-Метокси-1H-индол-3-ил) этил] ацетамид) – гормон триптаминовой структуры, вырабатываемый шишковидной железой, по структуре близок к серотонину.[4] Физиологически секреция мелатонина повышается вскоре после наступления темного времени суток, достигает максимума в период с 2 ч ночи до 4 ч утра и снижается в течение второй половины ночи.

Фитостерины – стероидные спирты, нерастворимы в воде и растворимы в спирте [5].

Гиперицин – конденсированное антраценпроизводное. Свободные агликоны антраценпроизводных хорошо растворяются в органических растворителях, за исключением метилового и этилового спиртов. В воде не растворяются, но хорошо растворимы в водных растворах щелочей за счет образования фенолятов. В форме гликозидов антраценпроизводные хорошо растворяются в воде, еще лучше – в щелочи, хуже – в этаноле и метаноле, не растворимы в органических растворителях [6].

Розмарицин – алкалоид. Как правило, алкалоиды плохо растворимы в воде, но хорошо растворимы во многих органических растворителях (диэтиловом эфире, хлороформе и 1,2-дихлорэтане). Исключением является кофеин, хорошо растворимый в кипящей воде. При взаимодействии с кислотами алкалоиды образуют соли различной степени прочности. Соли алкалоидов, как правило, хорошо растворимы в воде и спиртах и плохо растворимы в большинстве органических растворителей, хотя известны соли, плохо растворимые в воде (сульфат хинина) и хорошо растворимые в органических растворителях (гидробромид скополамина).

Рутин – гликозид флавоноида кверцетина. Растворимость в воде 12,5 г / 100 мл. Растворим в дисульфиде и бензоле. Рутин светочувствителен и гигроскопичен. Рутин используется системно, но также местно в кремах и мазях, которые применяются для стимуляции кровообращения и уменьшения хрупкости капилляров в конечностях тела [8].

Экдистен – природное соединение стероидной структуры.

Туркестерон – органическое вещество, экдистероид (фитоэкдистероид).

Термин «экдистероиды» происходит от греческого слова «экдизис» (линька) и объединяет в себе группу липофильных полигидроксилированных стероидов, участвующих в жизнедеятельности практически всех живых организмов. В организме млекопитающих они оказывают разнообразные эффекты: анаболический, актопротекторный, адаптогенный, антигипергликемический, гиполипидемический [7].

Обоснование выбора лекарственной формы фитопрепаратов и пути введения.

Для эффективного сочетания веществ различной полярности в одной лекарственной форме перспективной является мягкая лекарственна форма, такая как мазь, поскольку она сочетает в себе гидрофильную и липофильную основу и позволяет вводить одновременно гидрофильные и липофильные вещества.

Одним из развивающихся способов введения является интерназальнй. Слизистую оболочку полости носа можно использовать в качестве неинвазивного пути для системного введения препаратов. Площадь слизистой носа у челове-

ка составляет около 150 см^2. Она обильно снабжена кровеносными сосудами, что обеспечивает быструю абсорбцию большинства лекарственных средств, создает их высокую концентрацию в системном кровотоке и позволяет избежать эффекта первого прохождения препарата через печень, с которым приходится считаться при назначении лекарственных средств внутрь. Такой способ введения – в обход желудочно-кишечного тракта – позволяет вводить даже пептидные гормоны [9].

Абсорбция лекарственных веществ со слизистой оболочки носа происходит главным образом за счёт пассивной диффузии. Небольшие незаряжённые молекулы способны легко проникать через слизистую оболочку носа, в отличие от крупных молекул. Транспорт может происходить как через клеточную мембрану (трансцеллюлярно), так и через межклеточное вещество (парацеллюлярно). Трансцеллюлярно всасываются прежде всего липофильные молекулы, причём скорость абсорбции коррелирует со степенью липофильности. Парацеллюлярно всасываются небольшие полярные молекулы. Степень и скорость абсорбции зависит от анатомо-физиологических особенностей носовой полости и физико-химических характеристик действующего вещества.

Перспективное направление фармацевтической технологии – создание интераназальных препаратов центрального действия. Инновационные технологии позволяют создать лекарственные препараты для интераназального введения, поступающие в головной мозг. Для этого в их состав вводят микро- и наноносители направленной доставки, отвечающие ряду требований: биосовместимость, нетоксичность, биодеградируемость, физическая стабильность в кровеносном русле, способность преодолевать гематоэнцефалический барьер и др. [10].

На сегодняшний момент используются микрочастицы (диаметр 1–1000 мкм) на основе хитозана и гидроксипропилметилцеллюлозы. Последняя применяется для создания современной интраназальной формы трамадола, поступающего в головной мозг. В качестве наночастиц используются полимерные частицы, дендримеры, мицеллы, эмульсии, липосомы размером до 300 нм. Разработаны наночастицы, поверхность которых модифицирована полиэтиленгликолем («пэгилированные частицы»). Благодаря им удалось значительно уменьшить дозировку атипичного нейролептика сульпирида, обеспечив его накопление именно там, где это необходимо – в головном мозге. Ещё один системный препарат, который используется интераназально – золмитриптан, оказывающий противомигренозное действие. Пероральные его формы имеют низкую биодоступность и плохо переносятся – они связаны с тошнотой. Интераназальная форма препарата, содержащая наноносители в виде мицелл, оказывает центральное действие и гораздо более активна по сравнению с парентеральной [11].

Преимущества интераназального введения лекарственных веществ [12]:

- наличие центрального эффекта – оболочки обонятельных и тройничного нервов не имеют гематоэнцефалического барьера, поэтому при интераназальном введении препараты могут непосредственно поступать в головной мозг;
- отсутствие эффекта первого прохождения через печень и связанная с этим благоприятная степень переносимости;
- при интераназальном введении препараты не подвергаются разрушающему действию ферментов и агрессивной среды пищеварительного тракта;
- удобство, простота применения, а, следовательно – более высокий комплаенс;
- быстрая абсорбция и высокая скорость развития системного эффекта;
- высокая биодоступность низкомолекулярных препаратов.

Однако, существует и ряд ограничений применения интераназальных системных форм:

- раздражение или контактная сенсибилизация слизистой оболочки носа;
- невозможность интераназального введения некоторых препаратов;
- сложности в обеспечении стабильной концентрации интераназальных препаратов в крови.

Заключение

Показано, что в понятие работоспособность включается ряд понятий, относящихся к физиологическим особенностям организма, таким как нормально функционирующая сердечно-сосудистая система, а также более субъективные понятия, такие как бодрость и хорошая память.

Исходя из физико-химических свойств комплекса БАВ, содержащихся в растениях, показано, что наиболее технологичной лекарственной формой является мягкая лекарственная форма, способная объединить в себе вещества гидрофильной и липофильной природы. А интерназальное введение мази позволит доставлять действующие вещества в организм, минуя агрессивную среду желудочно-кишечного тракта.

На основании обзора информационных источников определен комплекс действующих веществ, которые могут быть включены в назальную мазь для повышения работоспособности. Дальнейшая работа над этой темой предполагает выбор подходящих вспомогательных веществ и способа включения действующих веществ в мазевую основу.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.36 Лекарственные средства из природного сырья

61.45.39 Готовые лекарственные формы

ЛИТЕРАТУРА

1. Артемникова А.А. Работоспособность и утомление у лиц умственного труда: понятие о зонах активности человека // Медицина труда и экология человека. 2020ю DOI: 10.24411/2411-3794-2020-10102

2. Большая советская энциклопедия. М.: Советская энциклопедия, 1969—1978.

3. Рейнутрия японская Хаутт // Королевский ботанический сад Кью. [Электронный ресурс]. URL: https/powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:435655-1 (дата обращения: 20.12.2021)

4. Melatonin for pre- and postoperative anxiety in adults / M.V. Hansen [et al.] // Cochrane Database Syst Rev. 2015 Vol. 2015(4). doi: 10.1002/14651858.CD009861.pub2.

5. Azadmard-Damirchi S., Dutta P.C. Phytosterol Classes in Olive Oils and their Analysis by Common Chromatographic Methods // Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention. [S.I.]. : Academic Press, 2010. P. 249-257 doi.org/10.1016/B978-0-12-374420-3.00027-9

6. Coppock R.W., Dziwenka M. St. John's Wort // Nutraceuticals. 2016. P. 619-631, doi.org/10.1016/B978-0-12-802147-7.00045-0

7. Современные представления о фармакодинамике экдистероидов / А.В. Щулькин [и др.]. // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2012. N 4.

8. Murakami A. Polyphenols in the Prevention and Treatment of Vascular and Cardiac Disease, and Cancer // Polyphenols in Human Health and Disease. 2014. P. 1231-1240, doi.org/10.1016/B978-0-12-398456-2.00093-1

9. Маркс Д., Биркхофф М., Вилльямс Г. Интерназальное введение лекарств. Интересное прошлое и замечательное будущее // Современные технологии фармупаковки. 2015. N 5.

10. Привалова А.М., Гуляева Н.В., Букреева Т.В. Интраназальное введение перспективный способ доставки лекарственных веществ в мозг // Нейрохимия. 2012. Т. 29. N 2. С. 93-93.

11. Гуревич К.Г. Разработка систем интраназальной доставки лекарственных средств // Качественная клиническая практика. 2008. N 1. С. 2-5.

12. Поздеева М. Передовая фармакология: cavum nasi // Катренстиль. 2021. N 205.

13. Курамшин А.И. Чайные церемонии химиков // Химия и жизнь. 2017. N 2.

14. Melatonin. [Internet] URL. : https://www.rxlist.com/melatonin/supplements.htm (Accessed 12.20.2021).

15. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. URL. : https://grls.rosminzdrav.ru/ (дата обращения: 20.12.2021).

16. Лекарственное сырье [Электронный ресурс] URL.: https://biopax.ru/ (дата обращения: 20.12.2021).

17. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения / под ред. Г.П. Яковлева, К.Ф. Блиновой. СПб.: Изд-во СПХФА, 2002. 175 с.

18. Универсальная энциклопедия лекарственных растений / сост: Путырский И., Прохоров В. Ми. : Книжный дом ; М.: Махаон, 2000. 656 с.

SUMMARY

APPROACHES TO THE DEVELOPMENT OF PHYTOPREPARATIONS THAT INCREASE EFFICIENCY

Vantorina D.D., 1st year master student
Kauchova I.E., Doctor of pharmaceutical sciences, professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: vantorina.darya@pharminnotech.com

The components of operability are considered. The theoretical substantiation of the composition of the active substances of the dosage form for maintaining efficiency and the route of administration is presented.

Keywords: *efficiency, phytopreparations, intranasal administration, mild dosage form, BAS, increasing working capacity.*

REFERENCES

1. Artemnikova A.A. Efficiency and fatigue in mental workers: the concept of human activity zones // Occupational Medicine and Human Ecology. 2020. DOI: 10.24411/2411-3794-2020-10102 (in Russian)

2. Great Soviet Encyclopedia. M.: Soviet Encyclopedia. 1969-1978. (in Russian)

3. Japanese Reinutria Houtt. Plants of the world online. Royal Botanic Gardens. Kew. [Internet] URL: https/powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:435655-1 (accessed 12/20/2021) (in Russian)

4. Melatonin for pre- and postoperative anxiety in adults / M.V. Hansen [et al.] // Cochrane Database Syst Rev. 2015 Vol. 2015(4). doi: 10.1002/14651858.CD009861.pub2.

5. Azadmard-Damirchi S., Dutta P.C. Phytosterol Classes in Olive Oils and their Analysis by Common Chromatographic Methods // Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention: Academic Press, 2010. P. 249-257 doi.org/10.1016/B978-0-12-374420-3.00027-9

6. Coppock R.W., Dziwenka M. St. John's Wort // Nutraceuticals. 2016. P. 619-631, doi.org/10.1016/B978-0-12-802147-7.00045-0

7. Modern ideas about the pharmacodynamics of ecdysteroids / A.V. Shchulkin [et al.] // Russian Medical and Biological Bulletin named after Academician I.P. Pavlova. 2012. N 4. (in Rusian)

8. Murakami A. Polyphenols in the Prevention and Treatment of Vascular and Cardiac Disease, and Cancer // Polyphenols in Human Health and Disease. 2014. P. 1231-1240. doi.org/10.1016/B978-0-12-398456-2.00093-1

9. Marx D., Birkhoff M., Williams G. Intranasal drug administration. An interesting past and a wonderful future // Modern technology of pharmaceutical packaging. 2015. N 5. (in Rusian)

10. Privalova A.M., Gulyaeva N.V., Bukreeva T.V. Intranasal administration is a promising method for delivering drugs to the brain // Neurochemistry. 2012. Vol. 29. N 2. P. 93-93. (in Rusian)

11. Gurevich K.G. Development of intranasal drug delivery systems // Qualitative clinical practice. 2008. N 1. P. 2-5. (in Rusian)

12. Pozdeeva M. Advanced pharmacology: cavum nasi // Katrenstyle. 2021. N 205. (in Rusian)

13. Kuramshin A.I. Tea ceremonies of chemists // Chemistry and life. 2017. N 2. (in Rusian)

14. Melatonin. [Internet] URL. : https://www.rxlist.com/melatonin/supplements.htm (Accessed 12.20.2021).

15. State Register of Medicines. [Internet] URL. : https://grls.rosminzdrav.ru/ (Accessed 12.20.2021). (in Rusian)

16. Medicinal raw materials. [Electronic resource] URL. : https://biopax.ru/ (Accessed 20.12.2021). (in Rusian)

17. Encyclopedic Dictionary of Medicinal Plants and Animal Products / Ed. G.P. Yakovlev, K.F. Blinova. St. Petersburg: Izd-vo SPKhFA, 2002. 175 p. (in Rusian)

18. Universal Encyclopedia of Medicinal Plants / comp: Putyrsky I., Prokhorov V. Mi.: Book House ; M.: Makhaon, 2000. 656 p. (in Rusian)

УДК 615.03

РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРО- И НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ ИЗ НОСА В МОЗГ

Гордеева Д.С., асп. 2 года обучения
Руководители: **Мустафин Р.И.**, канд. фарм. наук, доц. (ORCID: 0000-0002-0916-2853),
Хуторянский В.В., канд. хим. наук, проф. (ORCID: 0000-0002-7221-2630)
Казанский государственный медицинский университет
420012, Казань, ул. Бутлерова, д. 49, Российская Федерация
E-mail: 471red@gmail.com

Были разработаны методики получения мукоадгезивных микро- и мукуспроникающих наноразмерных частиц – микрокапсул и липосом. Изучены их физико-химические свойства с целью дальнейшего применения в системах интраназальной доставки психотропных лекарственных веществ в мозг для лечения неврологических расстройств.

Ключевые слова: *интраназальная доставка лекарственных веществ, микрокапсулы, липосомы, мукоадгезивная доставка, мукуспроникающие вещества, модифицированные системы доставки.*

На сегодняшний день перспективной и интересной областью исследований является интраназальный способ доставки лекарственных веществ (ЛВ) в мозг. Носовая полость состоит из двух частей, которые разделены носовой перегородкой, и образуют преддверие, дыхательную и обонятельную области. В обонятельной части имеются обонятельные рецепторы, через которые происходит всасывание активных компонентов ЛВ, поступающих по обонятельным нервам напрямую в головной мозг. Данный аспект решает одну из основных проблем фармакотерапии неврологических расстройств, которая заключается в необходимости преодоления гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). В ходе непосредственного проникновения веществ из носа в мозг отсутствует «эффект первого прохождения» через печень, что повышает биодоступность (БД) лекарственного препарата (ЛП). Также боковая стенка носовой полости обогащена кровеносными сосудами, что способствует непосредственному всасыванию ЛВ в системный кровоток [1]. Сегодня на фармацевтическом рынке можно встретить препараты для лечения заболеваний мозга в виде капель для закапывания в нос. Однако, часть ЛВ может теряться при применении из-за заглатывания и попадания в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ). Поэтому необходимо увеличить время пребывания ЛВ на слизистой носа посредством мукоадгезии или ускорить проницаемость ЛВ, используя мукуспроникающие средства в составе лекарственных форм (ЛФ).

Цель работы – разработка и исследование мукоадгезивных микро- и мукуспроникающих наноразмерных частиц для интраназальной доставки психотропных лекарственных веществ в мозг.

Задачи:

1. Разработать технологию получения микроразмерных частиц – микрокапсул (МК), получаемых методом УЗ-электрораспыления.

2. Подобрать оптимальный состав сконструированных традиционно МК и мукоадгезивных – функционализированных МК ($МК_{МА}$).

3. Подтвердить образование и исследовать полученные частицы в ультрафиолетовом свете с применением цифрового USB-микроскопа.

4. Получить наноразмерные частиц – липосомы методом «гидратация липидной пленки» и исследовать их физико-химические свойства методом динамического рассеивания света (ДРС).

5. Изучить мукоадгезивные свойства полученных наночастиц путем исследования их удерживания на изолированных слизистых оболочках носа овец.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования выступили два типа МК и два типа липосом.

Были получены сконструированных традиционно МК и функционализированные $МК_{МА}$, покрытые адгезивным материалом, методом УЗ-электрораспыления на инкапсуляторе B-390 (BUCHI, Швейцария) с применением одинарной головки и насадки с диаметром 200 мкм. Раствор альгината натрия (Panreac, EC) был использован, как плёнкообразующий материал, который подавался под давлением 130 – 150 мбар. Струя раствора альгината натрия подвергалась действию ультразвука, разбиваясь на капли одинакового размера, которые в последствии попадали в электрическое поле, распыляясь в раствор кальция хлорида при постоянном перемешивании с образованием МК. Полученные МК отфильтровывали, промывали деионизированной водой и высушивали в течение 48 ч. в лиофильной сушке FreeZone 1 L (Labconco, США). Для получения функционализированных (мукоадгезивных) $МК_{ма}$, сконструированные традиционно МК покрывали раствором адгезивного сополимера Eudragit® EPO (EPO) (Evonik, Германия). Подтверждение образования и исследование размеров $МК_{МА}$ было проведено микроскопически в ультрафиолетовом свете с использованием портативного УФ-источника (Jialitte F114, КНР) и применением цифрового USB-микроскопа (OT INL40 1000X, КНР). Программное обеспечение ImageJ 1.53e (ImageJ, США) использовалось для определения размеров МК и $МК_{МА}$.

Традиционные и мукуспроникающие липосомы были получены с использованием метода «гидратация липидной пленки». Для их приготовления использовались липиды: L-альфа-фосфатидилхолин сои (ФХ) (Alfa Aesar, Великобритания), холестерол (ХЛ) (Sigma Aldrich, Великобритания) и [N-(карбонил метоксиполиэтиленгликоль-2000)-1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин, натриевая соль] (МПЭГ2000-ДСПЭ) (Avanti Polar Lipids, США). Растворы липидов готовили в среде хлороформно-метанольной смеси 2:1. Через полученные растворы пропускали поток азота до образования липидной пленки, которую затем помещали в вакуум сушильный шкаф VD 23 (Binder, Германия) на ночь для удаления остатков органических растворителей. Затем проводили гидратацию липидной пленки в 5 мл фосфатного буфера в течение 1 ч. Для получения суспензии липосом раствор 30 мин перемешивали на Vortex (IKA® Werke GmbH, Германия). С целью уменьшения размера частиц растворы помещали в УЗ-баню на 30 мин. Чтобы удалить излишки липидов из раствора, суспензию липосом центрифугировали в течение 30 минут при скорости 14000 rpm. Перед исследованием частиц липосомы выдерживали ночь в холодильнике. Исследование размеров, индекса полидисперсности и дзета-потенциала полученных липосом проводилось методом ДРС на приборе Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments, Великобритания).

Исследование удержания липосом на слизистой оболочки носа овец проводилось по методу, ранее разработанным научной группой Khutoryanskiy [2]. Изолированную носовую перегородку овцы размером 1,5x1,0 размещали на предметном стекле и наносили анализируемый раствор, содержащий флуоресцеин натрия (NaFl) (Sigma Aldrich, Великобритания). Исследование проводилось в термостате при температуре 37,0 ± 0,5 °C. Со скоростью 0,43 мл/мин изолированный участок ткани промывали искусственной назальной жидкостью и регистрировали флуоресцентное изображение с помощью стереомикроскопа Leica MZ10F (Leica Microsystems, Германия) с цифровой камерой Leica DFC3000G. Каждый эксперимент был проведен в трехкратной повторности. Программное обеспечение ImageJ использовалось для анализа полученных микроскопических изображений.

Результаты и обсуждение

Сконструированные традиционно МК имели состав 1,0% альгинат натрия / 0,5% $CaCl_2$ и представляли собой, после высушивания, легко сыпучий порошок белого цвета.

С целью изучения МК в УФ-свете в альгинат натрия добавляли NaFl (рис. 1). Средний размер МК составил 0,365 ± 0,018 мм. На основании полученных измерений, можно сделать вывод, что система монодисперсна.

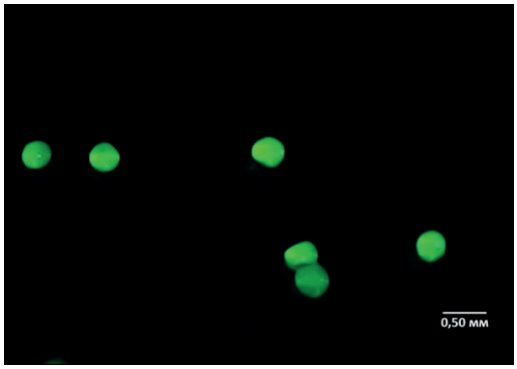


Рисунок 1. МК, загруженные NaFl в УФ-свете

В ходе исследования были изучены различные составы для получения $МК_{МА}$, покрытых мукоадгезивным полимером – EPO. Оптимальный состав МК, покрытых EPO – 1,0% альгинат натрия / 0,5% $CaCl_2$ + 0,5% EPO. С целью доказательства наличия EPO в составе МК был использован флуоресцентно меченный EPO (FEPO) (рис. 2). Флуоресцентное свечение оболочки частиц в УФ-свете подтверждает наличие сополимера на поверхности МК (в структуре оболочки).

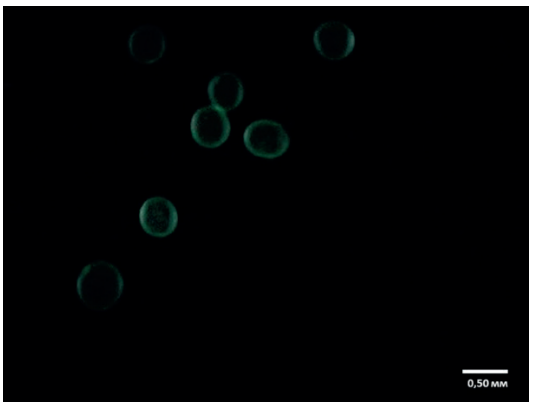


Рисунок 2. $МК_{МА}$ состава 1,5% альгинат натрия / 0,5% $CaCl_2$ + 0,05% FEPO

Также в ходе работы были получены традиционные липосомы, незагруженные ЛВ и загруженные NaFl. Загрузка липосом NaFl не влияет на их физико-химические свойства. Для определения стабильности частиц ДРС анализ был проведен снова через неделю после получения липосом.

Результаты размера частиц (нм), индекса подисперсности и дзета-потенциала (мВ) представлены в таблице 1 и таблице 2. Индекс полидисперсности <0,200, что говорит о распределении частиц одного размера (монодисперсности). Липосомы стабильны в течение 1 недели при хранении в холодильнике.

Таблица 1 – Результаты ДРС липосом после получения

Образец	Размер частиц (нм)	Индекс полидиспесности	Дзета-потенциал (мВ)
Незагруженные липосомы	85 ± 1	0.165	-19 ± 1
Липосомы, содержащие флуоресцеин натрия	82 ± 1	0.188	-18 ± 1

Таблица 2 – Результаты ДРС липосом через неделю после получения

Образец	Размер частиц (нм)	Индекс полидиспесности	Дзета-потенциал (мВ)
Незагруженные липосомы	87 ± 1	0.146	-42 ± 1
Липосомы, содержащие флуоресцеин натрия	86 ± 1	0.189	-40 ± 1

Для получения мукуспроникающих наночастиц использовали МПЭГ2000-ДСПЭ для образования ПЭГилированных липосом. Их приготовление проводилось с загрузкой флуоресцеином натрия. По результатам ДРС, приведенным на рисунке 3, можно заметить, что ПЭГилированные липосомы характеризуются большим размером, чем обычные липосомы. Однако индекс полидисперсности также сохраняется при значениях <0,200 (таблица 3). Стабильность полученных частиц была изучена через неделю после их получения (таблица 4). Липосомы – стабильны, размер и индекс полидисперсности сохраняются без существенных изменений.

Таблица 3 – Результаты ДРС традиционных и ПЭГилированных липосом после получения

Образец	Размер частиц (нм)	Индекс полидиспесности	Дзета-потенциал (мВ)
Традиционные липосомы	82 ± 1	0.188	-18 ± 1
ПЭГилированные липосомы	105 ± 1	0.153	-4 ± 1

Таблица 4 – Результаты ДРС традиционных и ПЭГилированных липосом через неделю после получения

Образец	Размер частиц (нм)	Индекс полидиспесности	Дзета-потенциал (мВ)
Традиционные липосомы	86 ± 1	0.189	-40 ± 1
ПЭГилированные липосомы	106 ± 1	0.146	-33 ± 1

На рисунке 3 представлена интенсивность распределения традиционных и ПЭГилированных липосом после получения и через неделю хранения.

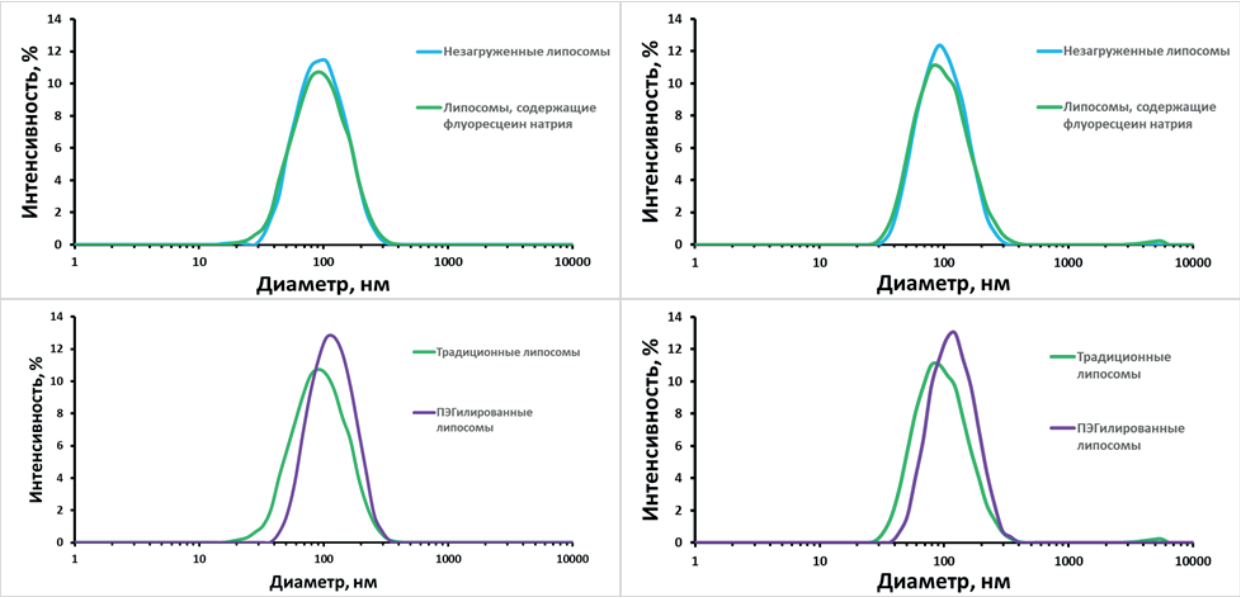


Рисунок 3. Интенсивность распределения традиционных и ПЭГилированных липосом после получения и через неделю

Исследование удерживания наночастиц на изолированных участках слизистой носа овец показало, что ПЭГилированные липосомы не обладают мукоадгезивными свойствами (рис. 4). В течение 30 минут эксперимента ПЭГилированные липосомы смываются быстрее, чем традиционные липосомы, и не удерживаются на слизистой, что, по нашему мнению, может быть связано с их лучшим проникновением внутрь ткани (рис. 5).

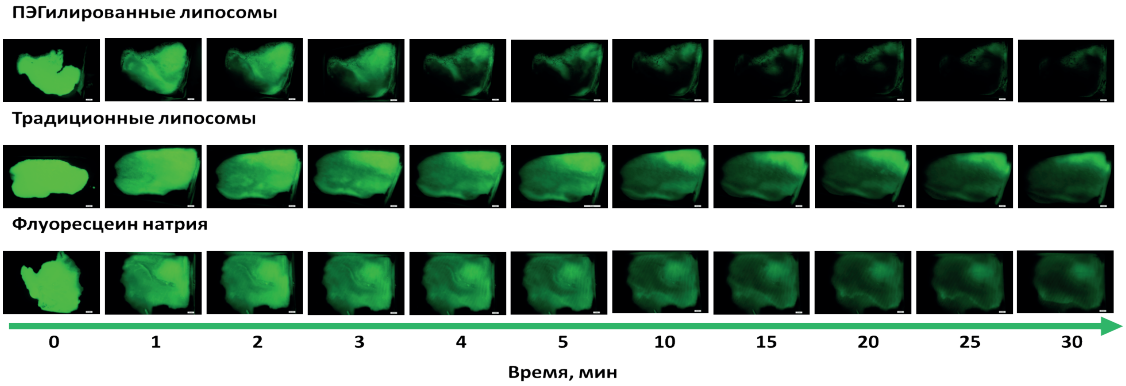


Рисунок 4. Изображения участков изолированной слизистой оболочки носа овец под флуоресцентным микроскопом

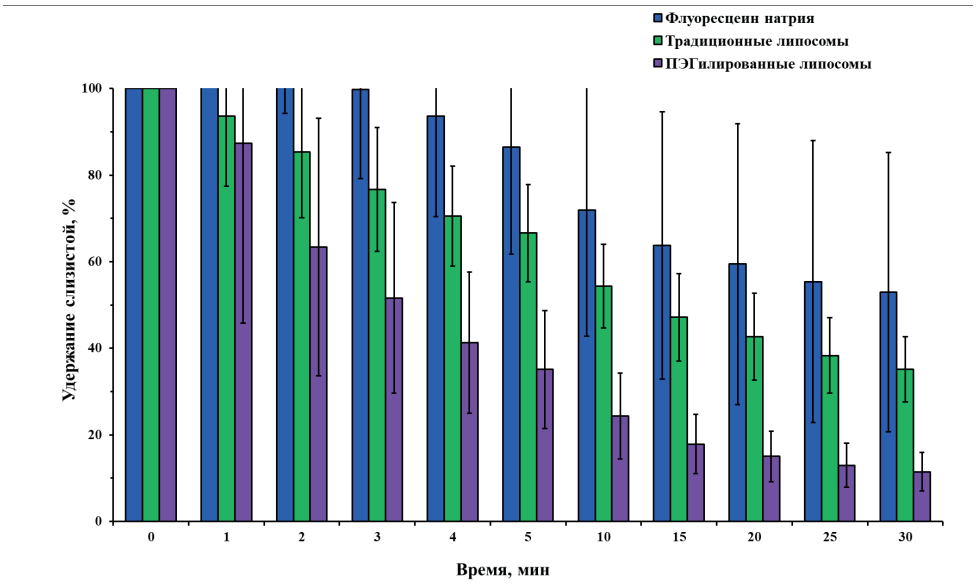


Рисунок 5. Результаты по удержанию липосом на изолированных участках слизистой оболочке носа овец

Заключение

В результате проделанной работы были получены и исследованы мукоадгезивные микро- и мукуспроникающие наноразмерные частицы, которые могут служить перспективными носителями для интраназальной доставки психотропных лекарственных веществ в мозг.

Выводы:

1. Разработана технология получения сконструированных традиционно и функционализированных (покрытых Eudragit® EPO) микрокапсул методом УЗ-электрораспыления с применением одинарной головки и насадки 200 мкм.

2. Оптимальный состав для получения микрокапсул – 1,0% альгинат натрия / 0,5% $CaCl_2$, а микрокапсул, покрытых полимером – 1,0% альгинат натрия / 0,5% $CaCl_2$ + 0,5% EPO.

3. Микроскопически было подтверждено образование микрочастиц. Средний размер составил 0,365 ± 0,018 мм.

4. Были получены традиционные и ПЭГилированные липосомы методом «гидратация липидной пленки» и исследованы их физико-химические свойства методом динамического рассеивания света. Полученные монодисперсные наночастицы стабильны в течение недели. Загруженные NaFl традиционные липосомы имеют размер 82 ± 1, а ПЭГилированные – 105 ± 1 нм.

5. Мукуспроникающие ПЭГилированные липосомы не обладают способностью к адгезии и проникают внутрь слизистой оболочки носа овец.

Источник финансирования

Работа по получению липосом выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 20-65-46007).

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.33 Биофармация

31.25.00 Химия высокомолекулярных соединений

ЛИТЕРАТУРА

1. Интраназальное введение как способ доставки лекарств в головной мозг (обзор) / Н.Н. Порфирьева [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10. N 4. С.117–127. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-117-127

2. Mucoadhesive maleimide-functionalised liposomes for drug delivery to urinary bladder / D.B. Kaldybekov [et al.] // European journal of pharmaceutical sciences. 2017. Vol. 111. P. 83–90. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.09.039

SUMMARY

DEVELOPMENT AND STUDY OF MICRO- AND NANOPARTICLES FOR NOSE TO BRAIN DRUG DELIVERY

Gordeeva D.S., Ph.D. 1 year of study

Scientific supervisor: **Moustafine R.I.**, Ph.D., Associate Professor (ORCID: 0000-0002-0916-2853),

Khutoryanskiy V.V., Ph.D., Professor (ORCID: 0000-0002-7221-2630)

Kazan State Medical University;

49, Butlerov St., Kazan, 420012, Russian Federation

E-mail: 471red@gmail.com

Methodology has been developed for preparation of mucoadhesive micro- and mucus-penetrating nanosized particles – microcapsules and liposomes. Their physicochemical properties have been studied for future use as carriers of psychotropic drugs for nose to brain delivery for neurological diseases treatment.

Keywords: *intranasal drug delivery, microcapsules, liposomes, mucoadhesive delivery, mucus-penetrating agents, modified delivery systems.*

REFERENCES

1. Intranasal Administration as a Route to Deliver Drugs to the Brain (Review) / N.N. Porfiryeva [et al.] // Drug development & registration. 2021. Vol. 10(4). P. 117–127. (In Russian) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-117-127

2. Mucoadhesive maleimide-functionalised liposomes for drug delivery to urinary bladder / D.B. Kaldybekov [et al.] // European journal of pharmaceutical sciences. 2017. Vol. 111. P. 83–90. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.09.039

УДК 58.036.5

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК

Данилова Е.С., **Письмерова А.И.**, **Перова Д.И.**, студ. 2 курса, бакалавриат
Руководитель: **Пивоварова Н.С.**, канд. фарм. наук, доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ekaterina.danilova@spcpu.ru

Проведен анализ различных источников, на основе которого были выведены основные понятия криоконсервации, представлены примеры применения данного метода.

Ключевые слова: *криоконсервация, хранения различных категорий растительного материала, удаление воды, пижма улутавская, картофель, in vitro.*

Криобиология – молодая отрасль биологии, которая изучает действие пониженных температур на объекты животного и растительного мира. В своем обзоре английский физик Ф. Саймон писал, что «… это та область, в которой человек существенно превзошел саму природу». Достижение низких и сверхнизких температур ценно для нас тем, что в этих условиях мы встречаемся с новыми явлениями и фактами, помогающими проникать в суть строения материи, позволяющими использовать новые методы исследования; наконец, низкие температуры являются важным инструментом технического прогресса, особенно в области новой техники. Главное преимущество хранения при сверхнизких температурах состоит в значительном замедлении, или даже остановке, метаболических процессов в тканях растений и животных [1].

Целью работы является выявление преимуществ криоконсервации, изучение данных о применении метода на примере картофеля и пижмы.

Исследования устойчивости растений к криогенному замораживанию впервые начаты в России в 60-х годах 20 века сотрудниками Института физиологии растений (ИФР РАН). Важнейшей вехой в исследованиях воздействия на растения криогенных температур стало применение метода культивирования in vitro изолированных тканей для изучения процессов формирования криоустойчивости растительных клеток. Исследователи, работавшие в разных областях физиологии растений, показали, что именно использование биотехнологических методов открывает реальный путь к созданию криобанков разнообразного растительного материала, в том числе и культивируемого in vitro. В 1982 году, по инициативе член- корреспондента РАН (Российская академия наук), академика РАСХН (Российская академия сельскохозяйственных наук), профессора Раисы Георгиевны Бутенко организована лаборатория криосохранения клеток и растений [2]. С тех пор, стратегической задачей криобиологов ИФР РАН (Институт физиологии растений) стало сохранение в жидком азоте образцов растительного материала для формирования коллекций криобанка растений.

Криоконсервация – сложный многоэтапный процесс, который применяют для сохранения в глубоком холоде клеток, тканей и органов в состоянии анабиоза (скрытой жизни). Главное преимущество хранения при очень низких температурах состоит, видимо, в способности значительно замедлять или даже останавливать метаболические процессы в тканях растений и животных. Материал, хранящийся при низких температурах, остается генетически стабильным, что дает возможность избежать генетических изменений, присущих организмам при развитии в обычных условиях.

Криосохранение вегетативных побегов, почек и пыльцы плодовых культур имеет ряд преимуществ над другими способами хранения по следующим критериям:

1. поддерживается сортовая целостность культуры
2. низкая стоимость поддержания по сравнению с садовыми посадками
3. занимает мало места при хранении
4. увеличивается длительность хранения на десятки и сотни лет
5. достигается оптимизация хранения за счет изменения
6. которые различаются по физическим механизмам: классические процедуры криоконсервации, основанные на вызванном замораживанием обезвоживании, и флэш-замораживание (витрификация), которая включает обезвоживание материала до его охлаждения [3].

Классические подходы включают криоконсервацию с использованием различных криопротекторов в сочетании с предкультивированием на средах, содержащих маннит, сорбит или аминокислоты (пролин, аланин, серин, аспаргин). Метод включает медленное охлаждение до температуры –40 °C (0.5–2.0 °C/мин), а затем быстрое погружение образцов в жидкий азот -196°C [3]. Эти технологии используют для хранения недифференцированных каллусных или суспензионных клеток, апексов холодоустойчивых видов.

Второй подход, основанный на витрификации, включает дегидратацию образцов перед охлаждением путем воздействия высококонцентрированным криопротекторным раствором и/или путем воздушной сушки, что препятствует формированию в дальнейшем внутриклеточного льда. Витрификация – физический процесс, определяемый как переход жидкой фазы в аморфное стеклоподобное состояние [3]. При этом подходе процедура дегидратации за счет охлаждения, характерная для классического подхода, исключена. Процесс постепенного понижения температуры заменен на сверхбыстрое охлаждение подготовленных образцов. Протоколы, основанные на витрификации, постоянно улучшаются. Так, разработана технология инкапсуляции–дегидратации для продуцирования искусственных семян: эксплянты инкапсулируют в альгинатные шарики, подрастив их в жидкой среде, обогащенной сахарозой в течение 1–7 дней, частично

подсушивают в потоке воздуха в ламинаре или с помощью силикагеля и затем быстро погружают в жидкий азот. Этот подход дает стабильный положительный результат для долговременного хранения меристем многих видов, соматических зародышей хвойных ряда цитрусовых видов и сортов и др.

Оттаивание витрифицированной зародышевой плазмы после криоконсервации обычно выполняется в два этапа. Первый медленный этап при комнатной температуре, а затем быстрое согревание материала при температуре 45 °С для избежания появления льда. Для восстановления метаболической активности клеток и нормализации их водного баланса с помощью специальных растворов удаляют токсичные криопротекторы. Поскольку процессы оттаивания и регидратации могут сопровождаться всплеском активных форм кислорода, вызывающих повреждение белков, липидов и нуклеиновых кислот, то используют специальные обработки катодной водой, растворами аскорбиновой кислоты, токоферола, обладающих высокой антиоксидантной активностью.

В качестве примеров криоконсервации растений мы хотим показать результаты исследований из рассмотренных нами статей, а также рассказать про методы и материалы, используемые при опытах.

Первое, о чем бы мы хотели рассказать – это об исследованиях условий криоконсервации семян пижмы улутавской. Исходный материал был собран в горах Улытау (Карагандинская область) в 2-3 декадах августа 2016-2017 гг. При оценке условий замораживания семена помещали в тару, выдерживали в растворах различных криопротекторов, после чего помещали образцы в сосуд Дюара с жидким азотом. В качестве криопротекторов использовали: глицерин, растворы сахарозы 10 и 40%, диметилсульфооксид (ДМСО) различной концентрации и их комбинации. Проводили одно- и двухступенчатую заморозку. Затем образцы семян размораживали при комнатной температуре и на водяной бане, отмывали от криопротекторов и высаживали на чашки Петри на 2-слойную фильтровальную бумагу, смоченную дистиллированной водой. Во время наблюдения оценивали всхожесть и энергию прорастания по вариантам опыта. Анализ полученных данных по вариантам показал, что быстрое замораживание в жидком азоте («шоковая заморозка») без криопротекторов сохраняет жизнеспособность семенного материала, однако, во всех вариантах опыта показатели всхожести и энергии прорастания оказались ниже контрольных значений. Следует отметить, что лучший способ оттаивания при «шоковой» заморозке – при комнатной температуре, тогда как использование водяной бани показало резкое снижение жизнеспособности семян. Применение криопротекторов при «шоковой» заморозке значительно увеличивает показатели всхожести и энергии прорастания. Так, варианты опыта, превысившие контроль 1, отмечены для раствора сахарозы 10%, а также для смеси глицерина в концентрации 90% и ДМСО в концентрации 10%. Предварительное охлаждение в течение суток повышает выживаемость семян в 2 раза. Охлаждение до -30°С привело к снижению всхожести семян по сравнению с контролем, а до -50°С способствовало лучшему сохранению жизнеспособности. Однако, 2- этапное замораживание без применения криопротекторов оказалось не эффективным, так как выявлено значительное снижение количества выживших семян: всхожесть в этом случае составила 27,5±3%, энергия прорастания 25±2,5%, что практически в два раза ниже контрольных значений. Результаты показали, что смеси криопротекторов не оказывают должного защитного эффекта на сохранение семенного материала пижмы при 2-этапном замораживании. Применение чистых веществ приводит к более эффективному сохранению семенного материала. Лучшие показатели всхожести и энергии прорастания при 2-этапном замораживании были отмечены в варианте опыта с этиленгликолем в концентрации 50 %. В данном исследовании показано, что применение криоконсервации является безопасным для зародыша семени, длительный контакт с криопротекторами при температуре ниже -20°С не оказывает токсического влияния на биологический материал.

Также нас заинтересовала исследование, посвященное подбору условий криоконсервации 26 сортов и 6 форм картофеля. В качестве криопротектора также использовали ДМСО – 10%, глицерин – 20% которые снижают действие физико-химических факторов при криоконсервации. Для криоконсервации использованы простерилизованные апикальные меристемы размером 3-5 мм выделенных из глазков клубней и пробирочные растения сортов и форм картофеля. Апикальные меристемы и черенки меристемных линий помещали в эппендоровские пробирки для криоконсервации и за 2 часа до замораживания вносили криопротекторы ДМСО в концентрации 10% и глицерин – 20%. Использовали медленное и быстрое замораживание клеток апикальных меристем. При медленном замораживании апикальных меристем проводили постепенное понижение температуры от +20 до -28°С на спиртовой бане. При быстром замораживании апикальные меристемы в эпиндоровских пробирках сразу погружали в жидкий азот. Далее эпиндоровские пробирки с апикальными меристемами перенесли в жидкий азот на хранение. В настоящее время из введенных в культуру in vitro 32 образцов картофеля создана коллекция меристемных линий из 694 пробирочных растений, которые размножаются и систематически культивируются на питательную среду МС (питательной среды Мурасиге-Скуга) с 40 г/л сахарозы и 0,5 мг/л ИУК (индолилуксусная кислота). Пробирочные растения выращиваются в фактеростатной комнате с 16- часовым световым режимом, освещенностью – 5-6 тыс. люкс, температурой 22-25°С, влажностью 70%. Созданная коллекция в культуре in vitro используется для размножения и криоконсервации [4]. При использовании криопротектора 10% ДМСО при разморозке выжило 36% образцов, при использовании 20% глицерина выжило – 42%. Созданные протоколы криоконсервации не могут гарантировать сохранение всех генотипов. Одним из важных моментов при криоконсервации является регенерация растений после размораживания. В связи с этим, проводили оптимизацию этапов криоконсервации отобранных образцов картофеля. В настоящее время для криоконсервации апикальных меристем картофеля применяем два вида замораживания: медленное (от +20° до – 35°С, скорость 0,5°С в минуту) и быстрое (сразу в жидкий азот).

В заключении можем сказать, что данный метод актуален в силу своих преимуществ, то есть можно хранить растительный материал долгое время, при этом сохраняя целостность культуры. Приведя примеры, мы увидели, что применение криоконсервации является безопасным для зародыша семени, длительный контакт с криопротекторами при температуре ниже -20°С не оказал токсического влияния на биологический материал (для пижмы), а также идет криоконсервация семян, черенков картофеля. Конечно, не только к этим растениям подходит этот метод.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.99.37: Создание банков и коллекций генов, культур тканей и продуцентов биологически активных веществ

ЛИТЕРАТУРА

1. Попов А.С. Криоконсервация культивируемых клеток. Методы культивирования клеток. СПб., 2008. С. 236–250.

2. Биотехнологические коллекции растений и криобанки - важная часть Национального банка-депозитария живых систем / А.М. Носов [и др.] // Роль ботанических садов и дендрариев в сохранении, изучении и устойчивом использовании разнообразия растительного мира: Материалы Международной научной конференции, посвященной 85-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси. (06–08 июня 2017 года. Минск). Минск : Медисонт, 2017. С. 284-290.

3. Новикова Т.И. Использование биотехнологических подходов для сохранения биоразнообразия растений // Растительный мир Азиатской России 2013. N 2(12). С. 119-128.

4. Магзумова Г.К., Ералинов А.Б., Какимжанова А.А. Подбор условий криоконсервации для генотипов картофеля // Вестник КазНУ. 2014. Т. 60. N 1.

5. Додонова А.Ш., Ишмуратова М.Ю., Тлеукенова С.У. Исследование условий криоконсервации семян пижмы улутавской // Экобиотех. 2019. Т. 2. N 3. С. 359-363. http://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-3-359-363

6. Вечернина Н.А. Сохранение биологического разнообразия редких, исчезающих видов, уникальных форм и сортов растений методами биотехнологии: автореф дис. докт. биол. наук. Барнаул, 2006. 42 с.

7. Калашникова Е.А., Кочиева Е.З., Миронова О.Ю. Практикум по сельскохозяйственной биотехнологии. М.: Колос, 2006. 144 с.

8. Филипенко Г.И. Развитие системы низкотемпературного хранения и криокосервации генофонда растений в ВИР им. Н.И. Вавилова // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. СПб. 2007. Т. 164. С. 263–272.

9. Криоконсервирование меристем картофеля и низкотемпературное хранение побегов плодовых культур / В. Г. Вержук [и др.] // Проблемы физиологии растений Севера. Петрозаводск, 2004. С. 38.

10. Вержук В.Г., Павлов А.В. Анализ эффективности методов криоконсервации по показателю жизнеспособности плодовых растений после криосохранения // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия Процессы и аппараты пищевых производств. 2015. N 2. С. 162-166.

SUMMARY

CRYOPRESERVATION OF PLANT CELLS

Danilova E.S., Pismerova A.I., Perova D.I., 2nd year undergraduate students
Supervisor: **Pivovarova N.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, prof. Popova str. 14, Russian Federation

An analysis of different sources has been carried out, on the basis of which the basic concepts of cryopreservation have been deduced and examples of the application of this method have been presented.

Keywords: *cryopreservation, storage of various categories of plant material, water removal, Ulutava pixie, potatoes, in vitro.*

REFERENCES

1. Popov A.S. Cryopreservation of cultured cells. Methods of Cells Cultivation. SPb., 2008. P. 236-250. (in Russian)

2. Biotechnological collections of plants and cryobanks - an important part of the National Depositary Bank of Living Systems / A.M. Nosov [et al] // The role of botanical gardens and arboretums in preservation, study and sustainable use of plant diversity: Proceedings of the International Scientific Conference dedicated to the 85th anniversary of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (June 06-08, 2017. Minsk). Minsk: Medisont, 2017. P. 284-290. (in Russian)

3. Novikova T.I. Use of biothechnological approaches for the conservation of plant biodiversity // Flora and Vegetation of Asian Russia. 2013. N 2(12). P. 119-128. (in Russian)

4. Magzumova G.K., Yeralinov A.B., Kakimzhanova A.A. Selection of cryopreservation conditions for potato genotypes // Vestnik KazNU. 2014. Vol. 60(1). (in Russian)

5. Dodonova A.Sh., Ishmuratova M.Yu., Tleukenova S.U. Study of conditions for cryopreservation of seeds of Ulutava pixie // Ecobiotech Journal. 2019. Vol. 2(3). P. 359-363. http://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-3-359-363 (in Russian)

6. Vechernina N.A. Conservation of biological diversity of rare, endangered species, unique forms and varieties of plants by biotechnology methods: Author's abstract... Doctor of Biology. Barnaul, 2006. 42 c. (in Russian)

7. Kalashnikova E.A., Kochieva E.Z., Mironova O.Yu. Workshop on agricultural biotechnology. Moscow, 2006. 144 p. (in Russian)

8. Filipenko G.I. Development of low-temperature storage and cryopreservation system of plant gene pool in V.I. Vavilov Institute of Plant Industry // Proc. of Applied Bot. State-Petersburg. 2007. Vol. 164. P. 263-272. (in Russian)

9. Cryopreservation of potato meristems and low-temperature storage of shoots of fruit crops / V.G. Verzhuk [et al.] // Problems of Plant Physiology in the North. Petrozavodsk, 2004. P. 38. (in Russian)

10. Verzhuk V.G., Pavlov A.V. Analysis of effectiveness of cryopreservation methods according to the indicator of viability of fruit plants after cryopreservation // Scientific journal NRU ITMO. Series «Processes and Food Production Equipment». 2015. N 2. P. 162-166. (in Russian)

УДК 61:615.457

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕЛЕЙ В ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Долгов Д.С.[1], студент 1 курса, **Губернаторова А.О.**[2], ученица 10 класса
Руководитель: **Фадеева Д.А.**, канд. фарм. наук, доцент, (ORCID: 0000-0002-5539-1390)
[1]Белгородский государственный национальный исследовательский университет
308015, Белгород, ул. Победы, д.85, Российская Федерация
[2]Лицей №10 города Белгорода
308024, Белгород, ул. Мокроусова, д.3а, Российская Федерация
E-mail: dolgov103@gmail.com

В результате данного исследования были рассмотрены перспективы применения гелей в офтальмологической практике. В последние несколько лет исследования показали, что мягкие лекарственные формы, обладающие вязкостью и возможностью добавления активных фармацевтических субстанций, являются самыми осваиваемыми на фармацевтическом рынке. Глазные гели в сравнении с мазями имеют ряд преимуществ, чем и закрепляют свою позицию перспективного представителя мягких лекарственных форм. В настоящий момент гели также имеют и недостатки, но из-за большого набора гелевых основ и компонентов можно получить гель нужной эффективности.

Ключевые слова: *офтальмология, мягкие лекарственные формы, высокомолекулярные гидрофильные полимеры, гель глазной, гелеобразователи, фармацевтический рынок.*

Новые лекарственные формы, в отношении которых в последние годы проводились исследования с целью достижения контролируемого высвобождения лекарственного средства в ткани глаза, включают многокомпонентные системы носителей, вставки, коллагеновые экраны, контактные линзы и так называемые situ-гели. Преимущества использования этих новых лекарственных форм с контролируемым высвобождением, среди прочего, заключаются в увеличении биодоступности вещества за счет увеличения времени его контакта с роговицей, что может быть достигнуто за счет эффективной адгезии к поверхности роговицы, возможности целенаправленного предотвращения потери лекарства в других тканях, обеспечивающих комфорт пациента при применении лекарственной формы и в течение всей терапии, а также повышающих устойчивость к механизмам защиты глаз, таким как слезотечение [1].

Таким образом, целью данного исследования является анализ перспективы применения гелей в офтальмологической практике.

Добавление агентов, увеличивающих вязкость, является наиболее многообещающим подходом к разработке новых лекарственных форм для офтальмологии, так как увеличения времени контакта с роговицей и улучшения биодоступности веществ можно добиться за счет увеличения вязкости лекарства. Вещества с этим эффектом включают высокомолекулярные гидрофильные полимеры – поливиниловый спирт, полоксамеры, гиалуроновую кислоту, карбомеры и полисахариды и камеди, которые не проникают через биологические мембраны и образуют трехмерные сети в воде. Карбомеры используются в жидких и полутвердых препаратах в качестве суспендирующего или повышающего вязкость агента, в то время как гиалуроновая кислота используется в качестве полимера для образования биоразлагаемой и биосовместимой матрицы, что позволяет увеличить время высвобождения лекарства. Для максимального увеличения проникновения действующего компонента в ткани глаз необходимо добиться вязкости лекарственной формы на уровне от 15 до 150 мПа*с, что позволит снизить частоту введения лекарства до одного раза в день [2].

Мягкие лекарственные формы в настоящее время относятся к одним из наиболее широко осваиваемых на фармацевтическом рынке, так как они обладают рядом преимуществ. Так, в их состав возможно вводить активные фармацевтические субстанции (АФС) с различными, зачастую противоположными, физико-химическими свойствами, в том числе не растворенными, а в виде мелкодисперсной суспензии. Гелевые основы не раздражают слизистые, они удобны при применении, не так затуманивают зрение, как мази на гидрофобной основе [3].

Одними из наиболее перспективных представителей мягких лекарственных форм являются гели. Согласно Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания гели – это мази, в которых для получения основы используются гелеобразователи природного и синтетического происхождения [4]. Они могут быть прозрачными или полупрозрачными и предназначены для наружного нанесения на кожу или слизистую оболочку. В некоторых странах различают также гели и желе, которые содержат больше воды и меньше желирующего агента. Гели и желе не имеют жирной основы и создаются с использованием камедей или синтетических производных природных веществ (например, производные целлюлозы)

По определению Европейской фармакопеи, гель – это мягкая лекарственная форма вязкой консистенции, которая обладает способностью сохранять форму и обладает упругостью и пластичностью. Ведущие фармакопеи мира в последние годы включают индивидуальные монографии на типы мази и гели [5].

Физико-химические свойства гелей изменяются в зависимости от внешних условий, так, при комнатной температуре это вязкая структура, тогда как при ее повышении до температуры тела человека либо при механическом воздействии (моргании) они превращаются в вязкие жидкости. При ослаблении внешнего воздействия гели восстанавливают первоначальную гелеобразную структуру. Такая структура и поведение гелей обусловлена образованием сетки между частицами либо молекулами гелеобразователя при смешивании с растворителем. Вязкая структура геля предотвращает инициацию и быстрое протекание различных нежелательных процессов, таких как окисление или гидролиз, делая эту

лекарственную форму более стабильной, нежели растворы. Также благодаря вязкой структуре в гелях минимальна седиментация и адгезия частиц [6, 7].

В общепринятой классификации различают олеогели и гидрогели. В составах гидрогелей в качестве растворителя используют воду очищенную либо смесь воды и гидрофильных растворителей – таких, как полиэтиленгликоль или глицерин, и, собственно, гелеобразователей. Введение последних обеспечивает требуемые реологические свойства гелей – способность сохранять форму, упругость и пластичность в течение времени, а также вязкую консистенцию [3, 8].

В олеогелях в качестве растворителя применяют растительные или минеральные масла, и гелеобразователи гидрофобной природы (цинковое, алюминиевое мыла, полиэтилен и др.) гидрофобной природы [9].

В настоящее время отсутствует стандартизованный подход к разработке состава и технологии мягких лекарственных форм [10]. В Европейской Фармакопее изложены общие требования к их качеству и некоторым методам испытаний, которые лишь предполагают проведение соответствующих исследований при фармацевтической разработке. Некоторые требования сходны как для гелей, так и для мазей. В первую очередь, обе лекарственные формы должны обеспечивать направленный фармакологический эффект и не оказывать токсическое и сенсибилизирующее действие на организм. Гели, как и мази, должны обладать однородностью, возможностью сочетать несколько активных компонентов с различными свойствами, быть стабильными и устойчивы к неблагоприятным внешним воздействиям, обеспечивать отсутствие взаимодействия АФС и вспомогательных веществ, а также легко наноситься [11].

Для соответствия вышеизложенным требованиям при разработке составов важнейшим является выбор оптимальной гелевой основы, так как это позволяет избежать нежелательных взаимодействий при производстве и хранении лекарственной формы [12].

К гелям с точки зрения контроля качества предъявляются требования, аналогичные требованиям к мазям, а именно внешний вид, однородность, подлинность, pH водного извлечения, количественное содержание [4]. Кроме того, дополнительные требования предъявляются к глазным гелям – это стерильность и изотоничность. Для любой лекарственной формы важнейшим критерием является обеспечение биодоступности АФС, которую можно определить по степени его диффузии *in vitro*. Биодоступность геля можно определить двумя методами – диффузией в агар и через полупроницаемую мембрану (диализную пленку) [13].

На стадии фармацевтической разработки мягких лекарственных форм, в особенности гелей, обращают особое внимание на такие показатели, как вязкость и напряжение сдвига, которые позволят спрогнозировать поведение геля как неньютоновской жидкости в процессе производства и упаковки препарата, а также обеспечить необходимые терапевтические свойства препарата [14].

Основными преимуществами гелей, таким образом, являются следующие: гели не нарушают физиологические функции слизистых оболочек, не обладают раздражающим действием, имеют более эстетичный вид по сравнению с мазями [15].

Заключение

Несомненно, гели имеют ряд недостатков, к которым можно отнести возможность микробной контаминации, более быстрая дегидратация, несовместимость с рядом действующих веществ, расслоение геля. Существует широкий ассортимент гелевых основ и их компонентов с разнообразными свойствами. Использование разного вида основ даёт возможность получить продукт с требуемыми свойствами и повысить эффективность гелей. При этом, основообразующие вещества должны иметь определенный набор качеств, позволяющих образовывать устойчивые гели, которые будут сохранять все присущие им свойства в течение всего срока хранения лекарственного препарата [16].

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

61.35.39 Готовые лекарственные формы

ЛИТЕРАТУРА

1. Ophthalmic drug dosage forms: characterisation and research methods / P.Baranowski [et al.] // The Scientific World Journal. 2014. Vol. 2014. https://doi.org/10.1155/2014/861904.

2. Rathore K.S., Nema R.K. An insight into ophthalmic drug delivery system // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research. 2009. Vol. 1(1). P. 1-5. DOI https://doi.org/10.25004/IJPSDR.2009.010101

3. Анурова М.Н., Демина Н.Б. Мягкие лекарственные формы: типы, характеристики, регламентация // Фармация. 2014. N 8. С. 44.

4. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV-е изд. 2018. [Электронный ресурс] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14

5. European Pharmacopoeia. 8 th ed. // Council of Europe. 2014. Vol. 2. 2569 p.

6. Каримова Р.Д., Лаздин Р.Ю., Аллаяров И.Р. Получение мягких лекарственных форм на основе ацетата и сукцинамида хитозана // Вестник Башкирского университета. 2017. Т. 22. N 1. С. 65 –67.

7. Pluronic F-127 and Pluronic Lecithin Organogel (PLO): main features and their applications in topical and transdermal administration of drugs / H. Almeida [et al.] // J. Pharm Pharmaceut. 2012. Vol. l5(4). P. 592-605. doi: 10.18433/j3hw2b.

8. Заливская А.В., Жилякова Е.Т. Анализ основ стоматологических гелей для лечения гингивита // Научный результат. Серия: Медицина и фармация. 2016. Т. 2. N 1(7). С. 53-58.

9. Молчанова Ю.Н., Трубников А.А. Реологические свойства гидрофильных основ мягких лекарственных форм // Фармация. 2015. N 7. С. 39-41.

10. Современные подходы к разработке нормативного документа на гели косметические на основе карбопола / О.В. Гудзь [и др.] // Провизор. 2000. N 12. С. 55.

11. Сравнительная характеристика вспомогательных веществ, используемых в технологии мягких лекарственных средств / Г.В. Беляева [и др.] // Человек и его здоровье. 2010. N 2. С. 125-131.

12. Разработка состава и технологии геля ранозаживляющего действия / О.А. Семкина [и др.] // Вестник РУДН. Серия: Медицина. 2013. N 4. С. 79-87.

13. Хеттуш И., Зубченко Т.Н. Биофармацевтические исследования высвобождения ибупрофена из гелей // Инновации в медицине и фармации. 2016. С. 832-835.

14. Разработка состава и технологии противогрибковой мягкой лекарственной формы / Г.П. Кухтенко [и др.] // Медицина. 2014. N 1. С. 6-9.

15. Анурова М.Н., Е.О. Бахрушина Е.О., Демина Н.Б. Обзор современных гелеобразователей в технологии лекарственных форм // Химико-фармацевтический журнал. 2015. Т. 49. N 9. С. 39-46. https://doi.org/10.30906/0023-1134-2015-49-9-39-46

16. Craig D.Q. The mechanism of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers // Int. J. Pharm. 2002. Vol. 231(2). P. 131-140. https://doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00891-2

SUMMARY

PROSPECTS FOR THE APPLICATION OF GELS IN OPHTHALMOLOGICAL PRACTICE

Dolgov D.S.[1], 1st year student, **Gubernatorova A.O.**[2], school student
Scientific supervisor: **FadeevaD.A.**, cand. of pharm. sc, associate professor, (ORCID: 0000-0002-5539-1390)
[1]Belgorod national research university
308015, Belgorod, Pobedy str. 85, Russia
[2]Belgorod's Lyceum No.10
308024, Belgorod, Mokrousov str..3a, Russia
E-mail: dolgov103@gmail.com

As a result of this study, the prospects for the use of gels in ophthalmic practice were considered. In the past few years, research has shown that soft dosage forms with viscosity and the ability to add active pharmaceutical ingredients are the most developed in the pharmaceutical market. Eye gels in comparison with ointments have a number of advantages, which strengthen their position as a promising representative of soft dosage forms. At the moment, gels also have disadvantages, but due to the large set of gel bases and components, it is possible to obtain a gel of the desired efficiency.

Keywords: *ophthalmology, soft dosage forms, high molecular weight hydrophilic polymers, ophthalmic gel, gel formers, pharmaceutical market.*

REFERENCES

1. Ophthalmic drug dosage forms: characterisation and research methods / P.Baranowski [et al.] // The Scientific World Journal. 2014. Vol. 2014. https://doi.org/10.1155/2014/861904.

2. Rathore K.S., Nema R.K. An insight into ophthalmic drug delivery system // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research. 2009. Vol. 1(1). P. 1-5. DOI https://doi.org/10.25004/IJPSDR.2009.010101

3. Anurova M.N., Demina N.B. Soft formulations: types, characteristics, regulation // Farmaciya. 2014. N 8. P. 44. (in Russian)

4. State Pharmacopoeia of Russian Federation, 14th ed. Moscow, 2018. (in Russian)

5. European Pharmacopoeia. 8 th ed. // Council of Europe. 2014. Vol. 2. 2569 p.

6. Karimova R.D., Lazdyn R.J., Alloyarov I.R. Obtaining of the soft dosage forms on the base of the acetate and succinamide of chitosan // Vestnik Bashkirskogo universiteta. 2017. Vol. 22(1). P. 65-67. (in Russian)

7. Pluronic F-127 and Pluronic Lecithin Organogel (PLO): main features and their applications in topical and transdermal administration of drugs / H. Almeida [et al.] // J. Pharm Pharmaceut. 2012. Vol. l5(4). P. 592-605. doi: 10.18433/j3hw2b.

8. Zalivskaya A.V., Zhilyakova E.T. The analysis of dental gels bases used in the treatment of gingivitis // Research Result. Medicine. Pharmacy. 2016. Vol. 2. N 1(7). P. 53-58. (in Russian)

9. Molchanova Yu.N., Trubnikov A.A. Rheological properties of the hydrophilic bases of soft formulations // Farmaciya. 2015. N 7. P. 39-41. (in Russian)

10. Modern approaches to the development of a regulatory document for cosmetic gels based on carbopol / O.V. Gudz [et al.] // Provisor. 2000. N 12. P. 55. (in Russian)

11. Comparative characteristics of excipients used in soft drug technology / G.V. Belyaeva [et al.] // Humans and their health. 2010. N 2. P. 125-131. (in Russian)

12. Development of structure and technology of wound healthing gel / O.A. Semkina [et al.] // RUDN Journal of Medicine. 2013. N 4. P. 79-87. (in Russian)

13. Hettush I., Zubchenko T.N. Biopharmaceutical studies on the release of ibuprofen from gels // Innovations in medicine and pharmacy. 2016. P. 832-835. (in Russian)

14. Development of anti-fungal soft drug form composition and technology / G.P. Kuhtenko [et al.] // Medicine. 2014. N 1. P. 6-9. (in Russian)

15. Anurova M.N., Bahrushina E.O., Demina N.B. An overview of modern gel diffusers in drug form technology // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2015. Vol. 49(9). P. 39-46. https://doi.org/10.30906/0023-1134-2015-49-9-39-46 (in Russian)

16. Craig D.Q. The mechanism of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers // Int. J. Pharm. 2002. Vol. 231(2). P. 131-140. https://doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00891-2

УДК 615.453.62

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ТЕХНОЛОГИИ ТАБЛЕТОК МЕТАМИЗОЛА НАТРИЯ

Дубовская Н.А., студ. 5 курса (ORCID: – 0000-0002-2110-5317),
Ладейщикова К.С., студ. 5 курса, **Щукина М.Ф.**, студ. 5 курса
Руководитель: **Волков А.А.**, к.х.н., доц. (ORCID: 0000-0002-8245-0739)
Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1, Российская Федерация
E-mail: nata.dubovskaya.99@bk.ru

В ходе работы проведен теоретический и экспериментальный анализ влияния вспомогательных веществ на изготовление таблетированной лекарственной формы на основе метамизола натрия. Все проведенные испытания проводились согласно нормативной документации, действующей на данный момент в Российской Федерации.

Ключевые слова: *метамизол натрия, вспомогательные вещества, таблетированная лекарственная форма, анализ рынка лекарственных препаратов.*

По данным, которые предоставляет ВОЗ, одним из самых распространенных поводов при обращении за помощью к врачам в медицинских организациях являются болевые симптомы (11–40 %) [2].

Главной целью обезболивающей терапии является уменьшение боли, вплоть до полного отсутствия ее проявления. Выбор назначаемых препаратов в первую очередь зависит от причины возникновения боли. Болевой синдром может возникнуть в результате травм, повреждений, хирургических вмешательств, а также сопровождать хронические заболевания. Учеными было доказано, что пациенты с хроническими заболеваниями, постоянно испытывающие боль, погибают от сердечно-сосудистых осложнений существенно чаще, чем люди с аналогичной патологией, у которых боль была эффективно устранена. Поэтому попытки перетерпеть боль с точки зрения медицины крайне вредны [1].

В клинической практике широко распространено использование группы нестероидных противовоспалительных средств, которые обладают прямым обезболивающим эффектом. Одним из самых ярких представителей среди вышеупомянутой группы является анальгин, который в составе содержит действующее вещество – метамизол натрия. Препарат выпускается в двух лекарственных формах: раствор для внутривенного и/или внутримышечного введения, а также в виде таблетированной формы. Последняя наиболее предпочтительна для пациентов, так как она удобнее для использования в домашних условиях, продается в аптеках без рецепта и по более низкой цене, в отличии от инъекционной формы.

Однако, следует заметить, что таблетированная форма анальгина содержит относительно невысокие дозы действующего вещества и предназначена скорее для кратковременного купирования боли. Следствием чего является учащение приема препарата для поддержания эффекта. Но не стоит забывать, что, как и любой другой лекарственный препарат, анальгин обладает побочными эффектами, один и самый важный из которых – повреждение слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, вплоть до появлений язв, эрозий. Поэтому, разработка препарата с усовершенствованным составом, который за счет изменения вспомогательных веществ изменит и процесс высвобождения действующего вещества, и проявление эффекта препарата, является на сегодняшний день актуальной.

Вспомогательные вещества в технологии таблеток способствуют обеспечению распадаемости, однородности дозирования лекарственных веществ, растворимости, механической прочности, стабильности таблеток в процессе хранения, биодоступности, скорости высвобождения действующих веществ, а также, при современном развитии различных технологий, в конечном итоге оказывают существенное влияние на терапевтическую активность таблетируемой формы. Как правило, исследования в области разработки и совершенствованию существующих технологий таблеток носят разноплановый характер.

Цель работы – исследование влияния вспомогательных веществ при изготовлении таблеток метамизола натрия, а также доработка готовой таблетируемой формы Баралгина® М и проверка на практике улучшенного состава.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить роль вспомогательных веществ в формировании лекарственной формы, а также их влияние на высвобождение действующего вещества;

2. Разработать оптимальный состав препарата на основе метамизола натрия, выгодно отличающийся от препаратов, реализующихся на современном рынке;

3. Исследовать экспериментальную лекарственную форму по показателям, рекомендуемым нормативной документацией.

Вспомогательные вещества могут составлять более 99% состава лекарственной формы препарата.

Будучи своеобразной матрицей активных веществ, постоянно контактируя с ними, вспомогательные вещества сами обладают физико-химическими и, часто, биологическими свойствами, которые в различных условиях могут проявляться по-разному. Наряду с различиями в качестве фармацевтических субстанций и технологии их производства, возможность разного состава вспомогательных веществ препарата и их качества может являться причиной терапевтической неэквивалентности лекарственных препаратов при условии их фармацевтической эквивалентности и биоэквивалентности. Лекарственные препараты разных производителей, содержащие одно и то же лекарственное вещество, могут отличаться по эффективности, качеству и наличию побочных эффектов. Установлено, что многие вспомогательные вещества не являются индифферентными, и они, так или иначе, воздействуют на систему лекарственное вещество (ЛВ)/макроорганизм.

Правильным подбором вспомогательных веществ (ВВ) можно усилить или снизить активность, обеспечить местное или общее действие лекарственного средства, в том числе локализовать (например, действие на эпидермис кожи) или обеспечить проницаемость клеточных мембран (использование активаторов всасывания – поверхностно-активные вещества, димексид), изменить скорость наступления эффекта (пролонгировать действие – при введении высокомолекулярных вспомогательных веществ, или ускорить), обеспечить направленность транспорта или регулируемого высвобождения лекарственных веществ (применение регуляторов высвобождения).

Анализ препаратов, реализующихся на современном рынке. В ходе теоретического исследования были выбраны 6 препаратов разных производителей, которые состоят в регистре лекарственных средств России [4]. Препараты анализировались по составу и количеству вспомогательных и действующих веществ, результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Анализ лекарственных препаратов по составу

Название	Производитель	Действующие вещества	Количество		Вспомогательные вещества	Количество		Назначение
			мг	%		мг	%	
Анальгин-ЛекТ Масса 1-й табл.= = 550 мг.	Тюменский химико-фармацевтический завод ОАО, Россия	метамизол натрия	500,00	90,909090	сахар	2,8	0,5090909	Наполнитель, корригенты вкуса
					крахмал картофельный	31,1	5,654545	Наполнитель, дезинтегрант, антифрикционные вещества
					кальция стеарат	5,4	0,981818	Антифрикционные вещества, смазывающие
					тальк	10,7	1,945454	Антифрикционные, скользящие, противоприлипающие вещества
Анальгин-УБФ Масса 1-й табл.= = 550,09 мг.	Уралбиофарм ОАО, Россия	метамизол натрия	500,00	90,8942	крахмал картофельный	39,76	7,227908	Наполнитель, дезинтегрант, антифрикционные вещества
					тальк	4,12	0,748968	Антифрикционные, скользящие, противоприлипающие вещества
					кальция стеарата моногидрат (кальция стеарат 1-водный)	6,12	1,112545	Антифрикционные вещества, смазывающие
Анальгин Renewal Масса 1-й табл.= =550 мг.	Обновление ПФК, Россия	метамизол натрия	500	90,909	крахмал картофельный	33,4	6,0727	Наполнитель, дезинтегрант, антифрикционные вещества
					сахароза	5,5	1	Наполнитель, корригенты вкуса

Название	Производитель	Действующие вещества	Количество		Вспомогательные вещества	Количество		Назначение
			мг	%		мг	%	
					кальция стеарат	2,8	0,50909	Антифрикционные вещества, смазывающие
					стеариновая кислота	2,8	0,50909	Антифрикционные вещества, смазывающие
					тальк	5,5	1	Антифрикционные, скользящие, противоприлипающие вещества
Анальгин Масса 1-й табл.= = 550 мг.	ООО Озон, Россия.	метамизол натрия моногидрат	500	90,909090	целлюлоза микрокристаллическая	70,00	12,727272	Наполнитель, сухие связывающие
					повидон-К25	24,00	4,363636	Связывающие вещества
					магния стеарат	6,00	1,09090909	Антифрикционные вещества, смазывающие
Анальгин Авексима Масса 1-й табл.= =550 мг.	Авексима сибирь ООО, Россия.	метамизол натрия моногидрат	500,00	90,9090	крахмал картофельный	16,80	3,0545454	Наполнитель, дезинтегрант, антифрикционные вещества
					тальк	13,00	2,363636	Антифрикционные, скользящие, противоприлипающие вещества
					сахароза	15,00	2,727272	Наполнитель, корригенты вкуса
					кальция стеарат	5,20	0,945454	Антифрикционные вещества, смазывающие
Баралгин® М Масса 1-й табл.= = 550 мг.	Зентива Прайвет Лимитед, Индия.	метамизол натрия	500	90,909090	макрогол 4000	47,00	8,54545454	Антифрикционные вещества, противоприлипающие, скользящие
					магния стеарат	3,00	0,54545454	Антифрикционные вещества, смазывающие

В результате проведенного теоретического исследования нами был подобран оптимальный состав для таблетированной формы препарата на основе метамизола натрия, а затем была разработана технология изготовления препарата.

Материалы и методы

Для изготовления лекарственной формы нам потребовались: субстанция метамизола натрия, микрокристаллическая целлюлоза, магния стеарат, аэросил, спирт, мальтодекстрин, поливинилпирролидон, дакрил, крахмал, вода очищенная.

Одним из популярных и известных среди населения России препаратов метамизола натрия является Баралгин М (производитель: Зентива Прайвет Лимитед; страна: Индия), поэтому в качестве препарата сравнения мы выбрали его. В начале работы был оценен полный состав таблеток Баралгина М на основе его инструкции к применению (состав приведен в таблице 1). Лекарственный препарат из вспомогательных веществ содержит лишь антифрикционные компоненты, которые облегчают процесс производства таблеток.

Далее следовал этап доработки состава. Было решено включить в процесс получения таблеток стадию влажного гранулирования, что требовало добавления в состав связывающих веществ. Из них для четырех различных составов были выбраны: водный раствор мальтодекстрина 2%, водный раствор поливинилпирролидона 2%, водный раствор дакрила 2% и крахмальный клейстер. Микрокристаллическая целлюлоза выполняла роль сухого связывающего вспомогательного вещества. Также вместо магния стеарата добавлялся кальция стеарат в увеличенном количестве на одну таблетку и аэросил.

Смешение компонентов таблеточной смеси проводили в лабораторном смесителе.

Для получения нескольких составов лекарственной формы (ЛФ) в смеситель загружали АФС, связывающее сухое вспомогательной вещество (МКЦ), скользящее вспомогательное вещество. Смешение проводили в течение 5 мин, после чего начали производить влажную грануляцию путем увлажнения порошка водными растворами мальтодекстрина, поливинилпирролидона (ПВП), дакрила, крахмала (все 2%), затем, после достаточного увлажнения, полученную массу помещали в лабораторный гранулятор для получения гранул. После просушки гранулята производили его опудривание отвешенным количеством кальция стеарата; опудривание производили в течение 2 мин.

Таблетирование производили на лабораторном однопуансонном прессе. Таблетки с крахмальным клейстером в качестве связывающего вещества плохо поддавались прессованию, поэтому были исключены из дальнейшего исследования.

Полученные таблетки метамизола натрия 500 мг представляли собой круглые, плоскоцилиндрические таблетки со средней массой равной 530 мг. В результате анализа согласно общей фармакопейной статье (ОФС) 1.4.2.0009.15 «Однородность массы дозированных лекарственных форм», было обнаружено, что не все таблетки соответствуют допустимым отклонениям от средней массы дозированной лекарственной формы. Таблетки, не входящие в норму отклонения, согласно нормативной документации, не использовались в дальнейшем анализе.

Тест «Прочность таблеток на раздавливание» проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.4.2.0011.15 на тестере прочности на сжатие.

Таблетку помещали между ребром по отношению к движущейся части прибора. Таблетку, поставленную на ребро, сжимали до разрушения. Измерения проводили для 10 таблеток каждого состава, а также для препарата сравнения – Баралгина® М.

Таблетки круглой формы, согласно фармакопейной статье, должны иметь прочность не ниже значений, приведенных в таблице 2 [3].

Таблица 2 – Минимально допустимая прочность в зависимости от диаметра таблеток

Диаметр, мм	6	7	8	9	10	11	12	13
Прочность, Н	30	30	30	30	40	40	50	50

Результаты проведенного испытания приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Показатели теста на раздавливание

Показатель	№	Баралгин® М	Таблетки с мальтодекстрином	Таблетки с ПВП	Таблетки с дакрилом
Сила, Н	1	134	77	72	80
	2	135	98	58	80
	3	89	100	67	76
	4	114	63	60	88
	5	131	81	94	79
	6	128	64	90	67
	7	132	73	88	83
	8	119	94	77	90
	9	133	88	86	87
	10	120	85	94	79
Среднее значение:		123,50	82,30	78,60	80,9

Предварительные испытания показали, что по показателю теста на раздавливание таблетки с добавлением связывающих соответствуют показателям, указанным в фармакопейной статье ОФС.1.4.2.0011.15.

Тест «Распадаемость таблеток и капсул» проводили согласно ОФС.1.4.2.0013.15.

Испытание предназначено для определения способности таблеток и капсул распадаться в жидкой среде за определенный промежуток времени в условиях, указанных в фармакопейной статье или нормативной документации.

Эксперимент проводили в тестере распадаемости с ручным управлением PTZ S Pharma Test. Для проведения испытания отобрали 18 образцов таблеток с каждым из связывающих веществ, а также препарат-сравнения Баралгин® М. В каждую из 6 трубок поместили по одному образцу, а сверху диск. Опустили корзинку в сосуд с водой очищенной и включили прибор. По истечении установленного времени (15 мин.) корзинку вынули и исследовали состояние таблеток. Все образцы полностью распались. [3]

Результаты исследования представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты теста на распадаемость для экспериментальных таблеток

	Баралгин® М	Таблетки с мальтодекстрином	Таблетки с ПВП	Таблетки с дакрилом
Опыт 1:				
1	4.20	7.30	6.30	6.15
2	4.20	7.30	6.30	6.15
3	4.20	7.30	6.30	6.15
4	4.20	7.30	6.30	6.15
5	4.20	7.30	6.30	6.15
6	4.20	7.30	8.49	6.15
Опыт 2:				
1	4.10	4.00	6.30	5.30
2	4.10	5.30	6.30	6.20

	Баралгин® М	Таблетки с мальтодекстрином	Таблетки с ПВП	Таблетки с дакрилом
3	4.10	5.30	6.30	6.20
4	4.10	6.00	6.30	6.20
5	4.10	6.40	7.00	7.00
6	4.10	6.40	7.20	7.15
Опыт 3:				
1	4.20	6.30	7.00	6.30
2	4.20	7.30	7.00	6.30
3	4.20	7.30	7.00	6.30
4	4.20	7.30	7.00	6.30
5	4.20	7.30	7.00	7.00
6	4.20	7.30	7.20	8.00

Таким образом, в ходе эксперимента было обнаружено, что таблетки с добавлением связывающих веществ распадаются дольше таблеток-сравнения (Баралгин® М), но при этом соответствуют по Государственной Фармакопее (ОФС.1.4.1.0015.15 «Таблетки») показателю распадаемости для таблеток, не покрытых оболочкой.

Результаты и обсуждение

В ходе исследований была обнаружена существенная разница при тесте на распадаемость. Таблетки, полученные в лабораторных условиях с усовершенствованным составом, гораздо дольше распадались (порядка 7-ми минут, в среднем), в отличии от таблеток заводского производства (порядка 4-х минут). Это объясняется тем, что в состав были добавлены связывающие вещества, усиливающие прочность гранул и таблеток. Также следует отметить, что при исследовании экземпляров на прочность, сила сжатия, приложенная на таблетки лабораторного производства в сравнении с заводскими, была в разы меньше.

Заключение

В ходе данного эксперимента нами были разработаны дополненные составы таблеток на основе метамизола натрия, которые за счет наличия связывающих веществ обладают большим временем распадаемости, но при этом соответствуют по вышеуказанному критерию Государственной Фармакопее. Таким образом, нами было доказано существенное влияние вспомогательных веществ не только на формировании лекарственной формы препарата, но и на изменение ее показателей, которые в свою очередь способны изменить фармакокинетику и фармакодинамику препарата.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.33 Биофармация

ЛИТЕРАТУРА

1. Каратеев А.Е. Обезболивающие препараты в клинической практике и повседневной жизни // Ревматология. 2015. N 5(22).

2. Шопабаева А.Р., Серикбаева Э.А., Латаева Э.Х. Роль обезболивающих препаратов: на пути к преодолению боли // Вестник КазНМУ. 2017. N 4.

3. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т.2. 2015. [Электронный ресурс]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea13

4. Государственный регистр лекарственных средств России. [Электронный ресурс]. URL: https://www.rlsnet.ru/ (Дата обращения 28.02.2022).

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF EXCIPIENTS IN THE DEVELOPMENT OF METAMIZOLE SODIUM TABLET TECHNOLOGY

Dubovskaya N.A., 5th year student (ORCHID – 0000-0002-2110-5317),
Ladeishchikova K.S., 5th year student, **Shchukina M.F.**, 5th year student
Scientific supervisor: **Volkov A.A.**, Candidate of Chemical Sciences, associate professor (ORCID: 0000-0002-8245-0739)
Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health of Russia
10/1 Minin and Pozharsky pl., Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation
E-mail: nata.dubovskaya.99@bk.ru

In the course of the work, a theoretical and experimental analysis of the effect of excipients on the manufacture of a tablet dosage form based on sodium metamizole was carried out. All the tests carried out were carried out in accordance with the regulatory documentation currently in force in the Russian Federation.

Keywords: *metamizole sodium, excipients, tablet dosage form, analysis of the medicines market.*

REFERENCES

1. Karateev A.E. Painkillers in clinical practice and everyday life // Rheumatology. 2015. N 5(22). (in Russian)
2. Shopabaeva A.R., Serikbayeva E.A., Lataeva E.H. The role of painkillers: on the way to overcoming pain // Bulletin of KazNMU. 2017. N 4. (in Russian)
3. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII ed. Vol. 2. 2015. [Internet]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea13 (in Russian)
4. State Register of Medicines of Russia. [Internet]. URL: https://www.rlsnet.ru/ (Accessed 28.02.2022). (in Russian)

УДК 61:615.4

ВЫБОР ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ И МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ТАБЛЕТОК С ЭКСТРАКТОМ ГИНКГО БИЛОБА И СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ

Жумагазеева А.Ж., магистр 2 года обучения
Руководитель: **Легостева А.Б.**, кандидат фармацевтических наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул.проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: asel.zhumagazeeva@spcpu.ru

Изучены физико-химические и технологические свойства сухого экстракта листьев гинкго билоба и бутонов софоры японской. Рассмотрены возможные варианты производства таблеток и осуществлен предварительный выбор вспомогательных веществ.

Ключевые слова: *сухой экстракт, гинкго билоба, софора японская, технологические свойства, вспомогательные вещества, таблетки.*

Среди наиболее изученных на сегодняшний день свободнорадикальных патологий, являются заболевания сердечно-сосудистой системы, которые по данным Всемирной организации здравоохранения занимают одно из ведущих мест по распространенности и первое место по числу смертности среди населения [1, 2]. На сегодняшний день при лечении сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), таблетки являются часто применяемой лекарственной формой. Так как она имеет ряд преимуществ по отношению к другим: это портативность, удобство хранения и транспортировки; возможность нанесения защитных оболочек для недостаточно устойчивых веществ; возможность маскировки неприятных: вкуса, запаха, что достигается путем нанесения покрытий; сочетание в таблетках лекарственных веществ, несовместимых в других лекарственных формах; пролонгирование действия лекарственных веществ в таблетках, что достигается путем нанесения покрытий, а также использованием специальных технологий и состава таблеток-ядер и др. В связи с этим выбрана данная лекарственная форма для создания лекарственного препарата с фитосубстанцией.

Фитосубстанцией в разрабатываемом лекарственном препарате для лечения и профилактики ССЗ является сухой экстракт листьев гинкго билоба и бутонов софоры японской, полученный на кафедре «Промышленная технология лекарственных препаратов» Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета. Эти лекарственные растения выбраны в связи с тем, что они содержат такие биологически активные вещества как рутин, билобалид, гинкгетин, кверцетин, изорамнетин, кемпферол и другие биологически активные вещества, которые благотворно влияют на сердечно-сосудистую систему человека. В качестве лекарственной формы, в которую будет инкорпарирован сухой экстракт выбраны таблетки. В создание эффективных лекарственных препаратов в форме таблеток, как правило, требует применения различных вспомогательных веществ для придания таблетируемой массе необходимые технологические свойства. К основным и наиболее часто используемым группам вспомогательных веществ следует отнести наполнители (разбавители), связующие, разрыхляющие и антифрикционные вещества.

Наполнителями являются вещества, которые вводятся в таблетки в качестве носителя (разбавителя) для лекарственных веществ, используемых в малых количествах. Применяют крахмал, натрия хлорид, натрия гидрокарбонат сахара, лактоза, маннит и другие вещества [6].

Связующие вещества применяют для обеспечения необходимой прочности таблеток. Связывающие вещества применяют для достижения необходимой силы сцепления при сравнительно небольшом давлении. Эти вещества, заполняя межчастичное пространство, увеличивают контактную поверхность частиц и когезионную способность. Примерами таких веществ служат микрокристаллическая целлюлоза (КМЦ), альгиновая кислота, сахарный сироп, крахмальный клейстер и др.

Разрыхляющие вещества используют для улучшения распадаемости и растворения, обеспечивая механическое разрушение (для скорейшего высвобождения действующего вещества) и растворение таблеток в жидкой среде. К таким веществам относятся группа набухающих вспомогательных веществ – крахмал пшеничный, картофельный, пектин, желатин, агар-агар, полиплаздон XL и др. ; группа газообразующих веществ – смесь натрия гидрокарбоната с лимонной или винной кислотой и др.; а так же группа поверхностно-активных веществ (полиэтиленоксиды, твины, спены и др.) последние применяются для повышения биодоступности улучшения растворения нерастворимых или трудно растворимых лекарственных веществ с помощью поверхностно-активных веществ – солюбилизация.

Антифрикционные (опудривающие) вещества способствуют скольжению, препятствуют прилипанию к пресс-инструменту, оказывают смазывающее действие, улучшают текучесть таблетируемых смесей. Одной из проблем таблеточного производства является получение хорошей текучести гранулята в питающих устройствах (воронках, бункерах). Полученные гранулы или порошки имеют шероховатую поверхность, что затрудняет их высыпание из загрузочной воронки в матричные гнезда. Кроме того, таблетируемая масса может прилипать к воронке, стенкам матрицы и пуансонам таблеточной машины вследствие трения, развиваемого в контактных зонах частиц с пресс инструментом таблеточной машины. Для снятия или уменьшения этих нежелательных явлений применяют антифрикционные вещества, представленные группой скользящих и смазывающих веществ. В качестве скользящих веществ используют каолин, тальк, крахмал, аэросил и бентониты. К смазывающим веществам относятся жиры, жирные кислоты и их соли (стеариновая кислота, стеараты кальция и магния, олеат натрия), углеводороды (вазелиновое масло), а также некоторые высокомолекулярные соединения (ПЭГ-4000, твин-80), тальк, водорастворимые смазывающие вещества, такие, как хлористый натрий, бензоат натрия, ацетат натрия и DL-лейцин [5, 6].

Целью данной работы является разработка технологии и выбор вспомогательных веществ таблеток с сухим экстрактом листьев гинкго билоба и бутонов софоры японской основаная на физико- химических и технологических свойствах фитохимических субстанций.

В ходе научных исследований изучены следующие свойства сухого экстракта: форма частиц, гигроскопичность, фракционный состав, насыпная плотность, сыпучесть, прессуемость.

Большое значение для выбора вспомогательных веществ и технологии таблетирования имеет гигроскопичность [3]. Из-за высокой гигроскопичности могут изменяться внешний вид, окраска, концентрация фитосубстанции, возможно образование продуктов разложения биологически активных веществ и снижение фармакологической активности и срока годности препарата. Вследствие чего, в соответствии с методикой описанной в фармакопеи ЕАЭС проведены исследования по изучению влагосорбционной способности полученного сухого экстракта листьев гинкго билоба и бутонов софоры японской. В ходе проведенных исследований обнаружено, что сухой экстракт гигроскопичен. В следствии чего в состав таблеток необходимо добавить вспомогательные вещества, которые будут уменьшать эти негативные свойства, такие как: лактоза, аэросил и другие.

С помощью микроскопа проанализирована форма частиц и обнаружено, что их длина превышает ширину и толщину, но не менее чем в 3 раза, то есть частицы исследуемого сухого экстракта имеют форму пластинок. Такие частицы, как правило, практически не используются в технологии прямого прессования без гранулирования и добавления антифрикционных вспомогательных веществ.

Фракционный состав определен с помощью набора сит с размером отверстий 2,0, 1,0, 0,4, 0,25, 0,1, 0,05 см. Сита в наборе устанавливают в порядке уменьшения их размера отверстий сверху вниз [4]. В ходе исследования установлено, что состав сухого экстракта неоднородный, что видно из диаграммы (рисунок).

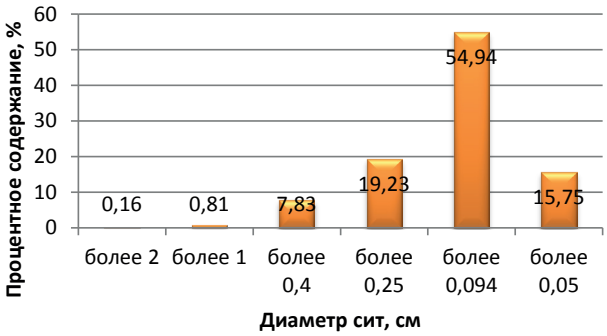


Рисунок. Фракционный состав сухого экстракта

Как видно из рисунка фракционный состав сухого экстракта неоднороден и такие фитосубстанции требуют предварительной грануляции для улучшения их технологических свойств.

Сыпучесть (текучесть) – способность материала свободно высыпаться из емкости под действием силы тяжести. Сыпучесть определяют по методике, описанной в ГФ 14, при помощи воронки без выходного ствола с диаметром выходного отверстия 15,00 ± 0,01 мм. Сыпучесть сухого экстракта составила 0,99±0,01 г/с, а угол естественного откоса 46°. Следовательно, степень сыпучести согласно ОФС.1.4.2.0016.15 является неудовлетворительной.

Насыпной объем – это отношение массы измельченного сырья при естественной влажности к занятому сырьем полному объему. Насыпной объем определяют согласно требованиям ГФ 14, насыпной объем составляет 0,83±0,01 г/см^3. Что позволяет отнести сухой экстракт к порошкам среднего насыпного объема [4].

Прессуемость – способность частиц порошка к когезии под давлением, т.е. способность частиц под влиянием сил электромагнитной природы (молекулярных, адсорбционных, электрических) и механических зацеплений к взаимному притяжению и сцеплению с образованием устойчивой прочной прессовки. При изучении прессуемости сухого экстракта установлено, что он попадает в группу веществ с прочностью модельной таблетки от 1 кг до 4 кг, при производстве которых необходимо применение высокоэффективных связующих веществ.

Результаты физико-химических и технологических свойств сухого экстракта японской сведены в таблице.

Таблица – Физико-химические и технологические свойства сухого экстракта листьев гингко билоба и бутонов софоры японской

№ п/п	Свойства	Результаты
1	Гигроскопичность, %	23,54%
2	Форма частиц	Пластинки
3	Сыпучесть г/с	0,99±0,01
4	Угол естественного откоса	46°
5	Насыпной объем г/см3	0,83±0,01
6	Прессуемость, г/мм	3,02±0,02
7	Фракционный состав	неоднородный

Заключение

Как видно из представленных данных таблицы сухой экстракт состоит из частиц имеющих форму пластинок и обладает высокой гигроскопичностью, неоднородным фракционным составом, неудовлетворительной сыпучестью, средним насыпным объемом и слабой прессуемостью. Соответственно, для придания необходимых технологических свойств исследуемому экстракту необходимо применение грануляции. Вместе с тем поскольку биологически активные вещества используемой фитосубстанции нуждаются в щадящей технологии целесообразно использовать метод сухой грануляции.

Для уменьшения гигроскопичности сухого экстракта необходимо подобрать соответствующие вспомогательные вещества. С этой целью в фармацевтической промышленности применяют лактозу, маннит, микрокристаллическую целлюлозу (МКЦ) и другие вещества в качестве наполнителя.

Активно занимаются выпуском наполнителей снижающих гигроскопичность такие фирмы как: Фирма FMC BioPolymer является лидером в производстве МКЦ. Микрокристаллическая целлюлоза за рубежом выпускается под торговой маркой Avicel PH.

С целью получения удовлетворительной сыпучести сухого экстракта в качестве антифрикционных веществ целесообразно использовать аэросил, крахмал и тальк в фармацевтической промышленности [5].

Для обеспечения однородности фракционного состава и прочности таблеток можно использовать такие сухие связующие вещества как: микрокристаллическую целлюлозу, полиэтиленоксид. Например, к одним из самых сильных в данной группе, представленном на фармацевтическом рынке, относится повидон Kollidon® 90 F фирмы BASF, который подходит так же для прямого прессования таблеток.

Таким образом, согласно предварительным рекомендациям фармакологов и на основании данных научной литературы выбрана масса сухого экстракта для получения таблеток и составляет 40 мг. Как следует из количества активной фитосубстанции и проведенных исследований при разработке технологии таблеток с сухим экстрактом гинкго билоба и софоры японской необходимо будет использовать вспомогательные вещества, относящиеся к таким группам как: наполнители, связующие вещества, разрыхлители и антифрикционные. На основании изученных физико-химических и технологических свойств фитосубстанции в таблетировании сухого экстракта целесообразно применить метод сухой грануляции.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Профилактика хронических неинфекционных заболеваний: рекомендации / под.ред. С.А. Бойцова, А.Г. Чучалина. М.: Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины, 2013. 136 с.

2. Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс]. URL: http://www.who.int.ru

3. Демина Н.Б., Скатков С.А., Анурова М.Н. Влагоактивизированная грануляция - технологии применения. // Фармацевтические технологии и упаковка. 2012. N 4. С. 22–24.

4. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1-2. 2018. [Электронный ресурс] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14

5. Вспомогательные вещества для таблетирования // Фармацевтические технологии и упаковка. 2014. N 2. С. 26-28.

6. Асфура Т. Разработка состава и технологии таблеток с экстрактом Boswelliaserrata: Дисс. на соиск. уч.ст. кандидата фармацевтических наук. М. 2014. 125 с.

SUMMARY

SELECTION OF EXCIPIENTS AND METHOD OF OBTAINING TABLETS WITH GINKGO BILOBA AND SOPHORA JAPONICA EXTRACT

Zhumagazieva A.Zh., 2nd year master student
Scientific supervisor: **Legostaeva A.B.** Associate Professor, Cand. of Pharm.Sciences
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

The physicochemical and technological properties of dry extract of ginkgo biloba leaves and buds of Sophora Japonica have been studied. Possible options for the production of tablets are considered and a preliminary selection of excipients is carried out.

Keywords: *dry extract, ginkgo biloba, Japanese sophora, technological properties, excipients, tablets.*

REFERENCES

1. Prevention of chronic non-communicable diseases: recommendations / Ed. by S.A. Boitsova, A.G. Chuchalin. M.: State Research Center for Preventive Medicine, 2013. 136 p. (in Russian)
2. World Health Organization [Internet]. URL: http://www.who.int.ru (in Russian)
3. Demina N.B., Skatkov S.A., Anurova M.N. Moisture-activated granulation - application technologies. // Pharmaceutical technologies and packaging. 2012. N 4. P. 22-24. (in Russian)
4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed. Vol. 1-2. 2018. [Internet] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (in Russian)
5. Excipients for tableting // Pharmaceutical technologies and packaging. 2014. N 2. P. 26-28. (in Russian)
6. Asfura T. Development of the composition and technology of tablets with Boswellia serrata extract: Diss. for the degree of Candidate of Pharmaceutical Sciences. M. 2014. 125 p. (in Russian)

УДК 615.453.4:661.12

УПРАВЛЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИМ ПРОЦЕССОМ ПРОИЗВОДСТВА КАПСУЛ ТЕМОЭЛ 250 МГ ПОСРЕДСТВОМ FMEA-АНАЛИЗА

Ибрагимова А.Р., маг. 1 года обучения
Руководитель: **Устенова Г.О**., д.фарм.н., проф.
Казахский национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова
050000, Алматы, Толе би 94, Республика Казахстан
E-mail: alphiya25@gmail.com

Изучена структура и алгоритм FMEA-анализа для технологического процесса на фармацевтическом предприятии. Определены преимущества применения FMEA-анализа при производстве лекарственных средств.

Применен FMEA-анализ при процессе производства капсул ТемоЭл 250 мг, на ТОО «Производственно-фармацевтическая компания Элеас». По завершении работы был разработан протокол FMEA-анализа для процесса производства капсул ТемоЭл 250 мг.

Ключевые слова: *FMEA-анализ, диаграмма Парето, диаграмма Исикавы, управление рисками, темозоломид.*

Лекарственная терапия занимает лидирующие позиции в терапии большинства злокачественных опухолей. Эффективность борьбы с раковыми заболеваниями во многом зависит от противоопухолевых препаратов. Возрастающая социальная значимость данной группы лекарственных средств определяет необходимость изучения отечественного рынка противоопухолевых препаратов. В связи с этим многократно повышается интерес к рискам во время производства противоопухолевого препарата Основой риска является опасность, т.е. явление (вещество), обладающее потенциальной способностью вызывать эффект, вредный для здоровья индивидуума или группы людей, части населения или всего населения, а также для экосистемы.

В настоящем исследовании мы изучали причины возникновения дефектов и их последствия на качество готового продукта. Применили FMEA-анализ конкретно для производства капсул ТемоЭл 250 мг.

Для достижения поставленной цели сформулировали следующие задачи:

1. Досконально изучить алгоритм проведения FMEA-анализа;
2. Количественно оценить значения, возникновения и обнаружения дефекта (брака);
3. Оформить результаты согласно протоколу FMEA-анализа.

Материалами и методами данной работы являются аналитический обзор и применение FMEA-анализа на конкретном процессе в фармацевтической отрасли.

Одной из основных задач системы менеджмента качества является обеспечение выявления потенциальных несоответствий (дефектов) и предотвращение их появления на всех стадиях жизненного цикла продукции. Важнейшим методом решения этой задачи является анализ видов и последствий потенциальных несоответствий (FMEA). В настоящее время не менее 80% разработок лекарственных средств проводится с применением анализа видов и последствий потенциальных несоответствий (FMEA-методологии). Анализ видов и последствий потенциальных несоответствий широко применяется многими мировыми компаниями как для разработки новых лекарственных средств, так и для анализа и планирования качества производственных процессов и продукции. Методология FMEA позволяет оценить риски и возможный ущерб, вызванный потенциальными несоответствиями конструкции и технологических процессов на самой ранней стадии проектирования и создания готового продукта. Область применения метода охватывает все этапы жизненного цикла продукта и любые технологические или бизнес-процессы. Наибольший эффект дает применение FMEA на этапах разработки производственных процессов, однако и в действующем производстве метод может эффективно применяться для устранения несоответствий и их причин, не выявленных при разработке или обусловленных факторами изменчивости процессов производства.

Метод анализа видов и последствий потенциальных несоответствий (FMEA) представляет собой систематизированный комплекс действий, проводимых для того, чтобы:

− выявить несоответствия продукции и процессов, а также последствия возникновения этих несоответствий, и дать им количественную оценку;

− создать ранжированный список видов и причин несоответствий для планирования корректирующих и предупреждающих действий;

− определить корректирующие и предупреждающие действия, которые могли бы устранить или снизить вероятность возникновения несоответствий; − документировать данные по результатам анализа для накопления в базе знаний [1].

Цель применения метода – изучение причин и механизмов возникновения несоответствий и предотвращение несоответствий (или максимальное снижение их негативных последствий), а следовательно – повышение качества продукции и сокращение затрат на устранение несоответствий на последующих стадиях жизненного цикла лекарственного препарата (рис. 1).

Применение метода анализа видов и последствий потенциальных несоответствий основано на следующих принципах:

1. Командная работа. FMEA проводится силами специально подобранной многофункциональной команды экспертов. Эффективность анализа напрямую зависит от профессионального уровня, практического опыта и согласованности действий специалистов.

2. Иерархичность. Для сложных технологических процессов анализу подвергается как лекарственное средство/процесс в целом, так и его составляющие (активное вещество, вспомогательные вещества, упаковочные материалы/технологические операции).

3. Итеративность. Анализ проводится неоднократно; он возобновляется при выявлении новых факторов и при любых изменениях, влекущих за собой изменение последствий и их рисков. Регистрация данных. Анализ видов и последствий потенциальных несоответствий и его результаты должны быть документально оформлены.

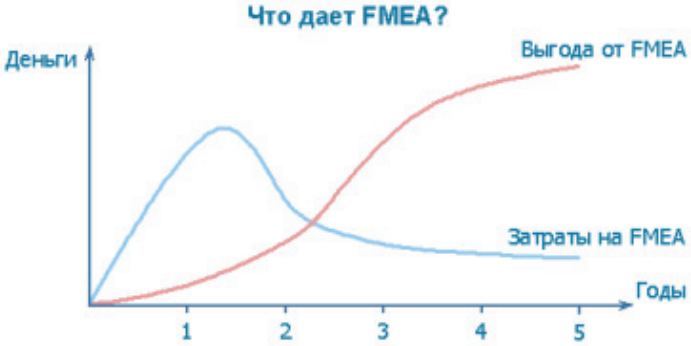


Рисунок 1. Выгода от применения FMEA

Количественные оценки значимости, возникновения и обнаружения потенциальных несоответствий или их причин определяются на основе статистических данных или мнений экспертов с помощью соответствующих типовых шкал. После получения экспертных оценок указанных составляющих путем их перемножения определяется приоритетное число риска (ПЧР) – обобщенная количественная характеристика риска несоответствия.

Значимость – это оценка по 10-балльной шкале серьезности последствия. Ранг (балл) значимости определяется по типовой шкале. Если последствий несколько и значимости их разные, то для дальнейшего расчета ПЧР используется максимальное значение значимости.

Возникновение – это оценка вероятности, с которой ожидается появление несоответствия, последствия или причины. Для оценки частоты возникновения по возможности следует использовать имеющиеся статистические данные по подобным изделиям/процессам с учетом изменений рабочей среды (Ppk (Cpk), частота отказов за определенный срок и т.п.). Если таких данных нет, допустимо давать субъективные оценки на основе информации о процессе.

Обнаружение – это оценка вероятности того, что применяемые средства контроля обнаружат признаки несоответствия, последствия или причины прежде, чем эти признаки будут замечены потребителем. Необходимо оценить по

10-балльной шкале вероятность того, что несоответствие и/или причины, его вызвавшие, будут обнаружены прежде, чем изделие покинет расположение процесса.

Приоритетное число риска (ПЧР) – обобщенная количественная характеристика объекта анализа. ПЧР определяется после получения экспертных оценок составляющих – рангов значимости, возникновения и обнаружения, путем их перемножения. Объекты анализа упорядочиваются по убыванию значений ПЧР [2].

На подготовительной стадии анализа FMEA осуществляется: формирование команды экспертов; сбор и изучение исходных данных и сведений о назначении изделий и требованиях процессов; выбор объектов, подлежащих анализу. Затем проводится анализ выбранных объектов и документирование результатов анализа (рис. 2).

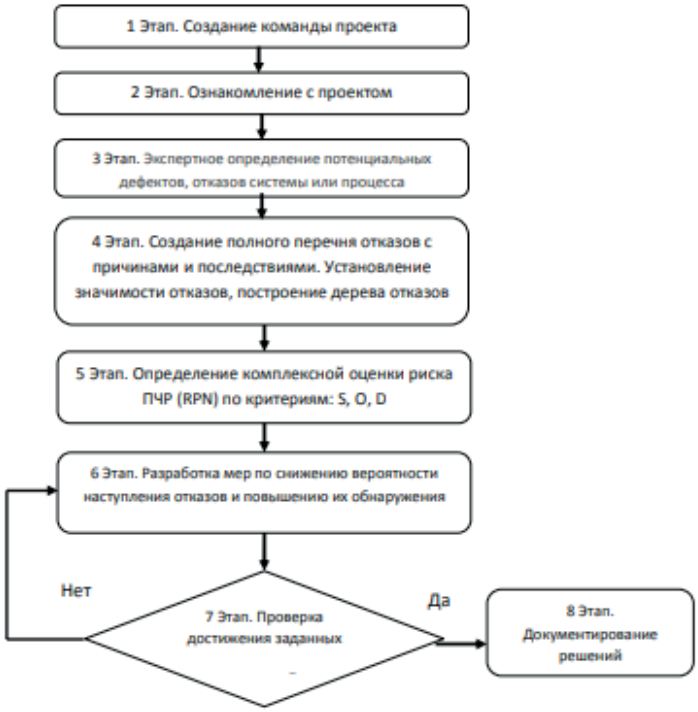


Рисунок 2. Алгоритм проведения FMEA-анализа

Рассмотрим подробнее каждый из этапов анализа касательно производства капсул ТемоЭл 250 мг.

Этап 1. Создание команды проекта

Так как появление несоответствий на каждом из этапов жизненного цикла препарата обуславливается множеством факторов, то для проведения всестороннего анализа необходимо привлечение специалистов различных областей – уполномоченное лицо, технологи, химики-аналитики, специалисты отдела обеспечения качества, работники склада, логисты, специалисты клининга, проектировщики, инженеры. Рекомендуемое число членов команды – от 4 до 10 человек. За работой команды следит генеральный директор предприятия [3].

Этап 2. Ознакомление с проектом и сбор информации

FMEA-команда должна рассматривать все главные «полученные уроки» (претензии потребителей, продукцию, не соответствующую требованиям стандартов, высокие затраты на ремонт и т.д.) как данные для выявления видов возможных отказов. Команда FMEA выявляет возможные критические характеристики как данные для процесса отбора ключевых характеристик. Основное место на этом этапе занимает обработка предыдущего опыта построения систем с идентичными целевыми функциями. За все время реализации капсул ТемоЭл 250 мг не поступало претензий и жалоб потребителей, а также производственная площадка имеет сертификат GMP и периодически подтверждает высокое качество препарата. Последняя инспекция GMP была в марте 2021 года.

Этап 3. Экспертное определение потенциальных дефектов и отказов системы для процесса

Процесс выявления причин отказов имеет несколько шагов:

- формулирование конкретной проблемы
- исследование потенциальных причин
- систематизация потенциальных причин
- сбор и накопление данных
- применение статистических методов для отображения причинно-следственных связей.

Команда применяет такие инструменты как мозговой штурм, диаграмма причин и результатов, планирование эксперимента, график корреляции, диаграмма Парето. Ниже представлена диаграмма Парето при рассмотрении количества бракованных таблеток в партиях (рис. 3).

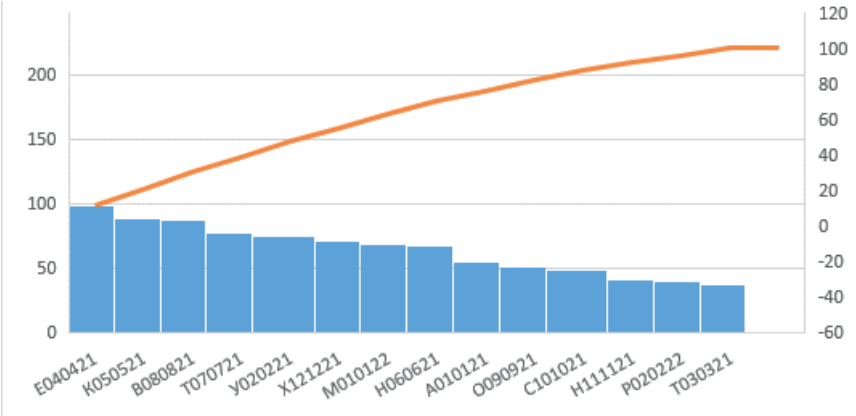


Рисунок 3. Количество бракованных таблеток в партиях за 2021-2022 года (столбцы-количество бракованных таблеток, красная линия-кумулятивный процент)

Этап 4. Создание полного перечня отказов с последствиями и причинами

На данном этапе предлагается создание полного перечня и структуры отказов/ошибок/сбоев для дальнейшего их детального анализа и обнаружения причин и последствий. Ниже представленная диаграмма Исикавы, где наглядно показаны причины несоответствия качества продукта требованиям (рис. 4).

Рисунок 4. Диаграмма Исикавы

Этап 5. Определение комплексной оценки рисков ПЧР

По критериям: S, O, D. Согласно данному методу производится оценка возможных режимов отказов по трем показателям:

– значимость потенциального отказа S;

– вероятность возникновения дефекта O;

– вероятность обнаружения отказа D.

Произведение этих факторов является приоритетным числом риска (ПЧР), то есть количественная оценка отказа с точки зрения его значимости по последствиям, вероятности возникновения и вероятности обнаружения. Каждое ПЧР может иметь значение от 1 до 1000. Для ПЧР должен быть заранее установлен критерии R (предельное значение ПЧР) [4].

Этап 6. Разработка мер по снижению частоты наступления отказов и повышению их обнаружения

Группой разработчиков на основе полученной ранее информации о вероятных отказах проводится ряд изменений в системе, выбираются отказы, уровень риска которых возможно уменьшить, принимаются меры для устранения или сокращения отказов с высоким показателем риска. К таким мерам относятся:

– изменения в технологическом процессе;

– изменение вспомогательных веществ;

– повышение точек контроля;

– замена упаковочных материалов;

– обновление программного обеспечения производственного оборудования.

Все изменения должны вноситься с учетом выводов, сделанных на предыдущих этапах анализа (D), и быть направлены на понижение числа ПЧР.

Этап 7. Проверка достижения заданных значений

Производится перерасчет значения ПЧР. Если новые значения ПЧР удовлетворяют условиям поставленной цели, команда проекта может переходить к следующему этапу. Ниже представлен протокол FMEA-анализа в виде таблицы.

Таблица – Протокол FMEA-анализа технологических стадий производства капсул ТемоЭл 250 мг

Процесс Функция/ Требование	Потенциальное несоответствие	Последствие Потенциального несоответствия	Знач. S	Потенциальные причины или механизмы несоответствия	Возн. O	Меры по предотвращению	Меры по обнаружению	Обн.D	ПЧР	Рекомендуемые мероприятия	Ответственный	Результаты действий				
												Предпринятые действия	Новые баллы			
													S	O	D	ПЧР
Смешивание	Неравномерное распределение акт.вещ-ва	Капсулы с разным количеством акт вещ-ва	10	Несовместимость с вспомог. Вещ-вами; сбой оборудования	7	Проверка и настройка оборудования; Оптимальные вспомог. вещ-ва	Взятие пробы каждые 10 минут с разных точек	5	350	Ежеквартальная проверка оборудования, повторное обучение оператора	Главный технолог, главный инженер	Системное тех. Обслуживание, Получены опытно-промышленные серии	10	5	3	150
Инкапсулирование	Плохая заполняемость капсул	Большое количество брака	10	Сбой в оборудовании; Малосыпучая смесь	6	Проверка и настройка оборудования; Оптимальный состав капсул	Взятие готовых капсул каждые 8 минут с разных точек	5	300	Ежеквартальная проверка оборудования, повторное обучение оператора	Главный технолог, главный инженер	Системное тех. Обслуживание, замена изнашивающих частей оборудования	10	4	4	160
Фасовка капсул во флаконы	Неправильная фасовка	Некорректное количество капсул в 1 флаконе	10	Сбой или поломка оборудования	6	Ремонт у фирмы-производителя по гарантии или правильная настройка оборудования	100% визуальный контроль	1	60	Ежеквартальная проверка оборудования, повторное обучение оператора	Главный технолог, главный инженер	Системное тех. Обслуживание, наличие запчастей	10	3	1	30
Упаковка флаконов в пачки	Неправильная упаковка и маркировка	Неправильность штама (номер серии, срок годности)	10	Сбой или поломка оборудования	4	Ремонт у фирмы-производителя по гарантии или правильная настройка оборудования	100% визуальный контроль	1	40	Ежеквартальная проверка оборудования, повторное обучение оператора	Главный технолог, главный инженер	Ежегодное тех. обслуживание	10	2	1	20
Упаковка пачек в коробки	Неправильная упаковка	Неправильность маркировки и количество пачек в коробке	10	Сбой маркиратора	3	Ремонт у фирмы-производителя по гарантии или правильная настройка оборудования	100% визуальный контроль	1	30	Ежеквартальная проверка оборудования, повторное обучение оператора	Главный технолог, главный инженер	Ежегодное тех. обслуживание	9	2	1	18

Этап 8. Документирование решений, написание заключения руководителя группы

Данный этап предусматривает создание базы документации проекта, а именно:

1. Написание заключения технолога и руководителя проекта относительно дальнейшего использования системы. На основе этого заключения принимается решение о внедрении системы или ее использовании в том или ином случае.

2. Написание методик для обслуживающего персонала и операторов.

3. Написание инструкций по технике безопасности.

Ожидаемый результат. Исключение или уменьшение вероятности возникновения потенциальных браков и (или) отказов в системе и процессах ее изготовления на таких важнейших стадиях производства лекарственного препарата, как получение содержимого капсулы, инкапсулирование, фасовка и упаковка.

Результаты и обсуждение

FMEA – анализ идеально используется в наборе инструментов обеспечения надежности и создании устойчивых систем. Метод помогает разработчикам предотвратить появление критических точек производства, повышает безопасность и качество лекарственного средства, метод легко применить на практике. FMEA – анализ эффективен при правильном применении и полном исследовании. Анализ форм и последствий отказов – это один из инструментов управления качеством, который наиболее часто применяют на этапе проектирования лекарственного средства. При выполнении этого анализа стараются определить скрытые (неочевидные) формы возможных отказов, а также суровость возможных последствий (риск) для потребителей. В связи с этим особое значение приобретают вопросы обеспечения надежности продукции, т.е. решение вопросов, связанных с возникновением проблем, симптомы которых могут развиваться только после того, как продукция попала к пользователю.

Заключение

Следует отметить, что смешивание смеси и процесс капсулирования имеют довольно высокую количественную оценку риска, что доказывает ее критичный характер, так как этот процесс является основополагающим звеном всего жизненного цикла капсул. Выявив основные причины возникновения дефектов, оценили последствия на качество капсул ТемоЭл 250 мг. Следовательно, требуется, более жесткий контроль процесса производства лекарственного препарата. Необходимо также улучшить взаимодействия с внешними проектными организациями для понимания актуальных проблем процесса производства, а также внутреннего командного общения.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00. Медицина и здравоохранение

76.01.05. Материалы общего характера

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивашина М.М., Наципаева Е.А., Попова Л.Ф. Риск-ориентированный подход как направление совершенствования системы менеджмента качества промышленных предприятий // Экономический журнал. 2018. N 2(50). С. 26–38.

2. Assem A. Implementation of Quality Risk Management for Manufacturing of a Non-Sterile Pharmaceutical Product – Case study // Cohesive Journal of Microbiology & Infectious Disease. 2018. Vol. 1(3). P. 1-6.

3. Александров А.В. Фактор субъективности при оценке риска по качеству // Фармацевтическая отрасль. 2011. N 5(28). С. 116–119.

4. Claycamp H.G. Probability Concepts in Quality Risk Management // PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology January. 2021. Vol. 66(1). P. 78–89. doi: 10.5731/pdajpst.2012.00801.

SUMMARY

TECHNOLOGICAL PROCESS CONTROL OF TEMOEL 250 MG CAPSULES PRODUCTION USING FMEA-ANALYSIS

Ibragimova A.R., 1st year undergraduate

Academic advise: **Ustenova G.O.,** Doctor of Pharmacy, Professor

Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov

94, Tole bi, Almaty, 050000, Republic of Kazakhstan

E-mail: alphiya25@gmail.com

The structure and algorithm of FMEA analysis for the technological process at a pharmaceutical enterprise have been studied. The advantages of using FMEA analysis in the production of medicines are determined. FMEA-analysis was applied during the production process of TemoEl 250 mg capsules at Eleas Production and Pharmaceutical Company. Upon completion of the work, an FMEA analysis protocol was developed for the production process of TemoEl 250 mg capsules.

Key words: *FMEA analysis, Pareto chart, Ishikawa chart, risk management, temozolomide.*

REFERENCES

1. Ivashina M.M., Natsipaeva E.A., Popova L.F. Risk-oriented approach as a direction for improving the quality management system of industrial enterprises // Economic Journal. 2018. N 2(50). P. 28–38. (in Russian)

2. Assem A. Implementation of Quality Risk Management for Manufacturing of a Non-Sterile Pharmaceutical Product – Case study // Cohesive Journal of Microbiology & Infectious Disease. 2018. Vol. 1(3). P. 1-6.

3. Aleksandrov A.V. The factor of subjectivity in risk assessment by quality // Pharmaceutical industry. 2011. N 5(28). P. 116-119. (in Russian)

4. Claycamp H.G. Probability Concepts in Quality Risk Management // PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology January. 2021. Vol. 66(1). P. 78–89. doi: 10.5731/pdajpst.2012.00801.

УДК 615.074

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СУХОГО ЭКСТРАКТА ВОДЯНИКИ ЧЕРНОЙ ТРАВЫ

Исаева М.А., студ. 5 курса
Руководители: **Буракова М.А.**, канд. фарм. наук, доцент (ORCID: 0000-0002-3880-0359)
Дудецкая Н.А., канд. фарм. наук, доцент (ORCID: 0000-0002-2304-3236)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: isaeva.milena@pharminnotech.com

Разработана технология сухого экстракта водяники черной травы. Установлены рациональные режимы экстракции (метод перколяции): степень измельчения сырья – 2 мм, экстрагент – спирт этиловый 70%, соотношение сырье:экстрагент – 1:10, время настаивания – 2 часа.

Ключевые слова: *Водяники черной трава, перколяция, кинетика экстракции, флавоноиды, сухой экстракт.*

Лекарственные средства на основе лекарственного растительного сырья (ЛРС) все больше привлекает внимание исследователей мира, так как они не уступают по эффективности синтетическим средствам и являются более безопасными [1]. В современной фармацевтической практике экстракты, полученные из ЛРС, используются как самостоятельное лекарственное средство и как полупродукт для получения лекарственных и косметических средств.

Перспективным растительным сырьем для использования в косметологии является водяники черной трава. Сырье водяники черной содержит в своем составе разнообразные классы химических соединений, которые обеспечивают широкий диапазон её применения: сапонины, кумарины, дубильные вещества, флавоноиды, полисахариды, алкалоиды, аскорбиновая кислота, фенолкарбоновые кислоты, эфирные, жирные масла [2].

Водяника черная широко используется в народной медицине. В качестве наружного средства ее применяют для ухода за волосами, а также для в терапии кожных болезней. Противовоспалительные свойства водяники способствуют снижению выраженности угревой сыпи, а также способствуют заживлению ран и язвенных поражений кожи. Кроме этого, водяника проявляет антибактериальные свойства, уменьшает воспаления и раздражения кожи [3].

Целью настоящего исследования является разработка технологии сухого экстракта водяники черной травы для последующего введения его в состав косметического средства с Anti-age действием.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали образцы водяники черной травы, заготовленные в естественных местах произрастания на территории питомника лекарственных растений Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета в течение вегетационного периода в июне 2021 г. Образцы сырья были высушены воздушно-теневым способом.

При экстрагировании растительного материала большое значение имеют характер и крупность измельченного сырья. Эти показатели позволяют увеличивать межфазную поверхность растительного материала при экстрагировании.

Фракционный состав с помощью ситового анализа с использованием комплекта фармакопейных сит [4].

Для выделения основных групп бологически активных веществ (БАВ) из лекарственного растительного сырья использовали метод перколяции. Условия проведения эксперимента: экстрагент – спирт этиловый 70%; степень измельчения сырья – 2 мм; соотношение сырье:экстрагент 1:10.

Методика выполнения эксперимента. Водяники черной траву перед экстракцией измельчали на эксцельсиоре (Bosch MMR08A1) и просеивали через сито с диаметром отверстий 2 мм. Далее заливали экстрагентом до зеркального слоя и оставляли для настаивания на 1, 2, 3, 4, 5, 8, 12 ч. По истечении времени, сырье переносили в перколятор с ложным дном. Материал перколировали со скоростью 0,5 мл/с, полученное извлечение фильтровали, концентрировали. Сгущенные извлечения сушили в вакуум-сушильном шкафу при температуре 55-60°С до остаточной влажности 5%. Полученный сухой остаток измельчали в керамической ступке до порошкообразного состояния вручную. После измельчения осуществляли его просев через сито с размером ячеек 0,5 мм. Верхнюю фракцию отправляют на доизмельчение.

Выбор рациональных параметров экстрагирования сырья контролировали по содержанию суммы экстрактивных веществ и сумме флавоноидов.

Методика определения подлинности флаваноидов в сухом экстракте. Около 0,01 г сухого экстракта растворяли в 5 мл спирте этиловом 70%. На ВЭТСХ пластину (MERCK HPTLC Silica gel 60 F254, 20 x 10 см), на линию старта, находящуюся на расстоянии 0,8 см от нижнего края пластины, поочередно, с помощью полуавтоматического аппликатора Linomat 5 наносили по 2 и 5 мкл растворенного экстракта, 5 мкл вещества свидетели: рутин, гиперазид, кверцетин. Элюирование проводилось в системе БУВ (4:1:2). Насыщение камеры происходило – 20 мин, далее предкондиционирование пластины – 10 мин. Элюирование продолжалось до тех пор, пока фронт растворителя не достигал 85 мм от линии старта. Время сушки пластины – 10 мин. Изображения получали с помощью CAMAG TLC Visualizer 2 при длине волны 254 нм.

Количественную оценку содержания флавоноидов в сухом экстракте проводили методом дифференциальной спектрофотометрии после реакции с алюминия хлорида раствором 2%.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в сухом экстракте. Около 0,05 г (точная навеска) сухого экстракта водяники черной травы помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10 мл спирта этилового 70%, растворяли сухой экстракт, объем раствора доводили спиртом этиловым 70% до метки и перемешивали (раствор А). 1 мл раствора А переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 1 мл этанольного раствора алюминия хлорида 2%, доводили объем раствора спиртом этиловым 70% до метки и перемешивали. Через 30 мин измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см. Приготовление раствора сравнения: в колбу вместимостью 25 мл переносили 1 мл раствора А, доводили объем спиртом этиловым 70% до метки и перемешивали.

Содержание суммы флавоноидов в сухом экстракте водяники черной травы в пересчете на рутин в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D * 0{,}0055 * 100 * 100}{m * D\text{ст. р.} * (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность;

0,0055 – масса навески стандарта рутина;

100 – разведение;

m – масса навески сухого экстракта;

D ст.р. – оптическая плотность стандарта рутина;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Количественное определение суммы экстрактивных веществ проводили согласно ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [5].

Статистическую обработку результатов количественных анализов проводили согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» [6].

Результаты и обсуждения

Одним из критериев наиболее полного извлечения целевых биологически активных веществ является подбор оптимального экстрагента. Можно выделить общие требования, предъявляемые к экстрагентам. Экстрагент должен:

1. Обладать избирательностью действия, т.е. максимально извлекать необходимое лекарственное вещество или их комплекс из сырья и минимально балластные вещества;

2. Хорошо смачивать растительный материал, обладать необходимым десорбирующим действием для проникновения через стенки клеток;

3. Не вступать в химические реакции с лекарственными веществами, не изменять их фармакологических свойств;

4. Быть фармакологически индифферентным (если он входит в состав препарата) и удобным в использовании с точки зрения техники безопасности с учетом горючести, взрывоопасности и вредных воздействий на организм обслуживающего персонала;

5. Быть дешевым, доступным и экономичным.

При выборе экстрагента использовали спирт этиловый различной концентрации. Результаты исследований выбора оптимального экстрагента представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние экстрагента на выход экстрактивых веществ и флованоидов из водяники черной травы

Экстрагент	Выход экстрактивных веществ, %	Выход суммы флавоноидов, %
Спирт этиловый 20%	31,81 ±0, 22	2,26 ±0,12
Спирт этиловый 40%	36,11 ±0,18	1,83 ±0,15
Спирт этиловый 70%	43,29 ±0,10	2,46 ±0,19

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что оптимальным экстрагентом является спирт этиловый 70%, который позволяет извлечь максимальное количество целевых компонентов.

Важным фактором, влияющим на процесс экстрагирования являются размер частиц ЛРС.

Для выбора рациональной степени измельчения сырья исследовали выход суммы флавоноидов из сырья разной степени измельчения. Результаты представлены в таблице. 2.

Таблица 2 – Влияние степени измельчености на выход суммы флавоноидов водяники черной травы.

Размер частиц	Выход суммы флавоноидов, %
< 0,5 мм	2,25 ± 0,10
< 1 мм	1,88 ± 0,13
< 2 мм	2,79 ± 0,16

На основе полученных данных установили, что при размере частиц 2 мм достигается максимальное извлечение суммы флавоноидов в пересчете на рутин.

Кинетика экстракции водяники черной листьев представлена на рисунке 1.

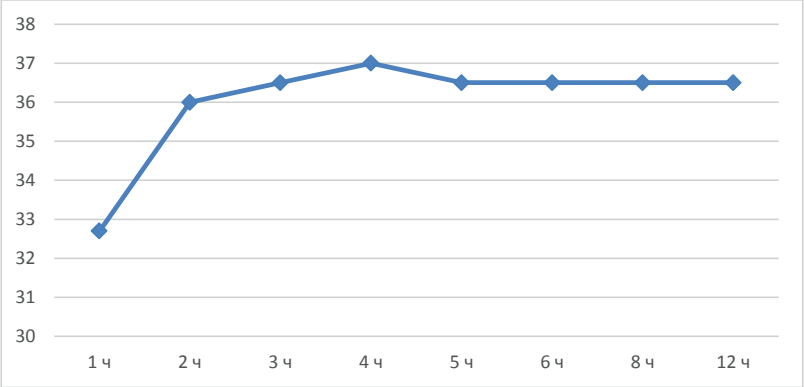


Рисунок 1. Кинетика экстракции водяники черной листьев

На основании проведенных исследований установлено, что рациональным временем настаивание является 2 часа. Следует подчеркнуть, что увеличение времени настаивание до 4 часов незначительно увеличивает выход суммы экстрактивных веществ.

Процессе проведения исследований в вытяжке контролировали содержание флавоноидов методом ВЭТСХ (рис. 2).

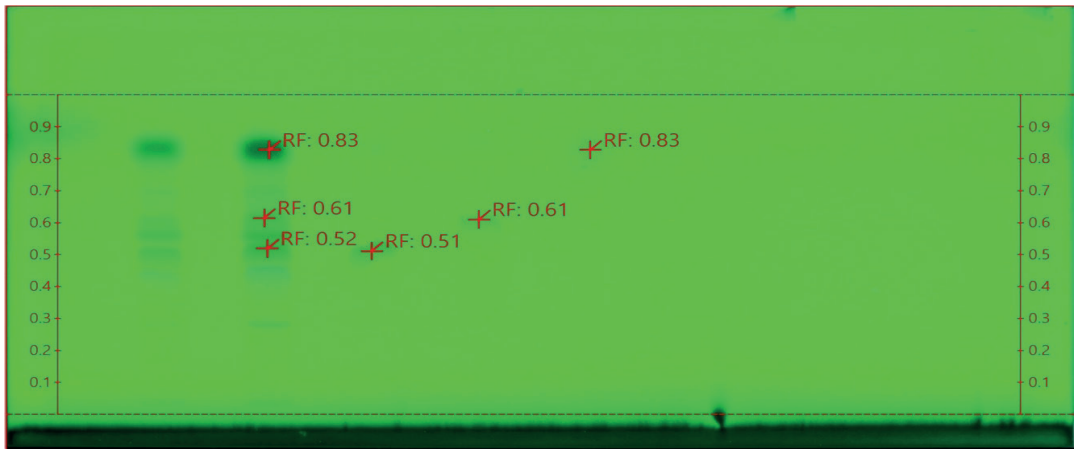


Рисунок 2. Изображение ВЭТСХ пластины при длине волны 254 нм

В результате обработки полученного изображения выявлено совпадение пятен сухого экстракта (трек 1,2) с пятнами свидетелей: рутин, гиперазид, кверцетин (трек 3, 4, 5 соответственно). Rf рутина 0,51; Rf гиперазида 0,61; Rf кверцетина 0,83.

Заключение

На основе проведенных исследований разработана методика сухого экстракта из травы водяники черной в лабораторных условиях. Установлены рациональные режимы экстракции (метод перколяции): степень измельчения сырья – 2 мм, экстрагент – спирт этиловый 70%, соотношение сырье:экстрагент – 1:10, время настаивания 2 часа.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

1.1.31 Фармакогнозия

1.1.32 61.45.00 Технология химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т.В. Самбукова [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2017. Т. 15. N 2. С. 56–63. doi: 10.17816/RCF15256-63

2. Исаева М.А., Дудецкая Н.А. Определение основных групп действующих веществ в водяники черной (Empetrum nigrum L.) // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации. Орехово-Зуево: ГГТУ, 2021. С. 109–112.

3. Агбалян Е.В., Мельникова В.В., Туманова Г.П. Оценка эффективности использования дисперсий коллагена и кератина из шкуры северного оленя и растительных экстрактов для улучшения функционального состояния кожи // Научный вестник Ямало-Ненецкого автономного округа. 2019. N 4(105). С. 15-24. doi: 10.26110/ARCTIC.2019.105.4.003

4. Ситовой анализ. ОФС.1.1.0015.15 // Государственная фармакопея РФ. XIV изд. 2018. [Электронное издание]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/369/

5. Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. ОФС.1.5.3.0006.15 // Государственная фармакопея РФ. Т. 2. XIV изд. 2018. [Электронное издание]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/

6. Статистическая обработка результатов эксперимента. ОФС.1.1.0013.15 // Государственная фармакопея РФ. XIV изд. 2018. [Электронное издание]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/289/

SUMMARY

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY FOR DRY EXTRACT OF THE BLACK CROWBERRY HERB

Isaeva M.A., 5th year student
Scientific supervisor: **Burakova M.A.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor
Dudetskaya N.A., Candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: isaeva.milena@pharminnotech.com

The technology of the dry extract of black crowberry herb has been developed. Rational modes of extraction (method of percolation) have been established: degree of grinding of raw materials – 2 mm, extractant – ethyl alcohol 70%, ratio of raw materials:extractant – 1:10, infusion time – 2 hours.

Keywords: Black crowberry herb, percolation, extraction kinetics, flavonoids, dry extract.

REFERENCES

1. Prospects for the use of herbal remedies in modern pharmacology / T.V. Sambukova [et al.] // Reviews of clinical pharmacology and drug therapy. 2017. Vol. 15(2). P. 56–63. doi:10.17816/RCF15256-63. (in Russian).

2. Isaeva M.A., Dudetskaya N.A. Determination of the main groups of active substances in black crowberry (Empetrum nigrum L.) // Prospects for the introduction of innovative technologies in medicine and pharmacy. Orekhovo-Zuevo: GSTU, 2021. P. 109-112. (in Russian).

3. Agbalyan E.V., Melnikova V.V., Tumanova G.P. Evaluation of the effectiveness of the use of dispersions of collagen and keratin from the skin of a reindeer and plant extracts to improve the functional state of the skin // Scientific Bulletin of the Yamalo-Nenets Autonomous Okrug. 2019. N 4(105). P. 15–24. doi: 10.26110/ARCTIC.2019.105.4.003. (in Russian).

4. Sieve analysis. OFS.1.1.0015.15 // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/369/ (in Russian).

5. Determination of the content of extractive substances in medicinal plant materials and herbal medicinal preparations. OFS.1.5.3.0006.15 // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Vol. 2. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/ (in Russian).

6. Statistical processing of experimental results. OFS.1.1.0013.15 // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/289/(in Russian).

УДК 615.453

К ВОПРОСУ РАЗРАБОТКИ ТЕХНОЛОГИИ ТАБЛЕТОК «СИМВЕРИН»

Исмаилова М.К., соискатель
Руководители: **Юнусова Х.М.**, докт. фарм. наук, проф.
Илхамова Н.Б., докт. фарм. наук.
Ташкентский фармацевтический институт, 100015,
Ташкент, ул. Айбека, д.45, Республика Узбекистан
E-mail: apteka_sadkem@mail.ru

В данном сообщении приводятся результаты исследования теоретических и экспериментальных обоснование создания композиций на основе дротоверина гидрохлорида и симетикон, рассмотрены и коротко сформулированы основные критерии подхода к разработке состава и технологии таблеток, обладающих спазмолитическим действием.

Ключевые слова: *детские лекарственные формы, фракционный состав, технологические свойства, насыпная плотность, сыпучесть, прессуемость, уплотняемость.*

Значительное количество заболеваний различной этиологии сопровождается спастическими реакциями – сокращениями гладкой мускулатуры, которая формирует мышечные оболочки стенок кровеносных сосудов и лимфатических узлов, а также полых внутренних органов, таких как кишечник или матка. Эти спазмы, в свою очередь, вызывают болевые ощущения, снижающие качество жизни человека [1].

Симптомы спастической дисфункции органов пищеварения встречаются в 30% случаев при отсутствии органического поражения желудка или кишечника, что обусловливает частое самостоятельное (без врачебного назначения) применение спазмолитических препаратов. Широкое применение препаратов этой группы диктует необходимость постоянно напоминать об их клинической фармакологии, особенно свойствах и переносимости, во избежание как недооценки, так и переоценки лечебных возможностей. Спазмолитики применяются при фармакологической терапии больных функциональной диспепсией, пациентов с синдромом раздраженной кишки легкого течения, дискинезиями желчевыводящих путей, а также лечении обострения язвенной болезни до назначения эрадикационной терапии *Helicobacter pylori*, обострения желчнокаменной болезни до выполнения холецистэктомии и т. д. Спазмолитики также используются как бронхолитические средства для снятия спазмов бронхиальных мышц, для стимуляции сердечной деятельности в процессе лечения стенокардии [2].

Комбинированные препараты спазмолитического действия – это дополнение активными веществами, положительно влияющими на самочувствие пациента. В роли этих веществ могут выступать анальгетики, седативные и гипотензивные вещества, средства, снижающие газообразование, и другие [1-4].

Разработка и усовершенствование составов существующих лекарственных форм наиболее востребованных препаратов, замена импортируемых веществ на представителей местного сырья, соответственно уменьшение себестоимости выпускаемой продукции – одна из основных задач отечественной фармацевтической технологии [5, 6].

Цель: изучение технологических характеристик субстанции и вспомогательных веществ, а также выбор оптимального состава таблетируемой массы.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования был дротоверин гидрохлорид и симетикон и более широкоприменяемые вспомогательные вещества. Дротаверин гидрохлорил относится к миотропным неселективным средствам, способен блокировать фосфодиэстеразу (ФДЭ), разрушающую внутриклеточный медиатор сигналов (цАМФ), накопление которого способствует снижению сократительной способности клеток. Кроме того, дротаверин гидрохлорид обладает некоторым эффектом блокатора кальциевых и натриевых каналов. Снижает тонус гладких мышц, расширяет кровеносные сосуды, улучшает перистальтику ЖКТ. После приема внутрь быстро всасывается и хорошо проникает в различные ткани организма (эффект при внутривенном введении может отмечаться уже через двечетыре минуты), выводится медленно. Препараты на его основе обычно хорошо переносятся пациентами. Назначается этот спазмолитик при боли, вызванной спазмом гладкой мускулатуры внутренних органов, включая почечную, кишечную и печеночную колики, спастические запоры, язвенную болезнь, гастродуоденит, угрожающие преждевременные роды, послеродовые схватки и другие патологические состояния. Дротаверин включен в стандарты медицинской помощи при различных болях в животе [7-9].

Симетикон – кремнийорганическое соединение группы полидиметилсилоксанов, обладающее свойствами пеногасителя, используемого для уменьшения вздутия живота [9, 10]

В экспериментах изучали такие технологические показатели, как насыпная плотность, сыпучесть, коэффициенты прессуемости, уплотняемости и др. Изучение технологических свойств субстанции проводили общепринятыми методами, приведенными в Государственной Фармакопеи XI, вып.2, с.154., в литературах и соответствующей нормативной технической документом.

Для определения фракционного состава использовали специальный комплект из 5 сит, расположенных одно над другим, с диаметром отверстий 2, 1, 0,5, 0,25, мм. Точную навеску субстанции (100 г) помещали на верхнее сито с диметром отверстий 2 мм. Встряхивали на вибраторе в течение 5 мин. Затем сита поочередно снимали и взвешивали их содержимое, находя процентное содержание каждой фракции. Изучение формы и размера частиц действующих и вспомогательных веществ проводили с помощью микроскопа МБИ-15 при увеличении в 400 раз, что дает возможность охарактеризовать форму и поверхность частиц. Сыпучесть порошков определяли в соответствии с методикой, приведенной в литературе. Для определения прессуемости навеску массой 0,3 г прессовали в таблетку диаметром 9 мм на гидравлическом прессе при давлении 120 МПа и после этого определяли прочность полученной таблетки на приборе типа «Эрвека» (Германия) [4, 5].

В следующих этапах исследования изучали некоторые более важные технологические свойства вспомогательных веществ.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что дротоверин гидрохлорид представляет собой аморфный порошок. Результаты фракционного состава свидетельствуют о том, что основная масса частиц имеет размер менее 250 мкм (35,24%), значения сыпучести неудовлетворительная ($0{,}534 \cdot 10^{-3}$ кг/с), небольшой насыпной плотностью (617,55·кг/м^3), коэффициент уплотнения высокая, уголь естественного откоса (64,2 градус).

Из полученных результатов можно сделать вывод, что изучаемая субстанция дротоверина гидрохлорида обладает плохой сыпучестью и в то же время вполне удовлетворительной прессуемостью, уплотняемости и т.д.

Симетикон – средство, уменьшающее метеоризм. Симетикон – химически инертный полимер метилсилоксана, содержащий около 5% диоксида кремния. Обладает поверхностно-активными свойствами и способностью снижать поверхностное натяжение на границе раздела сред жидкость/газ, что затрудняет образование пузырьков газа, а также способствует их слиянию и разрушению пены в кишечнике, вследствие чего высвободившийся газ всасывается или выводится естественным путем под влиянием перистальтики кишечника. Применение симетикона при подготовке к проведению диагностических исследований органов брюшной полости препятствует возникновению дефектов изображения, вызываемых пузырьками газа.

Изучение некоторые более важные технологические свойства вспомогательных веществ.

Таким образом, полученные показатели исследованных технологических параметров показывали необходимость использования вспомогательных веществ.

Результаты изучения технологических параметров вспомогательных веществ приведены в табл.1. и 2.

Таблица 1 – Результаты изучения технологических свойств вспомогательных веществ

Показатель	Сахароза	Крахмал картофельный	МКЦ	Кальция стеарат	Аэросил	Магния стеарат
Описание	Белый порошок	Белый порошок	Белый порошок	Белый порошок	Белый порошок	Белый порошок
Размер частиц (микроскопически)	200-250 мкм	до 200 мкм	Мелкий порошок	Мелкий порошок	Мелкий порошок	Мелкий порошок
Насыпная масса, г/см3	0,71	0,87	0,494	0,525	0,390	0,516
Сыпучесть, г/сек	6-7	2,5	4,9	3,1	2,2	3,5

Таблица 2 – Результаты изучения технологических свойств вспомогательных веществ

Название вещества	Форма частиц	Размер частиц, мкм	Сыпучесть, г/с	Прессуемость, Н
Лактоза М-80	Призматическая	10-199	7,9±0,17	43,2±4,3
Лактоза М-200	Призматическая	10-98	8,0±0,21	49,5±2,7
МКЦ	Волокна и конгломераты из них	100-253	5,1±0,09	179,1±2,0
Крахмал картофельный	Многогранники со сглаженными углами	10-49	2,7±0,11	119,9±2,1

Для предварительного подбора состава гранулированной массы использованы выше приведенные вспомогательные вещества в разных соотношениях. Исходя из полученных данных для дальнейшего исследования принят композиция с вспомогательными веществами: сахароза, крахмаль картофельный и кальция стеарат. Изучены более двадцати серии с этими вспомогательными веществами. Таблеточные массы – однородные, неопределенной формы, желтого или почти желтого цвета со специфическим запахом. В дальнейшем был изучен технологические свойства прессуемой массы рекомендованных таблеток приготовленный с применением как отдельных, так и комбинированных выше приведенных вспомогательных веществ. В данном этапе исследования нами были изучены следующие технологические показатели смеси: фракционный состав, насыпная плотность, сыпучесть, пористость, угол естественного откоса, коэффициент уплотняемости, коэффициент прессуемости, прессуемость и остаточная влажность.

Определение вышеуказанных параметров проводили согласно методикам Государственной Фармакопеи XI и соответствующей нормативно технической документации. В смесях некоторые технологические свойства субстанции – сыпучесть, насыпную плотность немного изменились. Из полученных данных следует, что исследуемые показатели контроля качества следующих технологических свойств, как фракционный состав, насыпная плотность, угол естественного откоса, сыпучесть во всех сериях масс таблеток обладают позитивными данными. Технологические свойства прессуемой массы таблеток, полученные по различным сериям близки между собой. Это объясняется близкими технологическими свойствами использованных вспомогательных веществ.

Результаты изучения технологических свойств смеси приведены в табл. 3.

Таблица 3 – Результаты изучения технологических свойств прессуемых масс

Изучаемые показатели	Единица измерения	Значения показателя
Внешний вид		Однородные порошки белого цвета, без запаха
Фракционный состав: +2000 -2000+1000 -1000+500 -500+250 -250	мкм, %	 11,12 26,47 35,29 20,80 8,32
Сыпучесть	10^{-3} кг/с	5,9
Угол естественного откоса	градус	55
Насыпная плотность	кг/м^3	298
Прессуемость	Н	41

Изучаемые показатели	Единица измерения	Значения показателя
Коэффициент прессуемости		1,25
Коэффициент уплотняемости		5,4
Остаточная влажность	%	4,98
Пористость	%	49

Результаты исследований показали следующие: такие технологические показатели, как насыпная плотность в пределах (298кг/м^3), сыпучесть (5,9•10^{-3} кг/с), угол естественного откоса (55градус), коэффициент прессуемости (1,25), уплотняемости (5,4) и др. имели незначительно позитивные значения у смеси чем субстанции отдельно. Однако эти показатели прогнозируют, что таблетки без добавления вспомогательных веществ и технологии невозможно получит.

Выводы

Таким образом, изучены технологические свойства субстанции дротоверина гидрохлорида, которые будут использованы с целью дальнейшей разработки технологии таблетирования, рассмотрены и коротко сформулированы основные критерии подхода к разработке состава и технологии таблеток, выбор которых обусловлен характеристиками действующего вещества и вспомогательных веществ.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.00 Технология химико-фармацевтических средств

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивлева А. Я. Спазмолитические средства // Большая медицинская энциклопедия : в 30 т. / гл. ред. Б. В. Петровский. 3-е изд. М. : Советская энциклопедия, 1985. Т. 24 : Сосудистый шов - Тениоз. 544 с.

2. Efficacy and safety of APT036 versus simethicone in the treatment of functional bloating: a multicentre, randomised, double-blind, parallel group, clinical study / O. Burta [et al.] // Translational Gastroenterology and Hepatology. 2018. N 3. 72 p. DOI:10.21037/tgh.2018.09.11.

3. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Studies of acute toxicity of the drug «Analfenon» for use in tablet form // International Journal of All Research Writings. 2020. Vol. 1(10). P. 26-29.

4. Methodological guidelines for the study of antihypertensive effect of drugs / Ed. of A.N.Mironov // Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicines. M.: Vulture and K, 2012. P. 363-373.

5. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Effect of various binding agents on the quality of hard gelatin capsules «Analfenon» // International Journal of All Research Writings. 2020. Vol. 1(10). P. 81-85.

6. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. The investigation of technological and physico-chemical characteristics of active substances and their granulates for the development combined drug "Analfenon" // EPRA International Journal of Research and Development. 2020. Vol. 5(4). P. 34-37.

7. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288.

8. Жалолиддинова М.Ш., Юнусова Х.М. Влияния удельного давления прессования на устойчивость комбинированных таблеток «Ортоф -S» // Фармация. 2020. С. 514-517.

9. Исследование в области разработки технологии таблеток «Ниме-S» / З.Х. Зуфарова [и др.] // Фармацевтический Вестник Узбекистана. 2015. N 4. С. 73-75.

10. Ilkhamova N.B., Nazarova Z.A., Yunusova Kh.M. Studying the effect of a relative humidity and compaction pressure on the quality of tablets and pressed mass // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2019. Vol. 8(6). P. 35-40.

SUMMARY

ON THE ISSUE OF DEVELOPING THE TECHNOLOGY OF TABLETS «SIMVERIN»

Ismailova M.K., the applicant
Scientific supervisor: **Yunusova Kh.M.,** doctor of pharm. sciences, professor
Ilkhamova N.B., doctor of pharm. sciences
Tashkent Pharmaceutical Institute
100015, Tashkent, Aybek str., 45, Republic of Uzbekistan
E-mail: apteka_sadkem@mail.ru

This report presents the results of a study of theoretical and experimental substantiation of the creation of compositions based on drotoverine hydrochloride and simeticone, the main criteria for the approach to the development of the composition and technology of tablets with antispasmodic effect are considered and briefly formulated.

Keywords: *children's dosage forms, fractional composition, technological properties, bulk density, flowability, compressibility, compactness.*

REFERENCES

1. Ивлева А. Я. Спазмолитические средства // Большая медицинская энциклопедия : в 30 т. / гл. ред. Б. В. Петровский. Т. 24 : Сосудистый шов -Тениоз. 3-е изд. М. : Советская энциклопедия, 1985. 544 с.

2. Efficacy and safety of APT036 versus simethicone in the treatment of functional bloating: a multicentre, randomised, double-blind, parallel group, clinical study / O. Burta [et al.] // Translational Gastroenterology and Hepatology. 2018. N 3. 72 p. DOI:10.21037/tgh.2018.09.11.

3. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Studies of acute toxicity of the drug «Analfenon» for use in tablet form // International Journal of All Research Writings. 2020. Vol. 1(10). P. 26-29.

4. Methodological guidelines for the study of antihypertensive effect of drugs / Ed. of A.N.Mironov // Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicines. M.: Vulture and K, 2012. P. 363 - 373.

5. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Effect of various binding agents on the quality of hard gelatin capsules «Analfenon» // International Journal of All Research Writings. 2020. Vol. 1(10). P. 81-85.

6. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. The investigation of technological and physico-chemical characteristics of active substances and their granulates for the development combined drug "Analfenon" // EPRA International Journal of Research and Development. 2020. Vol. 5(4). P. 34-37.

7. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288.

8. Lobliddinova M.S., Yunusova H.M. Influence of specific pressure of pressing on stability of combined tablets «Ortho-S» // Pharmacy. 2020. P. 514-517. (in Russian)

9. Research in the development of «Nime-S» tablet technology / Zhufarova Z.X. [et al.] // Farmatsevticheskiy Vestnik Uzbekistana. 2015. N 4. P. 73-75 (in Russian)

10. Ilkhamova N.B., Nazarova Z.A., Yunusova Kh.M. Studying the effect of a relative humidity and compaction pressure on the quality of tablets and pressed mass // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2019. Vol. 8(6). P. 35-40.

УДК 628.3

МОДЕЛИ ПРОЦЕССОВ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЯХ

Кайбышева М.Р., студ. 3 курса
Руководитель: **Александрова Л.Ю.**, преп. кафедры ПАХТ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: majya.kajbysheva@spcpu.ru

В данной статье рассматриваются методы очистки сточных вод на фармацевтических предприятиях, сфера применения методов очистки, преимущества и недостатки. Прогнозируются модели эффективного очищения с точки зрения сочетания различных методов на основе экспериментальной модели по умягчению.

Ключевые слова: *методы очистки сточных вод фармацевтических предприятий, механические методы очистки, биологические методы очистки, мембранные методы очистки, стерилизация стоков, современные методы очистки стоков.*

Одной из целей устойчивого развития в Российской Федерации является «Обеспечение наличия и рационального использования водных ресурсов и санитарии для всех». Особенно актуальна проблема очистки сточных вод для фармацевтического производства, отличающегося большим водопотреблением и, следовательно, объемами стоков со специфическим составом.

Согласно данным «федеральной службе государственной статистики (РОССТАТ)» на 2020 год, наблюдается тенденция к уменьшению объема сбрасываемых стоков, однако количественное сокращение объема сбрасываемых веществ наблюдается только по трем позициям [1].

Целью данного исследования является изучение методов очистки стоков и аналитическое прогнозирование моделей эффективного очищения в реалиях химико-фармацевтических производств.

Достижение цели включает в себя следующие задачи:

1. Изучить методы очистки стоков, проанализировать их достоинства и недостатки
2. Проанализировать современные методы очистки стоков
3. Предложить эффективные модели очистки стоков в условиях химико-фармацевтической промышленности

Общий сток производства какого-либо препарата формируется из отдельных стоков, образующихся на различных стадиях данного производства. Большинство современных технологий получений лекарственных препаратов основаны на периодичности процессов, следовательно, периодичным является и сброс сточных вод. Цикл производства может включать несколько химических процессов, проходящих в различных технологических аппаратах, причём в каждом из

этих процессов участвуют различные виды химического сырья. В сточные воды поступают десятки видов различных исходных и получаемых в процессе производства химических соединений. Разнообразный состав стоков от препарата к препарату обостряет проблему отсутствия единых норм водоотведения.

Состав сточных вод фармацевтических предприятий зависит от специфики производства, которое включает три основные группы:

• Производство синтетических лекарственных препаратов.

• Производство витаминов.

• Производство антибиотиков.

Стадийность производства и многокомпонентный состав используемого сырья, который может меняться в процессе производства того или иного лекарственного препарата, предполагает различные технологические схемы очистки сточных вод фармацевтических предприятий. При производстве одного и того же препарата могут образовываться разное количество сточных вод с различным составом. В таком случае сложно сформировать единые схемы водоотведения.

При разработке технологической схемы следует предусмотреть раздельный отвод сточных вод в зависимости от степени загрязнения.

Исследование проведено на основе материалов из различных интернет-источников (статьи, научные публикации, интернет-сайты, диссертации), так и взятая из библиотеки различная научная литература. В ходе исследования был проведен анализ и обобщение результатов интернет-поиска в вопросах очистки стоков фармацевтических предприятий, а также были использованы теоретические модели для формирования выводов об эффективности сочетаний методов.

Современная концепция базируется на рециркуляции и повторном использовании воды с целью минимизации водозабора.

При выборе метода руководствуются экономической целесообразностью и экологической эффективностью. Традиционные методы, которые используются при очистке стоков предприятий химической промышленности представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Традиционные методы очистки сточных вод

Механическая очистка	Физико-химическая очистка	Мембранные методы
Отстаивание; Фильтрация; Осаждение в центробежном поле; Флотация: для отделения жироподобных веществ и некоторых взвесей. Состоит из обработки стоков диспергированным воздухом и образования флотопены. Эффективность флотации повышают с помощью реагентов (флокулянтов и коагулянтов)	Реагентный метод: нейтрализация кислот и щелочей, перевод ионов в малорастворимые соединения, очистка от ионов тяжелых металлов, соосаждение растворенных неорганических примесей, гидролиз; электрохимические методы. Метод нейтрализации для кислых или щелочных сточных вод. Уравновесить pH: применением реагентов; пропусканием через нейтрализующий фильтр, содержащий известняк, доломит, магнезит	Обратный осмос; Ультрафильтрация. Применяется для сточных вод с высоким содержанием растворенных солей и кислот. Обратный осмос используется для отделения низкомолекулярных соединений, ультрафильтрация для высокомолекулярных, взвешенных частиц, коллоидов.

Преимуществом применения данных методов при очистке стоков химических производств следует считать:

• извлечение ценных примесей;

• одновременная очистка от неорганических, органических примесей и микроорганизмов;

• независимость от концентрации загрязнений в стоках.

Биологическая очистка стоков используется на локальных установках как основная, так и в качестве доочистки и применяется для:

• обеззараживание сточных вод перед сбросом в водоемы;

• снижение скорости коррозии оборудования и трубопроводов;

• предотвращение солеобразования и покрытия микроорганизмами термических поверхностей при возвращении загрязненных вод в цикл оборотного водоснабжения.

Рассмотрим некоторые современные усовершенствованные методы [6]:

1. Биологическая очистка с применением мембранного биореактора для антибиотиков в сочетании с УФ-излучением основана на поступлении сточных вод после механической очистки в аэротенки и прохождении раствора через мембранные модули, в которых взвешенные вещества и коллоидные частицы задерживаются на ультрамембранах. Для последующей очистки мембран производится их промывка обратным током жидкости и аэрация воздухом.

К преимуществам такого метода очистки стоков фармацевтических предприятий следует отнести:

• отсутствие в технологической схеме вторичных отстойников и фильтров, что позволяет сократить площади под очистные сооружения;

• накопление большого количества активного ила, порядка 25 мг/л, что повышает качество и скорость очистки;

• микроскопический размер мембран позволяет очистить воду от микроорганизмов и других биологических примесей;

• полная автоматизация процесса.

2. Термическое обеззараживание (стерилизация стоков) применяется для производства вакцин и прочих препаратов с содержанием биологических материалов. Сущность метода заключается во впрыскивании в струю острого пара раствора и выдержка его при заданной температуре 121° – 134°С в течение 15 – 20 минут. В некоторых случаях время увеличивается до 120 минут. После термического обеззараживания очищенные воды фармацевтики проходят доочистку и могут быть сброшены в городскую сеть канализации.

3. Современные методы, основанные на окислительных процессах, применяются в случае содержания в растворе специфических и трудноразлагаемых соединений.

a. Применение реактива Фентона

В состав реактива Фентона входят пероксид водорода и Fe^{2+}. Сущность метода заключается в восстановлении железа (III) до железа (II) при участии перекиси водорода. Образовавшиеся окислительные радикалы нейтрализуют загрязняющие вещества в растворе. Добавление ароматических соединений ускоряет процесс восстановления железа (III) и снижает его содержание в реакционной среде.

Используется для удаления бионеразлагаемых соединений после биологической очистки; очистки поверхностных вод от микрозагрязнений лекарственными препаратами; очистки стоков от антибиотиков, в частности, от амоксициллина, ампициллина и клоксациллина.

b. Эффект кавитации

Во время кавитации происходит образование, рост и разрушение пузырьков в жидкости с повышением температуры. Молекулы воды разрушаются и образуют гидроксильные и пергидроксильные радикалы, которые окисляют примеси в растворах сточных вод.

По способу возникновения кавитация делится на две группы:

1. Акустическая. Возникает при прохождении через раствор сточных вод высокочастотных звуковых сигналов.

2. Гидродинамическая. Наступает при перепаде давлений в потоке жидкости.

Каждый из способов по отдельности не дает достаточной степени очистки стоков, тогда как при применении обоих способов одновременно приводит к наилучшему эффекту. Еще больший эффект возникает при использовании дополнительного окислителя (озона, перекиси водорода или их совместного применения) вместе с кавитацией.

c. Фотокаталитическое окисление

Фотокаталитическое окисление заключается в окислении загрязняющих веществ при действии УФ-излучения с участием катализатора – диоксида титана. Применение данного катализатора имеет ряд преимуществ:

• невысокие материальные затраты;

• хорошая физико-химическая стойкость;

• высокая каталитическая активность.

Применение диоксида титана в качестве катализатора позволяет очистить стоки от большинства загрязняющих веществ фармацевтического производства.

d. Совместное действие O_3 и H_2O_2

Использование только озона в качестве окислителя не дает ощутимых результатов при очистке сточных вод предприятий фармацевтики. Некоторые вещества устойчивы к воздействию озона, а для удаления других необходимы высокие концентрации O_3.

Добавление в реакционную среду перекиси водорода заметно повышает качество очистки стоков благодаря образованию гидроксильных радикалов, которые являются сильными окислителями органических соединений.

Количественные показатели озона и перекиси водорода подбираются экспериментальным путем и зависят от состава стоков и их концентрации.

e. Окисление влажным воздухом

Метод окисления влажным воздухом хорошо зарекомендовал себя при концентрации загрязняющих органических веществ до 20 % масс. Процесс окисления идет при температуре 200° – 400°С и давлении 3 – 30 МПа, продолжительностью от 15 мин до 2 часов.

Метод имеет ряд недостатков, в частности, образование летучих органических кислот, изменение цветности сточных вод и увеличение их токсичности. Поэтому данный метод применяют в совокупности с биологической очисткой.

f. Сверхкритическое окисление

Метод основан на свойствах сверхкритической воды оставаться в жидкой фазе и быть одновременно растворителем, реагентом и катализатором. Вода в сверхкритическом состоянии имеет температуру 374°С и находится под давлением 22 МПа. Эти условия позволяют интенсифицировать процесс очистки.

Преимуществом метода является образование экологически чистых продуктов, не требующих дополнительной доочистки. Это очищенная до высоких показателей ПДК вода, твердые вещества в виде оксидов металлов и солей и природные газы, такие как углекислый газ и азот. Недостатки метода создают трудности для использования его для очистки стоков предприятий фармацевтики в промышленных масштабах.

Недостатками метода являются:

• необходимость повышать концентрацию загрязняющих веществ в растворе перед использованием метода;

• тщательный подбор материалов для оборудования, так как сверхкритическая вода представляет собой агрессивную среду;

• повышение затрат на обслуживание и очищение установок.

Результаты исследований очистки моделью с сочетанием физико-химических методов проводились с применением различных доз реагентов, а также с различной последовательностью их введения. В результате получили вывод: после-

довательность введения реагентов оказывает значительное влияние на показатели остаточной жесткости, щелочности и фильтрующей способности раствора.

В модельный раствор, содержащего 400 мг-экв/л кальция и 98 мг-экв/л магния, объемом 50 мл при постоянном перемешивании по каплям вводили 9 %-ый раствор NaOH 75 % от стехиометрии на магний, после чего определяли остаточное содержание солей магния и кальция в растворе. Далее дозировали кристаллический Na_2SO_4 в количестве 100, 110, 120, 130 % от стехиометрии на кальций. В ходе процесса протекают следующие химические реакции с выпадением осадка:

$$CaCl_2 + 2NaOH = Ca(OH)_2\downarrow + 2NaCl$$
$$MgCl_2 + 2NaOH = Mg(OH)_2\downarrow + 2NaCl$$
$$CaCl_2 + Na_2SO_4 = CaSO_4\downarrow + 2NaCl,$$

где $CaCl_2$ CAS №10043-52-4, NaOH CAS №1310-73-2, $Ca(OH)_2$ CAS №1305-62-0, NaCl CAS №7647-14-5, $MgCl_2$ CAS №7786-30-3, $Mg(OH)_2$ CAS № 1309-42-8, Na_2SO_4 CAS №7757-82-6, $CaSO_4$ CAS №7778-18-9.

В результате образовалась суспензия, которую подвергали электронагреву или обработке СВЧ при различных мощностях (800W, 450W, 100W) до 95 ºС, после чего проводили фильтрование с использованием стеклянного фильтра Шотта (100 пор). Определяли массу фильтрата и влажного осадка, далее осадок промывали ацетоном и сушили при температуре 70 ºС до постоянной массы, для определения его влажности, производительности фильтрования по твердой фазе, также рассчитывали производительность по фильтрату. Фильтрат отбирали на анализ для определения остаточной жесткости в растворе. Данные показатели приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние нормы Na_2SO_4 и способа нагрева суспензии на остаточную жесткость и производительность фильтрования при введении на первой стадии NaOH в количестве 75 % от стехиометрии на Mg

Нагрев до 95ºС на 2 стадии	Норма Na_2SO_4 на 2 стадии, % от стехиометрии на Σ (Mg и Ca)	Остаточная жесткость по стадиям, мг-экв/л		Производительность фильтрования, т/(м2·ч)		Влажность осадка, W,%
		1 стадия	2 стадия	По осадку, Пт·102	По фильтрату, Пф	
Электронагрев, 10 мин	100	403,9	77,0	13,7	4,0	56
	110	403,9	55,0	5,3	1,2	62
	120	403,9	55,0	6,2	0,6	59
	130	403,9	36,7	11,1	1,6	50
СВЧ-800, 35 сек	100	403,9	86,6	13,3	4,3	66
	110	403,9	73,4	4,0	1,1	65
	120	403,9	55,0	6,4	2,5	65
	130	403,9	45,9	10,7	2,3	50
СВЧ-450, 1 мин	100	403,9	77,0	8,0	2,5	68
	110	403,9	55,0	5,9	1,6	72
	120	403,9	40,0	9,9	2,7	60
	130	403,9	27,5	10,3	1,6	55
СВЧ-100, 3,5 мин	100	403,9	67,3	10,6	3,4	70
	110	403,9	62,6	5,7	1,7	68
	120	403,9	39,0	6,8	2,1	67
	130	403,9	19,6	7,6	2,1	69

Из приведенных данных в таблице 2 видно, что при увеличении нормы введения Na_2SO_4 от 100% до 130% остаточная жесткость в растворе снижается при любом виде нагрева суспензии до 95 ºС. Это можно объяснить тем, что в присутствии избытка сульфат-ионов кристаллы CaSO4 становятся более изометричными.

Так, при электронагреве и изменении дозы Na_2SO_4 от 100 до 130 % остаточная жесткость в растворе снижается на 52,3%. При обработке суспензии СВЧ мощностью 800W и изменении нормы введения сульфата натрия остаточная жесткость в растворе уменьшается на 47 %. При обработке СВЧ − 450 W происходит уменьшение жесткости на 64,3%. При обработке суспензии СВЧ мощностью 100W и при увеличении нормы введения сульфата натрия от 100 до 130 % остаточная жесткость в растворе снижается на 70,9 %.

Можно сделать вывод, что увеличение нормы сульфата натрия до 130% при всех видах нагрева приводит к резкому уменьшению остаточной жесткости в растворе; при уменьшении мощности и увеличении времени обработки СВЧ остаточная жесткость в растворе, также значительно снижается, поэтому наилучших результатов по значению остаточной жесткости 19,6 мг-экв/л удалось добиться при норме Na_2SO_4 130 % от стехиометрии на кальций и обработке СВЧ − 100W.

Совместное использование моделей очистки с сочетанием традиционных методов и современных в условиях специфики работы фармацевтических предприятий дает значительный эффект и снижает затраты на доочистку и утилизацию образующихся промежуточных и конечных продуктов. Доказательство большей эффективности моделей с несколькими методами можно подтвердить экспериментально.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.00 Технология химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Цели устойчивого развития в Российской Федерации // РОССТАТ. [Электронный ресурс] URL: https://rosstat.gov.ru/sdg (дата обращения: 01.02.2022).

2. Балпанова Д.Т., Байзолданов Т., Кожамжарова А.С. Очистка сточных вод предприятий фармацевтической отрасли // Вестник Казахского Национального медицинского университета. 2013. N 5. С. 24-27.

3. Филатова Е.Г. Обзор технологий очистки сточных вод от ионов тяжелых металлов, основанных на физико-химических процессах // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2015. N 2. С. 97-109.

4. Эффективность использования смешанных реагентов на основе солей алюминия и железа для очистки воды / А.В. Мамченко [и др.] // Химия и технология воды. 2006. Т. 28. N 6. С. 582–592.

5. Очистные сооружения химических предприятий // Argel. Профессиональные решения очистки воды. [Электронный ресурс] URL: https://www.vo-da.ru/articles/ochistnye-himicheskih-predpriyatiy/osobennosti-proizvodstva (дата обращения: 01.02.2022).

6. Исхакова И.О., Ткачева В.Э. Инновационные методы очистки сточных вод современного гальванического производства // Вестник Технологического университета. 2016. Т. 19. N 10. С. 143–146.

SUMMARY

MODELING OF WASTEWATER TREATMENT PROCESSES

Kaibysheva M. R., 3rd year student

Scientific supervisor: **L.Y. Alexandrova**, Lecturer of the Department of Processes and Devices of Chemical Technology

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: majya.kajbysheva@spcpu.ru

This article discusses the methods of wastewater treatment at pharmaceutical enterprises, the scope of treatment methods, advantages and disadvantages. Models of effective purification are predicted in terms of a combination of different methods based on an experimental softening model.

Keywords: *methods of wastewater treatment of pharmaceutical enterprises, mechanical methods of purification, biological methods of purification, membrane methods of purification, sterilization of wastewater, modern methods of wastewater treatment.*

REFERENCES

1. Sustainable Development Goals in the Russian Federation // ROSSTAT [Internet] URL: https://rosstat.gov.ru/sdg (Accessed 01.02.2022). (in Russian)

2. Balpanova D.T., Baizoldanov T., Kozhamzharova A.S. Wastewater treatment of pharmaceutical industry enterprises // Bulletin of the Kazakh National Medical University. 2013. N 5. P. 24-27. (in Russian)

3. Filatova E.G. Review of wastewater treatment technologies from heavy metal ions based on physico-chemical processes // Izvestiya vuzov. Applied chemistry and biotechnology. 2015. N 2. P. 97-109. (in Russian)

4. Efficiency of using mixed reagents based on aluminum and iron salts for water purification / A.V. Mamchenko [et al.] // Chemistry and technology of water. 2006. Vol. 28(6). P. 582-592. (in Russian)

5. Treatment facilities of chemical enterprises // Argel Professional solutions for water purification [Internet] URL: https://www.vo-da.ru/articles/ochistnye-himicheskih-predpriyatiy/osobennosti-proizvodstva (Accessed 01.02.2022) (in Russian)

6. Iskhakova I.O., Tkacheva V.E. Innovative methods of wastewater treatment of modern electroplating production // Bulletin of the Technological University. 2016. Vol. 19(10). P. 143-146. (in Russian)

УДК 615.262

ОЧИЩАЮЩАЯ МАСКА ДЛЯ ЛИЦА НА ОСНОВЕ КАОЛИНА И АКТИВИРОВАННОГО УГЛЯ

Калабаева Б.Б., бак. 4 года обучения
Руководитель: **Кизатова М.Ж.,** д.т.н., проф.
Национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова
Республика Казахстан, г.Алматы
E-mail: k.bibosha01@mail.ru

Лицо – это визитная карточка каждого человека. Кожа человека находится в постоянном контакте с окружающей средой, которая может изменять ее нормальную флору, pH и защитные свойства, что приводит к нежелательным последствиям.

Очищение кожи имеет важное значение для поддержания здоровья кожи и способствует ее эстетическому виду. Загрязнения, обнаруженные на нашей коже, состоят из пота, кожного сала и продуктов его распада, отмерших клеток кожи, остатков макияжа и средств личной гигиены, нанесенных на кожу, пыли и других загрязнений окружающей среды, содержащихся в воздухе. Большинство из данных соединений не растворяются в воде. По этой причине очищение кожи простой водой недостаточно для удаления загрязнений.

Ключевые слова: *каолин, активированный уголь, фармакологические свойства, маска косметическая, очищение, взаимодействие компонентов.*

Очищение лица является самым важным подготовительным этапом для последующего ухода. Важно очищать кожу лица, шеи и область декольте. Очищающее средство проникает в выводные протоки сальных и потовых желез, растворяет их содержимое и остатки макияжа, а также облегчает их удаление с поверхности кожи. То есть на этом этапе мы убираем пыль, грязь, излишки кожного сала и подготавливаем кожу к увлажнению.

Необходимо один-два раза в неделю (в зависимости от состояния кожи) очень хорошо делать очищающую маску по типу кожи на основе глины, энзимов, АНА-кислот, активированного угля, которые более глубоко очищают, удаляют ороговевшие клетки, способствуют обновлению клеток, снимают воспаление и обладают легким осветляющим эффектом.

Один из таких известных масок – это отчищающие маски из каолина и активированного угля. Глина и активированный уголь – мощные абсорбенты с противовоспалительным, очищающим и тонизирующим действием. Кроме того, маски восстанавливают гидробаланс, укрепляют и питают эпидермис. Поры на коже забиваются ороговевшими клетками, загрязнениями и пылью. Именно из-за этого и образуются воспаления – причина комплексов многих людей. Избавиться от данной проблемы вам поможет ухаживающая косметика с глиной и активированным углем. Это мощные абсорбенты с противовоспалительным, очищающим и тонизирующим действием.

Целью настоящей работы является разработка состава, технологии и оценка качества очищающей маски для лица из каолина и активированного угля.

Каолины (белая глина) – это горная порода, состоящая из минерала каолинита. Светлоокрашенные глинистые породы, в составе которых содержатся в основном 3 компонента: оксиды кремния, алюминия и гидратная вода. Окраска каолинов обычно белая, светло-серая или желтоватая.

Особый интерес представляют каолины, которые могут рассматриваться как нетрадиционный ресурс алюминиевой и химической промышленности, а также как компоненты для производства огнеупоров, строительных материалов – кирпича, керамических изделий, пористых наполнителей, искусственного щебня.

Общая химическая формула: $Al_2O_3 \cdot 2SiO_2 \cdot 2H_2O$.

Виды каолинов:

Белая. Белая глина богата кремнеземом, цинком, магнием. Она хорошо адсорбирует и выводит шлаки, оказывает антисептическое действие, очищает кожу и насыщает ее минералами, делает ее упругой, разглаживает морщины. Эта глина смягчает огрубевшую кожу на руках и ногах, улучшает кровообращение и обмен веществ в коже, помогает при угревой сыпи, способствует укреплению волос, предупреждает их ломкость и выпадение. Применяется в составе масок и шампуней, а также в чистом виде.

Голубая. Содержит все биологически активные вещества, в которых нуждается организм, оказывает противовоспалительное, тонизирующее и отбеливающее кожу действие. Является наиболее ценным продуктом. Подходит для кожи любого типа. Применяется как средство против облысения, а также как мощное антицеллюлитное средство, активизирует кровообращение, усиливает обмен веществ в тканях.

Зеленая. По сорбционной активности доминирует среди других видов глины. Хорошо подходит для жирной кожи, осуществляя ее глубокую очистку. Эффективное средство при целлюлите. Применяется для лечения волос при перхоти и шелушении кожи головы, сужает поры и нормализует работу сальных желез, смягчает и разглаживает кожу.

Желтая. Оказывает противовоспалительное и обезболивающее действие, насыщая кожу кислородом. Применяется в виде косметических масок при сильном утомлении и увядании кожи.

Красная. Оказывает болеутоляющее, седативное и сенсибилизирующее действие устраняет аллергические реакции, улучшает кровоснабжение кожи. Подходит для чувствительной кожи.

Серая. Обладает увлажняющими и тонизирующими свойствами. Применяется для омолаживающих масок при сухой и увядшей коже.

Использование каолина в косметологии и медицине

Главным врачебным свойством глины считается ее абсорбирующая способность, поэтому применение глины способствует очищению организма от токсинов, шлаков и тяжелых металлов. Кроме того, она убивает многие бактерии, поглощает в себя запахи и газы и при этом остается химически безвредной для организма.

В народной медицине глина используется еще более широко (заболевания рак самой разной локализации, лейкозы, доброкачественные опухоли, параличи, нервные расстройства, эпилепсия, болезни мозга женские болезни – мастит, мастопатия, выпадение матки, фибромиома, киста яичников, нерегулярные менструации, вагинит, воспалительные заболевания).

В последние годы каолин начали широко использовать в медицине, фармакологии, косметологии. Каолиновая глина содержит много кремния. Благодаря этому она благоприятно воздействует на формирование в человеческом организме именно костной ткани. Дополнительно можно улучшить и функциональность сердца. Глину можно использовать и под видом специальных тепловых компрессов. Она способна оказывать и обезболивающее воздействие не только на связки, но и сами суставы.

Проверенным средством является и маска, приготовленная на основе каолина. Она рекомендована для применения лечения проблемной кожи. С использованием такой маски возможно быстрое избавление от избыточного жира. Также она способна насытить кожу человека всеми требующимися микроэлементами.

Преимущества использования масок на основе каолина для кожи лица:

• Питает кожу;
• Помогает уменьшить прыщи, шрамы и следы от прыщей;
• Удаляет ороговевшие клетки кожи;
• Успокаивает и уменьшает воспаление;
• Восстанавливает работу сальных желез;
• Регулярное использование маски улучшает текстуру и тонус кожи;
• Защищает от вредного воздействия загрязнения окружающей среды и сурового климата;
• Предотвращают преждевременное старение кожи;
• Обладает антисептическим и регенерирующим поверхностным действием;
• Стимулирует защиту организма, оказывая особый эффект на эпидермис, подвергающийся воздействию загрязнения окружающей среды;
• Насыщает эпидермис минералами;
• Препятствует распространению микробов, вследствие своего свойства поглощать токсины и загрязнения.

Активированный уголь. Применение в косметологии и медицине;

Активированный уголь – пористое вещество, которое получают из различных углеродосодержащих материалов органического происхождения: древесного угля, каменноугольного кокса, нефтяного кокса, скорлупы кокосовых орехов и других материалов. Содержит огромное количество пор и поэтому имеет очень большую удельную поверхность на единицу массы, вследствие чего обладает высокой адсорбционной способностью. В зависимости от технологии изготовления, 1 грамм активированного угля может иметь поверхность от 500 до 2200 м². Впервые синтезирован Николаем Дмитриевичем Зелинским (1915 г.), использован им в противогазах как универсальное средство химической защиты, а позже – в качестве гетерогенного катализатора. Сегодня активированный уголь по праву занимает лидирующую позицию среди других фильтрующих веществ. С помощью угля можно эффективно очищать спирт или водку домашнего приготовления с дальнейшим безопасным ее применением для изготовления лечебных настоек.

Адсорбирующее действие активированного угля способствует:

• Выведению токсинов, газов и различных органических соединений (без влияния на кислоты и щелочи);
• Лечению нарушений работы ЖКТ, диареи, метеоризма, пищевых отравлений от испорченных продуктов, лекарственных препаратов, алкоголя и солей тяжелых металлов (двадцать-тридцать граммов порошка на стакан воды – при отравлении, одну-три таблетки три раза в сутки при метеоризме);
• Борьбе с аллергией и рядом тяжелых опасных заболеваний – гастритом, колитом, тифом, дизентерией, холерой;
• Снижению кислотности желудочного сока.

Активированный уголь назначают для лечения хронической почечной недостаточности, цирроза печени и бронхиальной астмы, при повреждениях костей, для препятствования инфекционным, гнойным и легочным осложнениям.

Основное действие косметических средств с активированным углем на кожу

• очищение пор;
• удаление черных точек;
• регулирование выработки себума;
• подсушивание воспалений;
• предупреждение появления раздражений;
• обеззараживание угревой сыпи и прыщей;
• оказывает антивозрастное действие;
• ускорение процессов обновления в клетках кожного покрова.

В последнее время активированный уголь стал популярным компонентом в составе косметических средств для ухода за кожей лица и тела. Обладая пористой текстурой, он быстро проникает в глубокие слои эпидермиса и обеспечивает

не только очищение, но и выраженный антибактериальный эффект. Косметические средства с активированным углем идеальны для жирной и проблемной кожи, начиная с 18 лет. Кожный покров, страдающий от угревой сыпи и акне приобретает здоровый вид, исчезают угри, их появление становится более редкими. Древесный уголь обладает функцией регулирования естественного уровня влажности кожи лица и тела. Он поглощает излишнюю влагу с ее поверхности, избыток, который приводит к потливости, избыточной жирности и сальному блеску.

Фармакологические свойства активированного угля.

Активированный уголь все чаще используется как эффективный метод удаления загрязнений и грязи из пор кожи. По этой причине многие используют маски, содержащие уголь, для борьбы с акне. Активированный уголь (или активированный уголь) – это черный порошок (часто спрессованный в виде таблеток), изготовленный из таких веществ, как торф, скорлупа кокосового ореха или опилки. Он называется «активированным», когда эти вещества обрабатываются путем воздействия высоких температур, в результате чего образуется множество мелких пор, увеличивающих площадь поверхности частиц угля. Это свойство позволяет значительно адсорбировать (прилипать) вещества к углю, поэтому активированный уголь используется во многих чрезвычайных ситуациях, когда в организм попадает токсичное вещество. Попавшие в организм яды связываются с углем, поэтому они не попадают в кровообращение, а выводятся кишечником. Это свойство может быть использовано и для удаления веществ с кожи с помощью масок для лица из активированного угля. Концепция биологического использования древесного угля не нова. Древние египтяне использовали древесный уголь в качестве консерванта, поскольку они обнаружили, что сгоревшая древесина (образующая углеродное покрытие) не гниет, будучи погруженной в почву.

Эти знания также способствовали использованию древесного угля как части процесса сохранения трупов. Затем было разработано медицинское применение для борьбы с неприятными запахами от гангренозных ран. Исследования, проведенные за последние десять лет, показали, что активированный уголь используется для удаления запахов с очень сильно поврежденной кожи, например, при язвах на ногах и волдырях.

Активированный уголь работает с помощью дисперсионных сил, которые являются разновидностью межмолекулярных сил. «Дисперсионные силы – это липкие силы, которые действуют между всеми веществами на микроскопическом уровне», – объясняет Вонг. Они образуются благодаря временным диполям, возникающим при движении электронов». Поскольку активированный уголь имеет большую площадь поверхности, у него много места для образования дисперсионных сил с другими веществами». Именно эта липкая характеристика делает активированный уголь эффективным средством для удаления веществ при контакте с ними, и именно поэтому он заслужил репутацию такого хорошего детоксикатора.

Маска для лица

Маска косметическая – средство для ухода за кожей, нанесение на лицо состава из определённых веществ ради достижения косметического либо лечебного эффекта. Маски способствуют улучшению состояния кожи, увлажняют и очищают её, ускоряют регенерацию скоротечный эффект при одноразовом использовании, так и постепенное оздоровление кожи при прохождении длительного курса. История косметических масок неразрывно связана с появлением и развитием косметики. С именем египетской царицы Клеопатры связаны медово-молочные и отбеливающие глиняные маски, в состав которых входили глина, мёд, сметана и сок лимона.

В разных частях мира существовали различные рецепты, при этом часто использование маски из разных компонентов сводилось к основным желаемым эффектам – выравниванию цвета кожи и отбеливанию. Для этого в Англии использовали настой чёрного чая, в Болгарии – овощной сок и кашицу из сладкого перца, в Испании – варёную фасоль. Постепенно рецепты усложнялись, обрастали дополнительными компонентами.

Маски бывают для нормальной, жирной, сухой и комбинированной кожи – в зависимости от типа кожи. По назначению маски для лица делятся на питательные, увлажняющие, очищающие, отбеливающие и омолаживающие, пластифицирующие. А по уровню воздействия эпидермальные (косметические маски механического действия и трансдермальные (косметические маски физиологического действия). И последнее по форме выпуска пастообразные, жидкие, гелеобразные, кремообразные, порошкообразные.

Классификация косметики, которой занимается Ассоциация Независимых Экспертов, центральный офис которой находится в Швейцарии. Косметические средства, согласно данной классификации, разделяются на несколько категорий:

- *Massmarket* (относительно недорогая косметика, производимая огромными партиями. В её основе лежат продукты нефтехимии и растительные ингредиенты весьма низкого качества, искусственные консерванты, как правило, производные формалина и фенола.Представители данного класса: Herbina, E.L.Erman, AVON, Oriflaime, Faberlic);
- *Midlemarket* (косметика среднего класса, что обуславливает уже более высокий уровень и качество данной косметики. Кремы и средства по уходу за кожей этой категории содержат природные биологически активные вещества, а консерванты растительного происхождения. Представители данного класса: REVLON, L'OREAL, Mary Kay, BOURJOIS, LANCOME;
- *Lux* (косметику этого класса можно смело назвать «косметикой высоких технологий». Производители имеют свои научно-исследовательские лаборатории, не скупятся и на оплату дизайнеров, маркетологов и т. п. В косметике класса Люкс биологически активные компоненты составляют порядка 70%–80%. Важно, что используется растительное сырье наивысшего качества, а консерванты – только натуральные: коллоидное серебро, прополис, масло чайного дерева и др. Представители данного класса – это дома Высокой моды: в первую очередь Elizabeth Arden, Nina Ricci, Helena Rubinstein, Yves Saint Laurent, что обуславливает ее качество и дизайн).

Основные принципы применения отчищающих масок:

• Маску наносят только на предварительно очищенную кожу. Остатки декоративной косметики или крема могут вступить в реакцию с активными компонентами маски, в лучшем случае уменьшив ее эффективность, в худшем – вызвав воспаление или аллергическую реакцию;

• Волосы перед нанесением маски желательно убрать под повязку или шапочку;

• Маски для кожи лица не наносят на область вокруг глаз и на губы за очень редким исключением;

• Наносят маску специальной кисточкой, шпателем или тампоном. Количество препарата определяется рекомендациями производителя;

• Во время нанесения и пока маска находится на лице желательно воздержаться от активной мимики и разговоров.

• В случае несоблюдения временного интервала в структуре кожи могут начаться сильные изменения, которые связанны с нарушением функций кожи.

Анализ литературных данных показал, что каолин и активированный уголь благодаря своим адсорбционным свойствам хорошо очищает кожу лица. Современные маски очищают, увлажняют, смягчают, питают и отбеливают кожу, способствуют ее стимуляции и тонизации, оказывают противовоспалительное и подсушивающее действие. Профессиональные маски имеют очень сложный состав, который включает много различных ингредиентов.

Косметологический эффект масок основывается на биологическом взаимодействии компонентов, входящих в состав препарата, с нервно-сосудистым аппаратом кожи. Поэтому маски могут оказывать не только местное, но и общее рефлекторное влияние на весь организм.

Подводя итоги, можно сказать, что импортозависимость косметических масок высокая и разработка состава и технологии средств для ухода за кожей лица стало актуальной задачей фармацевтической промышленности Республики Казахстан. Правильно подобранные маски при регулярном использовании способны стать прекрасным подспорьем в борьбе за молодость и здоровье кожи лица.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

61.47.35 Косметика

ЛИТЕРАТУРА

1. Габриелла Б., Кеннет С. Введение в косметические препараты и технологию. 2019. 122 с.

2. Криксунова И. Книга-подарок, достойный королевы красоты. СПб.: Прайм-Еврознак, 2003. 256 с.

3. Горбачев Б.Ф., Чуприна Н.С. Минеральное сырье. Каолин: справочник. М.: Геоинформмарк,1998. 40 с.

4. Насыбуллина Н.М. Глинотерапия // Медицинская сестра. 2013. N 5. С 55-56.

5. Зорина А., Зорин В., Черкасов В. Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи // Эстетическая медицина. 2012. Т. XI. N 1. С. 15–31.

SUMMARY

CLEANSING FACE MASK BASED ON KAOLIN AND ACTIVATED CHARCOAL

Kalabayeva B.B., 4st year bachelor
Scientific supervisor: Kizatova M.Zh., d.t.s, professor
National medical university S.D.Asfendiyarova
94, Tole bi street, Almaty city, The Republic of Kazakhstan
E-mail: k.bibosha01@mail.ru

The face is the calling card of every person. The human skin is in constant contact with the environment, which can change its normal flora, pH and protective properties, leading to undesirable consequences.

Skin cleansing is essential for maintaining healthy skin and contributes to its aesthetic appearance. The impurities found on our skin are made up of sweat, sebum and its breakdown products, dead skin cells, make-up and personal care products applied to the skin, dust, and other environmental pollution, contained in the air. Most of these compounds are insoluble in water. And for this reason, cleansing the skin with plain water is not enough to remove impurities.

Keywords: *kaolin, activated carbon, pharmacological properties, cosmetic mask, cleansing, interaction of components.*

REFERENCES

1. Gabriella B., Kenneth S. Introduction to cosmetics and technology. 2019. 122 p. (in Russian)

2. Kriksunova I. A gift book worthy of a beauty queen. Saint Petersburg: Prime Eurosign, 2003. 85 p. (in Russian)

3. Gorbachev B.F., Chuprina N.S. Mineral raw materials. Kaolin: a reference book. M.: Geoinformmark. 1998. 40 p. (in Russian)

4. Nasybullina N.M. Glinoterapiya // Nurse. 2013. T 5. P. 55-56. (in Russian)

5. Zorina A., Zorin V., Cherkasov V. Dermal fibroblasts: diversity of phenotypes and physiological functions, role in skin aging // Aesthetic medicine. 2012. Vol. XI(1). P. 15–31 (in Russian)

УДК 61:615.1

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ОРАЛЬНО ДИСПЕРГИРУЕМЫХ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВАНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СУБСТАНЦИИ ЭТИЛТИОБЕНЗИМИДАЗОЛА ФУМАРАТА

Касымов И.Д., магистрант 2 года обучения. ORCID: 0000-0001-6954-3810
Руководитель: **Басевич А.В.**, к.фарм.н., доцент. ORCID: 0000-0002-6864-6794
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: kasymov.ilya@pharminnotech.com

Проведено изучение технологических свойств субстанции этилтиобензимидазола фумарата по таким показателям качества как описание, растворимость, размер частиц, сыпучесть, насыпные характеристики и прессуемость. Обоснована технология получения препарата ЭТБИФ в форме орально диспергируемых таблеток и проведена оценка её целесообразности.

Ключевые слова: *этилтиобензимидазола фумарат, орально диспергируемые таблетки, прямое прессование.*

Препараты таких фармакотерапевтических групп, как актопротекторы и адаптогены, могут применяться в различных сферах человеческой деятельности, где необходимо длительное применение физической силы или выносливости, например, в профессиональном спорте, при спасательных операциях, при выполнении иного тяжелого физического труда и т.д. Их использование позволяет ускорить процессы восстановления между нагрузками, обеспечить стимуляцию процессов клеточного дыхания и высокую сократительную способность мышечных волокон. Пациенту становится легче адаптироваться к повышенным нагрузкам, минимизируются возможные эффекты перетренированности и повышенной усталости, возможно некоторое повышение собственных физических показателей.

Адаптогены – группа препаратов преимущественно растительного происхождения, способных повышать работоспособность органов и систем организма, сопротивляемость к различным негативным воздействиям окружающей среды, физическим и эмоциональным напряжениям, перепадам температур, атмосферному давлению [1]. В свою очередь актопротекторы составляют основу стимуляторов работоспособности неистощающего типа, обеспечивающих повышение физической работоспособности и ускоряющих процессы восстановления после нагрузок в обычных и осложненных условиях [1]. Новое соединение – этилтиобензимидазола фумарат, которое было синтезировано на кафедре органической химии СПХФУ – обладает актопротекторным и адаптогенным действием, что подтверждается фармакологическими исследованиями [2, 3]. Учитывая то, что на сегодняшний день на фармацевтическом рынке представлено крайне мало синтетических препаратов, достоверно повышающих физические показатели, разработку готовой лекарственной формы на основе этой субстанции можно считать актуальной.

Технологические свойства и физико-химические характеристики активной фармацевтической субстанции (АФС) оказывают прямое влияние на терапевтический эффект готового лекарственного средства, а также на способ его производства. Таким образом, целью данной работы стало обоснование выбора технологии получения орально диспергируемых таблеток на основании результатов анализа технологических свойств субстанции этилтиобензимидазола фумарата.

Материалы и методы. Объектом исследования является новое производное бензимидазола и дикаробоновых кислот – 2-(этилсульфанил)-1Н-бензимидазол-3-ия (2Е)-3-карбоксипроп-2-еноат (ЭТБИФ). Соединение синтезировано на кафедре органической химии СПХФУ, является актопротектором и синтетическим адаптогеном – стимулятором работоспособности неистощающего типа, обеспечивающих повышение физической работоспособности и ускоряющих процессы восстановления после истощающих нагрузок в обычных и осложненных условиях [2].

Определение технологических свойств анализируемой субстанции проводили согласно соответствующим методикам Государственной Фармакопеи 14 издания [4]. Анализ проводился по таким показателям, как описание, степень сыпучести порошков (по углу откоса), растворимость. Также были изучены размер частиц методом микроскопии, насыпные характеристики и прессуемость.

Результаты и обсуждение

Результаты определения технологических свойств:

Описание. Субстанция представляет собой белый с коричневым оттенком кристаллический порошок. Отдельные частицы едва различимы невооруженным глазом. На основании фармакологической оценки субстанции дозировка для разового приёма составляет 50 мг.

Размер частиц определяли методом микроскопии. Частицы имеют пластинчато-игольчатую форму, а их размер находится в пределах 100-200 мкм, что, как правило, негативно сказывается на прессуемости. Внешний вид частиц под микроскопом представлен на рисунке 1.

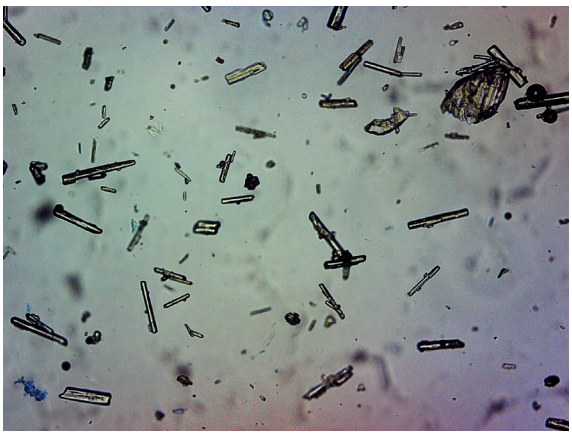


Рисунок 1. Внешний вид частиц под микроскопом (увел. х 100)

Степень сыпучести. Оценку сыпучести проводили по углу естественного откоса горки материала. В свободном состоянии угол откоса горки находился в пределах 60-70 градусов, из чего можно сделать вывод о крайне плохой сыпучести. Внешний вид полученной горки представлен на рисунке 2.

Рисунок 2. Внешний вид горки субстанции с естественным углом откоса

Определение насыпных характеристик. Определение насыпного объёма проводили с помощью цилиндра на 100 мл. Определяли объём точной навески в свободном и уплотненном состояниях, и по формуле $\varrho = m/V$ (где ϱ – насыпная плотность до или после уплотнения, г/мл; m – масса навески, г; V – объем порошка в цилиндре до или после уплотнения, мл) вычисляли насыпные плотности. Насыпная плотность в свободном состоянии составила ϱ_0=0,463±0,018 г/мл, в уплотнённом $\varrho_к$=0,707±0,022 г/мл. По полученным данным определили индексы Хауснера и Карра – они составили 1,52 и 34,51 соответственно, что соответствует очень плохой текучести порошка и его очень плохой прессуемости.

Растворимость. Определяли растворимость субстанции в воде. По результатам испытания субстанция мало или очень мало растворима в воде.

Прессуемость. Оценку прессуемости проводили следующим образом: из субстанции изготавливали таблетки массой 200 мг при давлениях в 20, 50 и 100 бар, после чего измеряли прочность полученных таблеток на раздавливание. Оказалось, что прочность модельных таблеток не зависит от давления прессования и составляет всего 14,9±3,2 Н, из чего следует вывод о очень плохой прессуемости субстанции.

Все результаты определения технологических свойств субстанции собраны в виде таблицы 1.

Таблица 1 – Технологические характеристики этилтиобензимидазола фумарата

Показатель качества	Методика	Результат
Описание	Визуально Микроскопия	Белый с коричневым оттенком кристаллический порошок. Частицы пластинчато-игольчатые, едва различимы невооружённым глазом
Сыпучесть	ОФС «Степень сыпучести порошков», по углу откоса	Сыпучесть крайне плохая Угол наклона естественного откоса горки составил 60-70°
Размер частиц	Микроскопия	Размер находится в пределах 100-200 мкм
Растворимость	ОФС «Растворимость»	В воде – мало или очень мало растворимо

Показатель качества	Методика	Результат
Насыпная плотность	ОФС «Степень сыпучести порошков»	В свободном состоянии ϱ_0 = 0,463±0,018 г/мл
		В уплотненном состоянии $\varrho_к$ = 0,707±0,022 г/мл
		Индекс Хауснера H = 1,52 Индекс Карра C = 34,51
Прессуемость	Оценка прочности на раздавливание у модельных таблеток, полученных при разном давлении прессования	Очень плохая прессуемость Модельные таблетки хрупкие, а их прочность не зависит от давления прессования

Из полученных результатов можно сделать вывод о неудовлетворительных характеристиках исследуемой фармацевтической субстанции. Порошок обладает плохой сыпучестью, электризуется и прилипает к поверхностям, мало растворим в воде и очень плохо прессуется.

Обоснование выбора лекарственной формы и технологии её получения.

Согласно фармакологической оценке, значительный терапевтический эффект достигается именно при курсовом применении этилтиобензимидазола фумарата [2, 3]. По этой причине выбор лекарственной формы в виде орально диспергируемых таблеток (ОДТ) обусловлен в первую очередь её повышенной комплаентностью – ОДТ форма очень удобна для приёма и транспортирования.

Основными технологиями получения орально диспергируемых таблеток являются лиофилизация, прямое прессование и использование предварительного гранулирования таблеточной смеси. Применение лиофилизации позволяет получить качественные быстрораспадающиеся во рту таблетки, однако ввиду высоких экономических затрат лиофильная сушка может быть оправдана только при малой стабильности препарата при хранении или других ограничениях, накладываемых физико-химическими свойствами АФС. В свою очередь использование прямого прессования является наименее затратной технологией, для её реализации требуется меньшее количество технологических операций и единиц оборудования, в чём и заключается её преимущество перед другими подходами. По этой причине возможность использования прямого прессования должна быть рассмотрена в первую очередь.

Было установлено, что субстанция этилтиобензимидазола обладает неудовлетворительными технологическими характеристиками, но поскольку дозировка АФС составляет 50 мг, а желаемая масса таблетки находится в пределах от 100 до 300 мг, то основные технологические свойства массы для таблетирования – сыпучесть и прессуемость, а также свойства готовой таблетки – распадаемость и прочность – можно задать выбором вспомогательных веществ. Рынок вспомогательных веществ позволяет решить эти задачи, а также выполнить одно из основных требований ОДТ формы – обеспечить хорошие вкусовые качества готовой лекарственной формы [5]. Кроме того, в пользу выбора прямого прессования можно отнести то, что при таком соотношении АФС и вспомогательных веществ нет острой необходимости в применении грануляции, так как обеспечить однородность распределения субстанции в массе для таблетирования возможно простым перемешиванием.

Заключение. Субстанция этилтиобензимидазола фумарата имеет неудовлетворительные технологические характеристики, однако с учётом выбранной дозировки и отсутствия лимитирующих физико-химических свойств для производства лекарственного препарата в виде орально диспергируемых таблеток на её основе может быть выбрана технология прямого прессования.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.39 Готовые лекарственные формы

ЛИТЕРАТУРА

1. Оковитый С.В. Актопротекторы как синтетические адаптогены нового поколения // Психофармакология и биологическая наркология. 2003. Т.3. N 1/2. P. 510-516.

2. Дулепов А.Д., Радько С.В. Острая токсичность и влияние на физическую работоспособность нового производного этилтиобензимидазола при однократном и курсовом введении // Фундаментальная наука в современной медицине – 2018: материалы дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых ученых. 2018. С. 109-113.

3. Болотина Ю.Д. Экспериментальная оценка влияния этилтиобензимидазола фумарата на физическую работоспособность при курсовом применении в тесте челночного плавания // Инновации в здоровье нации: Сборник материалов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Санкт-Петербург. 07–08 ноября 2019. С. 112-115.

4. Государственная фармакопея РФ. XIV изд. Том 2. 2018. [Электронное издание]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/1/

5. Касымов И.Д., Басевич А.В. Изучение технологических свойств вспомогательных веществ при разработке состава орально диспергируемых таблеток // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10 N 4. С. 46-53. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-46-53

SUMMARY

JUSTIFICATION OF THE CHOICE OF TECHNOLOGY FOR THE PRODUCTION OF ORALLY DISPERSED TABLETS BASED ON THE RESULTS OF JUSTIFICATION OF THE CHOICE OF TECHNOLOGY FOR THE PRODUCTION OF ORALLY DISPERSED TABLETS BASED ON THE RESULTS OF THE ANALYSIS OF THE TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF THE SUBSTANCE ETHYLTHIOBENZIMIDAZOLE FUMARATE

Kasymov I.D., 2nd year masters of science (ORCID: 0000-0001-6954-3810)
Scientific supervisor: **Basevich A.V.**, Cand. of Pharm. Sc., senior lecturer (ORCID: 0000-0002-6864-6794)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: kasymov.ilya@pharminnotech.com

The technological properties of the substance ethylthiobenzimidazole fumarate were studied according to such quality indicators as description, solubility, particle size, flowability, bulk characteristics and compressibility. The technology of obtaining the ETBIF preparation in the form of orally dispersed tablets is substantiated and evaluated.

Keywords: *ethylthiobenzimidazole fumarate, orally dispersed tablets, direct pressing.*

REFERENCES

1. Okovity S.V. Aktoprotectors as synthetic adaptogens of a new generation // Psychopharmacology and biological narkologiya. 2003 Vol. 3(1/2). P. 510-516. (in Russian)
2. Dulepov A.D., Radko S.V. Acute toxicity and effect on physical performance of a new ethylthiobenzimidazole derivative with a single and course administration // Fundamental Science in Modern Medicine - 2018: materials of the satellite remote scientific and practical conference of students and young scientists. 2018. P. 109-113. (in Russian)
3. Bolotina Yu.D. Experimental evaluation of the effect of ethylthiobenzimidazole fumarate on physical performance during course use in the shuttle navigation test // Innovations in the health of the nation: A collection of materials of the VII All-Russian Scientific and Practical Conference with International participation, St. Petersburg. November 07-08. 2019. P. 112-115. (in Russian)
4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV ed. Volume 2. [Electronic edition]. Access mode: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/1/
5. Kasymov I.D., Basevich A.V. Study of technological properties of excipients in the development of the composition of orally dispersed tablets // Drug development & registration. 2021. Vol. 10(4). P. 46-53. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-46-53 (in Russian)

УДК 616.001.4-08

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЙ

Кобелева А.В., студ. 4 курса
Научный руководитель: **Автина Н.В.**, к. фарм. наук, доцент
Белгородский государственный национальный исследовательский университет
Белгород, ул. Победы, д. 85, Российская Федерация
E-mail: kobeleva.anastacia@yandex.ru

Целью работы являлось экспериментально-теоретическое обоснование принципов получения новых гидрогелевых раневых повязок для лечения ран различной этиологии, в характеристике особенностей физико-химических и медико-биологических свойств разработанных медицинских изделий, а также разработке технологической схемы получения раневых повязок на основе хитозана.

В результате проведенных экспериментальных исследований разработана технология получения гидрогелевых пленочных покрытий на основе хитозана. Показано, что лимонная кислота способствует формированию гидрогелей на основе хитозана. Включение в состав гидрогеля поливинилового спирта способствует улучшению структурно-механических свойств полученных гидрогелевых пленочных покрытий.

Ключевые слова: *раневые покрытия, лечение ран, хитозан, гидрогелевые пленки, получение покрытий на основе хитозана, поливиниловый спирт.*

Проблема восстановления обширных раневых дефектов остается одной из самых актуальных в современной медицине.

Раневые покрытия – это относительно новый класс препаратов. Их использование в настоящее время основано на принципе «влажного заживления ран». Показано, что влажная абактериальная среда оптимальна для поддержания нормального митотического процесса в ране: миграция эпидермальных клеток и эпителизация ран происходит более активно во влажной среде, а не в условиях воздействия воздуха на раны и высушивания их поверхности. Кроме того,

во влажной среде предотвращается высыхание нервных окончаний и, таким образом, заметно уменьшается болевой синдром. Поскольку покрытия не прилипают к раневой поверхности, их смена при перевязках безболезненна и не повреждает грануляционную ткань и растущий эпителий [1, 2].

Во многих случаях лечение различных повреждений кожи продолжает оставаться сложной проблемой из-за распространения устойчивости различных видов микроорганизмов к доступным противомикробным средствам. Растущая потребность в новых эффективных покрытиях, неэффективность ватно-марлевой повязки для лечения экссудирующих ран и высокая стоимость повязок зарубежных производителей, существенно ограничивающая их использование в отечественном здравоохранении, ставит новую задачу – создание раневого покрытия, позволяющего эффективно эвакуировать выделения из раны и обеспечивать терапевтический эффект.

Еще одна важная задача современной медицины – создание новых эффективных лекарственных форм, способных обеспечить пролонгированное и контролируемое высвобождение лекарственных препаратов и их адресную доставку к месту патологического процесса. Перспективность создания полимерных носителей с пролонгированным действием лекарственных веществ связана с тем, что большинство используемых в практической медицине лекарственных препаратов обладают кратковременным фармакологическим действием, с проявлением побочных эффектов на организм. В связи с этим создание лекарственных форм на основе водорастворимых и сшитых полимеров рассматривается как наиболее перспективное решение данной проблемы и имеет несомненную важность и актуальность темы исследования [3].

Цель работы заключается в научном обосновании принципов получения новых гидрогелевых раневых повязок для лечения ран различной этиологии, в характеристике особенностей физико-химических и медико-биологических свойств разработанных медицинских изделий, а также разработке технологической схемы получения раневых повязок на основе хитозана.

В соответствии с целью исследования в работе были поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать ассортимент раневых покрытий для лечения ожоговых поверхностей;
2. Изучить раневые покрытия как лекарственную форму: характеристика, вспомогательные вещества, особенности технологии;
3. Изучить характеристики вспомогательных веществ, используемых для получения раневых покрытий;
4. Разработать состав и технологию изготовления раневых покрытий.

В качестве объектов исследования использовались: фурацилин, хитозан, поливиниловый спирт (ПВС), глицерин, кислота лимонная, вода очищенная.

Методы исследования: технологические, физико-химические.

В ходе проведения экспериментальных исследований изучены четыре модельных образца пленок, предназначенных в качестве биополимерных раневых покрытий. В качестве фармакологически активной субстанции в состав модельных образцов введен фурацилин в концентрации 0,02%, т.к. именно указанная концентрация используется для приготовления антисептического, противомикробного раствора для местного и наружного применения.

Состав пленки – образец №1:

Фурацилин	0,004
Хитозан	1,0
ПВС	0,4
Глицерин	0,1
Вода очищенная	до 20,0

Технология приготовления:

Навеску поливинилового спирта заливают необходимым объемом воды очищенной и оставляют на время для набухания. Затем ставят на водяную баню и настаивают до растворения поливинилового спирта. Далее в поливиниловом спирте при нагревании растворяют фурацилин. В ступке измельчают хитозан с глицерином и добавляют к нему раствор поливинилового спирта с фурацилином. Разливают раствор на стеклянную подложку и оставляют до полного высыхания при комнатной температуре.

Так как хитозан введен в раствор в нерастворенном виде, после высыхания раствора, получилась сухая пленка, на поверхности которой наблюдается выкристаллизация порошка хитозана. При попытке извлечь пленку с подложки наблюдалась деформация. покрытия. В результате проведенного исследования были сделан вывод о необходимости введения хитозана в растворенном состоянии. Изученный модельный образец исключен из дальнейшего эксперимента.

Состав пленки – образец №2:

Фурацилин	0,004
Хитозан	1,0
Кислота лимонная	0,8
Глицерин	0,1
Вода очищенная	до 20,0

Технология приготовления:

В воде очищенной растворяют кислоту лимонную. В полученном растворе осуществляют растворение хитозана.

Далее вводят глицерин при перемешивании и растворяют фурацилин. Полученный раствор выливают на стеклянную подложку и оставляют для высыхания при комнатной температуре.

Данный способ получения пленочного покрытия на основе хитозана, обладающего бактерицидным действием, включает в себя растворение хитозана в органической кислоте с получением формовочного раствора, нанесение полученного формовочного раствора на подложку с последующим выдерживанием раствора на подложке до достижения пленочной структуры. При проведении данного опыта выявлено, что хитозан хорошо растворим в 4%-ной лимонной кислоте, при соотношении компонентов хитозан: органическая кислота 1:2-1:4. Дополнительно в формовочный раствор вводят глицерин и фурацилин. Наносят полученный формовочный раствор на подложку и выдерживают до достижения пленочной структуры. Образец №2 получился очень плотным, твердым, не эластичным. Можно сделать вывод, что количество хитозана необходимо сократить для получения пленок оптимального качества.

Состав пленки – образец №3:

Фурацилин	0,004
Хитозан	0,2
Кислота лимонная	0,8
Глицерин	0,1
Вода очищенная	до 20,0

Технология приготовления:

В воде очищенной растворяют лимонную кислоту. В полученном растворе лимонной кислоты растворяют хитозан. Добавляют глицерин при перемешивании, с целью придания будущей пленке эластичности, осуществляют растворение фурацилина. Полученный формовочный раствор переносят на подложку и оставляют при комнатной температуре до испарения растворителя.

Приготовленное пленочное покрытие, по указанной выше схеме, представляет собой прозрачную пленку желтого цвета, достаточно эластичную, но недостаточно прочную на разрыв. В связи с чем, в состав модельного образца решено ввести поливиниловый спирт (ПВС) в качестве средства, способствующего улучшению структурно-механических свойств покрытия.

Состав пленки – образец №4:

Фурацилин	0,004
Хитозан	0,2
ПВС	0,2
Глицерин	0,1
Кислота лимонная	0,8
Вода очищенная	до 20,0

Технология приготовления:

В воде очищенной растворяют кислоту лимонную и осуществляют растворение хитозана. В полученном растворе при нагревании последовательно растворяют поливиниловый спирт, фурацилин, при перемешивании добавляют глицерин. Полученный формовочный раствор переносят на подложку и оставляют при комнатной температуре до испарения растворителя.

Указанный способ отличается тем, что дополнительно в формовочный раствор вводят поливиниловый спирт в количестве 0,2 г. Известно, что для улучшения физико-механических свойств пленок на основе хитозана можно добиться введением второго полимера. Например, наибольшие величины прочности и относительного удлинения при разрыве наблюдали для пленок из смеси хитозана и ПВС. Данным способом получили покрытие толщиной 200 мкм. Покрытие представляет собой эластичную прозрачную пленку желтоватого цвета, достаточно прочную на разрыв.

Заключение

Таким образом, на основании проведенных исследований, разработан оптимальный состав пленочного раневого покрытия (образец №4), включающий следующие ингредиенты: фурацилин (антибактериальное средство), хитозан, поливиниловый спирт кислоту лимонную, глицерин, воду очищенную.

Технология приготовления раневого покрытия в виде гидрогелевой пленки заключается в приготовлении полимерного раствора и формирования пленки. Полученное гидрогелевое покрытие представляет собой эластичную прозрачную пленку желтоватого цвета, достаточно прочную на разрыв, с толщиной 200 мкм. 1 см^2 полученной пленки растворяется в 10 мл воды комнатной температуры при непрерывном перемешивании в течении 2 мин 30 с.

В результате проведенных экспериментальных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Разработан состав раневого покрытия в виде гидрогелевой пленки с фурацилином, обладающей антибактериальным действием.

2. Разработана технология получения гидрогелевых пленочных покрытий на основе хитозана и поливинилового спирта.

3. Показано, что из хитозана, растворенного в лимонной кислоте, могут формироваться гидрогели на основе хитозана, сшитые поливиниловым спиртом.

4. Включение поливинилового спирта способствует улучшению структурно-механических свойств полученных гидрогелевых пленочных покрытий.

Полученные пленочные раневые покрытия на основе хитозана могут быть эффективно использованы в медицине в качестве перевязочного материала для лечения ожоговых поверхностей кожи. Разработанный на основании проведенных исследований состав пленочного покрытия на основе хитозана может быть использован в исследовательской практике как теоретический материал при разработке других биополимерных лекарственных форм.

Сочетание используемых компонентов в экспериментально подобранных оптимальных соотношениях позволяет получить пленочное раневое покрытие с антибактериальными и регенерирующими свойствами, пролонгированным действием лекарственных веществ, при этом раневое покрытие является эластичным и достаточно прочным.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Использование современных раневых покрытий в местном лечении ран различной этиологии / А.М. Морозов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2020. N 2. DOI 10.17513/spno.29705

2. Андреев Д.Ю., Парамонов Б.А., Мухтарова А.М. Современные раневые покрытия. Часть I // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. 2009. Т. 168. N 3. С. 98-102.

3. Абилова Г.К. Разработка технологии получения гидрогелевых лекарственных форм и повязок: дис. … канд. хим. Наук. Казахстан, 2019. 6 с.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION AND TECHNOLOGY OF WOUND COATINGS

Kobeleva A.V., 4th year student
Scientific supervisor: **Avtina N.V.**, Ph.D. Sciences, Associate Professor
Belgorod State National Research University;
Belgorod, 85 Pobedy St., Russian Federation
E-mail: kobeleva.anastacia@yandex.ru

The aim of the work was to experimentally and theoretically substantiate the principles of obtaining new hydrogel wound dressings for the treatment of wounds of various etiologies, in characterizing the features of the physicochemical and biomedical properties of the developed medical devices, as well as developing a technological scheme for obtaining wound dressings based on chitosan.

As a result of the experimental studies, a technology has been developed for obtaining hydrogel film coatings based on chitosan. It has been shown that citric acid promotes the formation of hydrogels based on chitosan. The inclusion of polyvinyl alcohol in the composition of the hydrogel improves the structural and mechanical properties of the resulting hydrogel film coatings.

Keywords: *wound dressings, wound treatment, chitosan, hydrogel films, chitosan-based coatings, polyvinyl alcohol.*

REFERENCES

1. Use of modern wound covers in local treatment of wounds of different etiologies / A.M. Morozov [et al.] // Modern problems of science and education. 2020. N 2. DOI 10.17513/spno.29705 (in Russian)

2. Andreev D.Yu., Paramonov B.A., Mukhtarova A.M. Modern wound coatings. Part I // Journal of Surgery named after I. I. Grekov. 2009. Vol. 168(3). P. 98-102. (in Russian)

3. Abilova G.K. Development of technology for obtaining hydrogel dosage forms and dressings: dis. … cand. chem. Sciences. Kazakhstan, 2019 6 p. (in Russian)

УДК 615.453.8

РАЗРАБОТКА СОСТАВА МУКОАДГЕЗИВНЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПЛЕНОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДРОБНОГО ФАКТОРНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Кондакова Ю.А., маг. 2 года обучения (ORCID: 0000-0001-5564-9147)
Руководители**: Терентьева О.А.,** к.фарм.н., старший преподаватель (ORCID: 0000-0001-6391-2689)
Шиков А.Н., д.фарм.н., профессор (ORCID: 0000-0003-4351-0695)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: kondakova.yuliya@pharminnotech.com

Разработан состав мукоадгезивных антибактериальных пленок с использованием дробного факторного эксперимента. На основе полученных результатов был выбран оптимальный состав для трехмерной печати лекарственных пленок с метронидазолом.

Ключевые слова: *лекарственные пленки, трехмерная печать, персонализированная медицина, полужидкостная печать, планирование эксперимента, дробный факторный эксперимент.*

При разработке лекарственных препаратов важно учитывать возможность возникновения побочных эффектов, которые во многих случаях зависят от принимаемой дозы действующих веществ. Снизить риск возникновения данных явлений позволяет переход к персонализированной медицине, то есть производство лекарственных препаратов с индивидуальной для пациента дозировкой действующих веществ.

В рамках традиционных способов производства создать лекарственные пленки с гибкими дозировками затруднительно, поэтому существует необходимость в разработке технологий, позволяющих изготавливать персонализированные препараты. Одной из наиболее перспективных технологий является трехмерная печать.

Для трехмерной печати пленок может использоваться технология полужидкостной печати, заключающаяся в экструзии высоковязких гелей с целью формирования объектов определенной геометрической формы. При этом меняя состав гелей можно варьировать не только содержание действующих веществ, но и кинетику их высвобождения, а также скорость растворения плёнок.

В связи с этим целью данной работы была разработка состава мукоадгезивных антибактериальных пленок с метронидазолом.

Поскольку любое исследование, как правило, включает ряд факторов, которые приводят к большому количеству возможных сочетаний, необходимо использовать систематических инструментов планирования. Планирование экспериментов помогает установить взаимосвязь между входными и выходными переменными [1].

Подход к выбору плана зависит от характера эксперимента, количества факторов и гибкости проведения количества экспериментов. Выбор плана также зависит от выбора эмпирической модели для описания статистической причинно-следственных связей.

Факторные модели планирования в основном делятся на два типа, такие как полный и дробный факторный дизайн. Полный факторный дизайн позволяет получить большое количество экспериментальных проб, в то время как дробный факторный дизайн позволяет сократить количество экспериментов. Поскольку число экспериментальных проб может быть очень велико, полнофакторные модели зачастую оказываются экономически невыгодными и трудозатратными. Следовательно, дробная факторная модель является эффективной альтернативой, обеспечивая значительно меньшее число экспериментальных проб.

В данной работе было установлено три фактора – полимер (фактор А), пластификатор (фактор В) и вспомогательные вещества (фактор С). В качестве полимера была выбрана гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ) фирмы Benecel различных марок, отличающихся молекулярной массой. В качестве пластифицирующих веществ были выбраны: полипропиленгликоль (ППГ), глицерин, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и поливиниловый спирт (ПВС). Также важным фактором является наличие иных вспомогательных веществ, наличие которых меняет свойства готовой лекарственной формы. Поливинилпироллидон (ПВП) был выбран в качестве связующего компонента, маннитол – гидрофильного пластификатора, полоксамер и лаурилсальфат натрия – в качестве покерхностно-активных веществ, улучшающих растворимость метронидазола в воде.

Каждый фактор имел четыре уровня, обозначения которых представлены в таблице 1. В таблице 2 приведена сводная матрица планирования, в которой указаны количества выбранных веществ.

Таблица 1 – Обозначение факторов

№	Полимер (А)	Пластификатор (В)	Вспомогательные вещества (С)
1	ГПМЦ Е10 М (7% м/м)	ППГ	ПВП
2	ГПМЦ Е4 М (8% м/м)	Глицерин	Poloxamer 188
3	ГПМЦ К100 LV (13% м/м)	ПЭГ 400	Маннитол
4	ГПМЦ Е15 (27 % м/м)	ПВС	Лаурилсульфат натрия

Таблица 2 – Сводная матрица планирования, указан состав на 100 г готовой суспензии

№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A1	5,04				5,04				5,04				5,04			
A2		5,76				5,76				5,76				5,76		
A3			9,36				9,36				9,36				9,36	
A4				19,4				19,4				19,4				19,4
B1	10	10	10	10	-											
B2					10	10	10	10								
B3									10	10	10	10				
B4													10	10	10	10
C1	3						3			3						3
C2		3						3	3						3	
C3			3			3						3	3			
C4				3	3						3			3		

Материалы и методы

Материалы и оборудование

В качестве пленкообразующего полимера была выбрана ГПМЦ фирмы Benecel марок E15 PH-CR (молекулярная масса 60 300 г/моль), E10M PH-CR (746 000 г/моль), E4M PH-CR (400 000 г/моль), K100LV PH PRM (164 000 г/моль). В качестве растворителя использовали воду очищенную. Для придания пленкам эластичности использовали пластификаторы – пропиленгликоль Экос-1, глицерин ЗАО «АИСТ», ПЭГ 400 Петростандарт и ПВС VIVAPHARM PVA, JRS Pharma. Также были использованы такие вспомогательные вещества, как ПВП марки Kollidon 90F фирмы BASF, Poloxamer 188 Merck KGaA, маннитол Pearlitol 100 SD, Roquette и лаурилсульфат натрия Merck KGaA. В качестве модельного действующего вещества был выбран метронидазол «Хубэй Хунюань Фармасьютикал Текнолоджи Ко, Лтд», Китай.

Печать пленок производилась на универсальной четырёхосевой машине с числовым программным управлением (ЧПУ) с установленным шприцевым дозирующим узлом, разработанной в лаборатории аддитивных технологий ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета» Минздрава России (СПХФУ). Корпусы шприцев, поршни, заглушки и крышки для корпусов были предоставлены фирмой Nordson EFD, дозирующая насадка Optimum с внутренним диаметром 0,61 мм. Деаэрация производилась на центрифуге ЦЛн-16 на базе GMP-тренинг центра СПХФУ.

Использованное программное обеспечение

Компас-3D, версия 18.1 учебная, Аскон, Российская Федерация.

Cura версия 4.3, Ultimaker, Нидерланды.

Repetier-Host, версия 2.1.6, Hot-World GmbH & Co.KG, Германия.

Приготовление гелей для печати

Точную навеску ГПМЦ отвешивали на аналитических весах и заливали необходимым объёмом растворителя в соответствие с планом эксперимента, интенсивно перемешивали в течение 20-30 минут и оставляли на 1-2 часа для набухания. После этого к гелю добавляли пластификатор, вспомогательные вещества, метронидазол и тщательно перемешивали до получения белой пасты.

Подготовка гелей к печати пленок

Приготовленными гелями наполняли шприцы и закрывали заглушками. Шприцы центрифугировали при скорости 6000 об/мин в течение 10 минут.

Полужидкостная печать пленок

Заполненные шприцы устанавливали в дозирующее устройство, фиксируя тело шприца и шток. Трехмерную модель плёнки с размерами 10x10x1 мм разрабатывали в программе Компас 3D компании Аскон.

Далее файл формата «stl» открывали в программном обеспечении слайсере Cura, которое делит модель на несколько слоев (слайс) в зависимости от заданных параметров печати – толщины слоя, скорости движения печатающей головки, диаметра сопла принтера, скорости и полноты заполнения и др. После подготовки и проверки всех задаваемых параметров модель сохраняли в виде G-кода. Для печати плёнок было выбрано заполнение линиями толщиной 0,6 мм, плотность заполнения 100%, высота линии 0,5 мм, то есть пленки печатались в два слоя, скорость печати 7 мм/с.

Пленки печатали на подложке Pentapharm alfoil ES03 толщиной 0,366 мм.

Для передачи задания и контроля за процессом была использована программа Repetier-Host, версия 2.1.6, Hot-World GmbH & Co.KG, Германия.

Сушка пленок

Напечатанные пленки сушились на подложке при температуре (20 ± 2) °С в течение 8 часов.

Однородность массы

Испытание однородности массы проводили согласно ОФС.1.4.2.0009.15 «Однородность массы дозированных лекарственных фор» для 10 напечатанных пленок каждого состава.

Потеря в массе при высушивании

Определение потери в массе при высушивании проводили согласно ОФС. 1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании» для 3 пленок каждого состава.

Определение геометрических размеров

Определение геометрических размеров пленок после сушки проводилось с помощью штангенциркуля с цифровой индикацией, определение толщины проводилось с помощью микрометра.

Результаты и обсуждение

Гели составов № 13 и № 14 расслаивались в процессе центрифугирования, при уменьшении времени центрифугирования до 5 минут и снижении скорости вращения до 2000 об/мин также наблюдалось расслаивание, в связи с чем данные составы были обозначены как непригодные для печати. Остальные гели были пригодны к печати.

Пленки после удаления растворителя оценивали внешне. Пленки составов № 1-3, № 6, № 7, № 9-12 были изогнуты, составов № 4, № 5, № 8, № 15 и № 16 – ровные. При этом пленки состава 5 имели неровные края, составов 8 и 15 были жесткие и хрупкие. После снятия размеров плёнок для каждого состава определяли среднюю массу и отклонение от неё, результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Параметры напечатанных плёнок

№ состава	Средняя масса, г	Средний размер, мм	Средняя толщина, мм	Потеря в массе при высушивании, %
1	0,0437 ± 0,0016	9,98 ± 0,07	0,6101±0,0013	68,8
2	0,0398 ± 0,0010	10,02 ± 0,03	0,5797 ± 0,0004	66,2
3	0,0470 ± 0,0006	9,81 ± 0,11	0,5934 ± 0,0003	70,0
4	0,0593 ± 0,0024	10,14 ± 0,10	0,6089 ± 0,0008	47,1
5	0,0443 ± 0,0004	10,06 ± 0,07	0,6047 ± 0,0006	61,2
6	0,0461 ± 0,0009	10,04 ± 0,03	0,6552 ± 0,0007	67,5
7	0,0508 ± 0,0017	10,01 ± 0,12	0,5881 ± 0,0009	62,3
8	0,0673 ± 0,0015	9,95 ± 0,09	0,6359 ± 0,0013	40,4
9	0,0465 ± 0,0007	9,91 ± 0,04	0,5901 ± 0,0005	41,6
10	0,0427 ± 0,0016	10,02 ± 0,08	0,6099 ± 0,0006	47,1
11	0,0497 ± 0,0005	10,11 ± 0,05	0,6214 ± 0,0008	42,1
12	0,0431 ± 0,0027	10,08 ± 0,07	0,6420 ± 0,0014	41,9
15	0,0490 ± 0,0027	9,98 ± 0,10	0,5800 ± 0,0011	46,9
16	0,0506 ± 0,0015	10,05 ± 0,02	0,5912 ± 0,0004	39,7

Заключение

В ходе выполнения данной работы были исследованы 16 гелей, составы которых были составлены с использованием дробного факторного планирования. Приготовленные гели использовали для трехмерной печати лекарственных пленок.

Из результатов проведенных исследований можно отметить:

• Гель на основе ГПМЦ низкой молекулярной массы, содержащий глицерин в качестве пластификатора и лаурилсульфат натрия (состав № 4), можно использовать для изготовления более гибких противовоспалительных дентальных пленок;

• Гель на основе ГПМЦ низкой молекулярной массы, содержащий поливиниловый спирт в качестве пластификатора и ПВП (состав № 16), можно использовать для изготовления противовоспалительных лекарственных пленок, помещаемых на слизистую оболочку щеки, так как они имеют более жесткую конструкцию.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Beg S., Swain S. Introduction to the Application of Experimental Designs in Pharmaceutical Product Development // Design of Experiments for Pharmaceutical Product Development. Springer, 2021. P. 1-17. DOI: 10.1007/978-981-33-4351-1_1.

2. Design of Experiments (DoE) applied to Pharmaceutical and Analytical Quality by Design (QbD) / I. Fukuda [et al.] // Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2018. Vol. 54. DOI: 10.1590/s2175-97902018000001006

3. Hoffmann E.M., Breitenbach A., Breitkreutz J. Advances in orodispersible films for drug delivery // Expert Opinion of Drug Delivery. 2011. Vol. 8(3). P. 299–316. DOI: 10.1517/17425247.2011.553217

4. Thin films as an emerging platform for drug delivery / S. Karki [et al.] // Asian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016. Vol. 11(5). P. 559-574. DOI: 10.1016/j.ajps.2016.05.004

SUMMARY

DEVELOPMENT OF MUCOADHESIVE ANTIBACTERIAL FILMS USING A FRACTIONAL FACTOR EXPERIMENT

Kondakova Y.A., 2nd year master student

Scientific advisors: **Terenteva O.A.,** candidate of pharmaceutical sciences,

Shikov A.N., doctor of pharmaceutical sciences

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation

E-mail: kondakova.yuliya@pharminnotech.com

The composition of mucoadhesive antibacterial films has been developed using a fractional factor experiment. Based on the results obtained, the optimal composition for three-dimensional printing of drug films was selected.

Keywords: *pharmaceutical films, three-dimensional printing, personalized medicine, semisolid printing, experiment planning, fractional factorial experiment.*

REFERENCES

1. Beg S., Swain S. Introduction to the Application of Experimental Designs in Pharmaceutical Product Development // Design of Experiments for Pharmaceutical Product Development. Springer, 2021. P. 1-17. DOI: 10.1007/978-981-33-4351-1_1.
2. Design of Experiments (DoE) applied to Pharmaceutical and Analytical Quality by Design (QbD) / I. Fukuda [et al.] // Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2018. Vol. 54. DOI: 10.1590/s2175-97902018000001006
3. Hoffmann E.M., Breitenbach A., Breitkreutz J. Advances in orodispersible films for drug delivery // Expert Opinion of Drug Delivery. 2011. Vol. 8(3). P. 299–316. DOI: 10.1517/17425247.2011.553217
4. Thin films as an emerging platform for drug delivery / S. Karki [et al.] // Asian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016. Vol. 11(5). P. 559-574. DOI: 10.1016/j.ajps.2016.05.004

УДК 615.454

ИССЛЕДОВАНИЕ СРАВНИТЕЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ОСНОВ РАЗЛИЧНОГО НАЗНАЧЕНИЯ ДЛЯ ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ АРТРИТА

Коннова М.А., асп. 2 года обучения (ORCID: 0000-0002-8812-9145),
Пушкаш Л.А., студ. 5 курса
Руководитель: **Волков А.А.,** канд. хим. наук, доц. (ORCID: **0000-0002-8245-0739)**
Приволжский исследовательский медицинский университет
603950, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1, Российская Федерация
E-mail: mash.konnova@yandex.ru

В работе описывается разработка и сравнение составов эмульсионных основ для доставки лекарственных веществ на примере натрия хондроитинсульфата, фульвовой кислоты и мелоксикама. Приводятся результаты теста «Растворение для трансдермальных терапевтических систем» с целью определения высвобождения изучаемых лекарственных веществ из трансдермального пластыря через мембрану. В пробах, взятых через определённый промежуток времени, была установлена концентрация вещества методом фотоколориметрии.

Ключевые слова: *диализ, фульвовая кислота, хондроитинсульфат натрия, мелоксикам, трансдермальная терапевтическая система.*

Последнее несколько лет в литературе появляется все больше информации о влиянии вспомогательных веществ на всасывание и метаболизм лекарственных веществ, что успешно подобранные лекарственные формы позволяют максимально реализовать действие лекарственных веществ при минимальных побочных эффектах.

Пероральное применение лекарственных средств является наиболее распространенным способом введения лекарств в организм человека [1], но недостаточно быстрое всасывание лекарственных средств делает невозможным применение данного способа введения при оказании экстренной помощи. Другим недостатком перорального применения лекарственных средств является то, что часть активной субстанции при пероральном приеме разрушаются ферментами пищеварительной системы [1].

Для «обхода» пищеварительного тракта и экстренной доставки лекарственных препаратов применяется парентеральное введение. Парентеральное введение подразумевает внутривенное, внутримышечное или подкожное введение [2]. Основным преимуществом данного способа введения является быстрое действие лекарственного препарата, поступающего напрямую в кровь. Кроме того, имеется возможность проводить введения лекарственного вещества больному, находящемуся в бессознательном состоянии. Однако и у данного способа имеются недостатки, во время прокола кожи возможно проникновение патогенных бактерий в организм человка. Кроме того, при неправильной технике инъекции вместе с раствором в организм может быть введен воздух, вызывающий эмболию сосудов или расстройство сердечной деятельности. Существуют также психоэмоциональный аспект, связанный с болезненностью инъекционного пути введения, появлением синяков и гематом в месте укола.

Последнее время, очень интенсивно развивается трансдермальный метод доставки лекарственных средств. Трансдермальный метод введения лекарственный веществ позволяет избежать ферментативного разложения веществ в желудочно-кишечном тракте или печени, поскольку действующие вещества попадают в системный кровоток путём диффузии, минуя желудочно-кишечный тракт [3]. Данный способ доставки лекарственных веществ является альтернативой парентеральному и пероральному введению лекарственных веществ [4]. Введение лекарственных веществ в системный кровоток осуществляется с постоянной скоростью через неповреждённые участки кожи.

Кроме того, чрезкожный способ доставки лекарств имеет следующие преимущества [5, 6]:

• Более быстрое действие лекарств, в сравнении с пероральным приёмом;

• Возможность немедленного прекращения лечения при проявлении неблагоприятных реакций;

• Непрерывная подача препарата в организм обеспечиваетего постоянную концентрации в крови без колебаний;

• Снижение частоты назначения препарата за счёт доставки необходимой дозы лекарственных средств за более продолжительный период времени;

• Уменьшение терапевтической дозы препарата в результате снижения потерь, связанных с метаболизмом;

• Простота и безболезненность применения.

Одним из факторов, влияющих на трансдермальную доставку лекарственных веществ, является правильно подобранная основа для лекарственного вещества в зависимости от его природы [7]. Именно основы определяют скорость и степень высвобождения лекарственного вещества, а также влияют на процесс его транспортировки через кожу.

Цель работы – разработка и анализ эмульсионных основ различного назначения для доставки лекарственных субстанций на примере натрия хондроитинсульфата, фульвовой кислоты и мелоксикама.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Подобрать и оценить роль вспомогательных веществ в формировании лекарственной формы;
2. Исследовать влияние вспомогательных веществ на высвобождение действующих веществ.

Для доставки гидрофильных лекарственных веществ, как правило, используются гидрофильные полимерные носители [7, 8]. Однако использование полимеров в качестве структурирующих агентов ведёт к частичной сорбции молекул лекарственного вещества на полимерном носителе. Это ведёт к замедленному высвобождению лекарственного вещества из основы и возникновению пролонгированного эффекта, который не всегда является необходимым. Другим недостатком гидрофильных основ является их водоотнимающее действие, приводящее к обезвоживанию слизистой оболочки ивызывающее её сухость и раздражение [9].

При использовании липофильных носителей для доставки гидрофильных лекарственных веществ наблюдается проблема низкого процента включения гидрофильного вещества без использования эмульгаторов [10]. Кроме того, липофильные носители в высоких концентрациях образуют ломкую систему, не обладающую необходимыми пластическими свойствами.

Эмульсионные основы в сравнении с гидрофильными и лиофильными основами обладают рядом преимуществ [11], среди которых лучшее высвобождение действующих веществ и способность включать в себя как гидрофильные, так и гидрофобные вещества в более высоких концентрациях. Таким образом, использование подходящих эмульсионных основ способно улучшить доставку гидрофильных лекарственных веществ через роговой слой в живые слои кожи.

Исходя из этого в работе были подготовлены эмульсионные основы для доставки лекарственных веществ, обладающие необходимыми структурно-механическими свойствами. Проведен тест «Растворение для трансдермальных терапевтических систем», а также определено количество высвобождаемой водорастворимой субстанции на примере хондроитинсульфата натрия, фульвовой кислоты и мелоксикама методом фотоколориметрии.

Материалы и методы. Для получения исследуемых основ в качестве структурирующих агентов применялись полимерный эмульгатор PemulenTR-1 и низкомолекулярный поливинилпирролидон К-25 (ПВП К-25). В качестве регулятора pH использовался триэтаноламин (ТЭА). Эмульсионный воск, канделильсий воск, цетиловый спирт, взятые в разных соотношениях, выполняли роль загустителей и пролонгаторов. В качестве пластификаторов использовались пропиленгликоль (ПГ), а также полиэтиленоксид 400 (ПЭО 400) совместно сполиэтиленоксидом 1500 (ПЭО 1500). Активное вещество – натрия хондроитинсульфат, фульвовая кислота и мелоксикам.

При использовании различных комбинаций данных веществ были получены восемь составов, представленных в таблице. Среди них базовым является состав 5. Данная основа характеризуется отсутствием механических включений, хорошей эластичностью, способностью прилипать к кожным покровам без добавления адгезивов.

Таблица – Анализ лекарственных препаратов по составу

Pemulen TR-1	ПВП К-25	ПГ	ПЭГ 400 + ПЭГ 1500	Эмульсионный воск	Канделильский воск	Цетиловый спирт	Kolliphor p237
+	-	+	-	+	+	+	-
+	+	+	-	+	+	+	-
+	-	-	+	+	+	+	-
+	+	-	+	+	+	+	-
+	-	+	-	+	+	-	-
+	+	+	-	+	+	-	-
+	-	-	+	+	+	-	-
+	-	+	-	+	+	-	+

Для определения количества действующего вещества, высвобождающегося из трансдермального пластыря за определённое время, проводился тест, согласно ОФС.1.4.2.0017.15 Растворение для трансдермальных пластырей [12].

Подготовленный образец массой 1 г закрепляли в выполненном из химически инертного материала держателе с полимерной мембраной. В сосуд прибора для растворения, оборудованного лопастной мешалкой, вместимостью 1 л, заливали 250 мл воды очищенной. На дно сосуда опускали держатель с закреплённым в нём образцомвысвобождающей поверхностью вверх. Перемешивание осуществляли со скоростью 100 об/мин.

Пробы раствора из сосуда отбирали в течение трёх часов каждые 10 минут, после чего измеряли его оптическую плотность на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали воду очищенную. Измерение оптической плотности растворов хондроитинсульфата натрия проводилось при 664 нм, растворов фульвовой кислоты – 230 нм, а мелоксикама – 363 нм.

В ходе работы мы столкнулись со следующей проблемой: при комнатной температуре мелоксикам не растворяется в воде, в отличие от хондроитин сульфата натрия. Растворения удалось добиться только после нагревания мелоксикама в смеси полиэтиленгликоль – этанол на водяной бане при 80^0С в течение 5 минут. В дальнейшем исследовании мы использовали данный раствор.

Для растворения фульвовой кислоты использовался раствор этилового спирта.

Результаты и обсуждение

В ходе работы было отмечено, что при использовании цетилового спирта в качестве загустителя образуется жёсткая система, характеризующаяся замедленным высвобождением лекарственного вещества и пригодная для пролонгированной доставки лекарств.

Добавление ПВП К-25 как дополнительного структурирующего агента также замедляет высвобождение действующего вещества из основы. Это связано с взаимодействиями в системе на границе раздела фаз полимер – действующее вещество, ведущими к частичной сорбции молекул вещества на полимерном носителе. Стоит отметить, что одновременное присутствие в основе ПВП К-25 и цетилового спирта приводит к ещё большей пролонгации, чем при их отдельном использовании.

Воск в составе основ способен раздвигать полимерную сетку носителя, что облегчает высвобождение действующего вещества. При этом основной функцией воска является повышение вязкости системы, что способствует пролонгированному высвобождению лекарственного вещества. Также канделильский воск обладает пластифицирующим действием, его использование вместо цетилового спирта обеспечивает получение основы с большей скоростью высвобождения действующего вещества.

Введение полоксамера Kolliphor p237 в базовый состав способствует увеличению скорости высвобождения лекарственного вещества из основы. Увеличение скорости высвобождения связано со способностью плюроников самопроизвольно образовывать мицеллы в водных растворах.

В образцах 1,2,3 и 4 в качестве загустителя используется цетиловый спирт, кроме того, в образце 2 как структурирующий агент был добавлен ПВП К-25. На графике видно, что совместное присутствие цетилового спирта и ПВП К-25 ведёт к большему замедлению высвобождения хондроитинсульфата натрия, фульвовой кислоты и мелоксикама из основы 2, чем из основы 1, где используется только цетиловый спирт.

При добавлении ПВП К-25 в базовый образец 5 наблюдается замедление высвобождения действующих веществ. Однако использование в качестве загустителя канделильского воска ведёт к увеличению количества высвобождаемого вещества из основы, в сравнении с использованием цетиловго спирта в образцах 1-4.

Добавление Kolliphor p237 в образец 5 значительно увеличивает скорость высвобождения действующих веществ.

Заключение. В данной работе были разработаны оптимальные полимерные матрицы эмульсионных основ для доставки лекарственных веществ на примере натрия хондроитинсульфата, фульвовой кислоты и мелоксикама, которые обеспечивают надежное прикрепление трансдермальной терапевтической системы к коже в течение требуемого времени аппликации и не препятствуют высвобождению лекарственного вещества. Количество действующего вещества, высвобождающегося из трансдермального пластыря за определённое время, было определено согласно тесту «Растворение для трансдермальных пластырей». В качестве аналитической методики использовалась УФ-спектрофотометрия. Скорость высвобождения действующего вещества может быть отрегулирована путём добавления дополнительных полимеров. Так при добавлении ПВП К-25 в базовый образец наблюдается замедление высвобождения действующих веществ. Однако добавление полоксамера в состав значительно увеличивает скорость высвобождения действующего вещества.

Таким образом, нами было доказано существенное влияние вспомогательных веществ не только на формирование и стабильность трансдермальной терапевтической системы, но и на изменение ее показателей, которые в свою очередь способны изменить фармакокинетику и фармакодинамику препарата.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.13.33 Биофармация

ЛИТЕРАТУРА

1. Homayun B., Lin X., Choi H.-J. Challenges and Recent Progressin Oral Drug Delivery Systems for Biopharmaceuticals // Pharmaceutics. 2019. Vol. 11(3). 129 p. doi: 10.3390/pharmaceutics11030129.

2. Parenteral Route of Drug Administration: Advantages and Disadvantages // Pharmapproach.com [Internet]. URL: https://www.pharmapproach.com/parenteral-route-of-drug-administration-advantages-and-disadvantages/ (Accessed 09.01.2021)

3. Ших Е.В. Сравнительные клинико-фармакологические аспекты применения пероральных и трансдермальных форм эстрогенов // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. 2016. N 1. С. 41-46.

4. Касенов К.Ж. Трансдермальные терапевтические системы – чрескожная доставка лекарственных веществ (обзор) // Клиническая медицина Казахстана. 2012. N 1(24). С. 110-114.

5. Сакипова З.Б., Жетерова С.К., Блатов Р.М. Трансдермальные лекарственные формы и их место в фармацевтическом секторе // Вестник КазНМУ. 2013. N 2. С. 1-6.

6. Абузарова Г.Р., Прохоров Б.М., Соколенов А.С. Трансдермальный лидокаин (Версатис) в терапии боли у онкологических больных // Трудный пациент. 2007. Т. 5. N 14. С. 8-13.

7. Transdermal patches: history, development and pharmacology / M.N. Pastore [et al.] // British Journal of Pharmacology. 2015. Vol. 172(9). P. 2179-209. doi: 10.1111/bph.13059.

8. Bharkatiya M., Nema R.K., Bhatnagar M. Designing and Characterization of Drug Free Patches for Transdermal Application // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research. 2013. N 2. P. 37-38.

9. Polymers and Plasticizers Used in Transdermal Drug Delivery // International Journal of Applied Chemistry and Pharmaceutical Sciences. 2016. N 1. P. 3.

10. Aspect of adhesives in transdermal drug delivery systems / S. Banerjee [et al.] // International Journal of Adhesion & Adhesives. 2014. N 50. C. 74-75. DOI 10.1016/j.ijadhadh.2014.01.001

11. Transdermal Delivery Devices: Fabrication, Mechanics and Drug Release / W. K. Raja [et al.] // Small journal 2013. Vol. 9(21). doi: 10.1002/smll.201202075.

12. Растворение для трансдермальных пластырей. ОФС.1.4.2.0017.15 // Фармакопея.РФ [Электронный ресурс] URL: https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0017-15-rastvorenie-dlya-transdermalnyh-plastyrej/ (дата обращения: 11.01.2020).

SUMMARY

STUDY OF COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF DIFFERENT BASES FOR ARTHRITIS TRANSDERMAL THERAPY

Konnova M.A., P.G. 2nd year student, **Pushkash L.A.,** 5th year student
Scientific supervisor: **Volkov A.A.**, Candidate of chemical sciences,
Associate Professor at the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy
Privolzhsky Research Medical University
603950, 10/1, Minin and Pozharsky Sq., Nizhny Novgorod, Russia
E-mail: mash.konnova@yandex.ru

The study describes the development and comparison of emulsion bases for the such drugs delivery as sodium chondroitin sulfate, fulvic acid and meloxicam. The results of the «Dissolution for transdermal therapeutic systems» test are presented to determine the release of the studied substances from the transdermal patch through the membrane. In samples taken after a certain period, the concentration of the substance was determined by photocolorimetry.

Keywords: *dialysis, fulvic acid, sodium chondroitin sulfate, meloxicam, transdermal therapeutic system.*

REFERENCES

1. Homayun B., Lin X., Choi H.-J. Challenges and Recent Progressin Oral Drug Delivery Systems for Biopharmaceuticals // Pharmaceutics. 2019. Vol. 11(3). 129 p. doi: 10.3390/pharmaceutics11030129.

2. Parenteral Route of Drug Administration: Advantages and Disadvantages // Pharmapproach.com [Internet]. URL: https://www.pharmapproach.com/parenteral-route-of-drug-administration-advantages-and-disadvantages/ (Accessed 09.01.2021)

3. Shikh E.V. Comparative clinical and pharmacological aspects of the use of oral and transdermal forms of estrogens // Obstetrics and gynecology: news, opinions, training. 2016. N 1. P. 41-46. (in Russian)

4. Kasenov K.Zh. Transdermal therapeutic systems - percutaneous delivery of drugs (review) // Clinical Medicine of Kazakhstan. 2012. Vol. 24(1). P. 110-114. (in Russian)

5. Sakipova Z.B., Zheterova S.K., Blatov R.M. Transdermal dosage forms and their place in the pharmaceutical sector // Bulletin of KazNMU. 2013. N 2. P. 1-6. (in Russian)

6. Abuzarova G.R., Prokhorov B.M., Sokolenov A.S. Transdermal lidocaine (Versatis) in the treatment of pain in cancer patients // Difficult patient. 2007. Vol. 5(14). P. 8-13. (in Russian)

7. Transdermal patches: history, development and pharmacology / M.N. Pastore [et al.] // British Journal of Pharmacology. 2015. Vol. 172(9). P. 2179-209. doi: 10.1111/bph.13059.

8. Bharkatiya M., Nema R.K., Bhatnagar M. Designing and Characterization of Drug Free Patches for Transdermal Application // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research. 2013. N 2. P. 37-38.

9. Polymers and Plasticizers Used in Transdermal Drug Delivery // International Journal of Applied Chemistry and Pharmaceutical Sciences. 2016. N 1. P. 3.

10. Aspect of adhesives in transdermal drug delivery systems / S. Banerjee [et al.] // International Journal of Adhesion & Adhesives. 2014. N 50. C. 74-75. DOI 10.1016/j.ijadhadh.2014.01.001

11. Transdermal Delivery Devices: Fabrication, Mechanics and Drug Release / W. K. Raja [et al.] // Small journal 2013. Vol. 9(21). doi: 10.1002/smll.201202075.

12. Dissolution for transdermal patches. GM.1.4.2.0017.15 // Pharmacopoeia.RF [Internet] URL: https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0017-15-rastvorenie-dlya-transdermalnyh- plastyrej/ (Accessed 11.01.2020). (in Russian)

УДК 66.071.6

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО КИСЛОРОДА С ПОМОЩЬЮ КРИОГЕННОЙ ТРЕХСТУПЕНЧАТОЙ РЕКТИФИКАЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРОГРАММЫ DWSIM

Корнилова А.Д., студ. 4 курса, **Миронова И.С.**, студ. 4 курса
Руководитель: **Сорокин В.В.** канд. фарм. наук., зав. каф. ПАХТ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anastasiya.kornilova@spcpu.ru

Темой работы явилось моделирование процесса получения медицинского кислорода с помощью программы DWSIM. Разобраны основные стадии процесса и показаны технологические параметры процесса позволяющие получить кислород с 90% выходом. В статье рассмотрены теоретические аспекты производства медицинского кислорода, выполнен обзор существующих технологий, проведен анализ в рамках существующих технологий, выполнен выбор технологии получения чистого медицинского кислорода. Для проектирования технологии использовалась программа DWSIM, позволяющая моделировать технологический процесс. Результатом моделирования явилось определение технологических параметров, расходов и выходов действующих веществ и полупродуктов, а также количества затрачиваемой энергии на стадии производства.

Ключевые слова: *кислород, медицинский кислород, ректификация, компрессор, DWSIM, криогенненный метод.*

В настоящее время актуальной стала проблема получения чистого медицинского кислорода, в связи с большим потреблением медицинскими учреждениями.

К медицинскому кислороду в соответствии с государственной фармакопеей Российской Федерации (ГФ РФ) выдвигаются следующие требования [1, 2], представленные в таблице 1.

Таблица 1 – Основные требования предъявляемые к медицинскому кислороду по ГФ РФ 14

Требование к качеству	Характеристика
Описание	Светло-голубая жидкость без запаха. (Примечание. Определение запаха. После испарения пробы кислорода медицинского жидкого, отобранной для определения масла, в колбе недолжно быть запаха.)
Ацетилен	Анализ проводится на установке для определения содержания ацетилена. Раствор в сосуде должен остаться бесцветным, что свидетельствует об отсутствии ацетилена.
Углерода диоксид	Не более 3 мл/л.
Масло	Испытуемый раствор должен оставаться прозрачным по сравнению с водой.
Углерода монооксид	Не более 0,0005%.
Вода и механические примеси	На колбе не должно наблюдаться твердых частиц и капель воды.
Количественное определение	Объёмная доля кислорода должна быть не менее 99,5 %.

Актуальность разработки и оптимизации технологий получения медицинского кислорода связана с тем, что в настоящий момент химическая промышленность не может обеспечить медицинские организации необходимым количеством медицинского кислорода, что делает невозможным лечение тяжелых пациентов. Поэтому для решения данной проблемы необходимо рассмотреть возможные способы получения медицинского кислорода, которые будут экономически выгодными, а также будут обеспечивать получение кислорода соответствующего качества.

На данный момент основным способом получения индивидуальных газов из воздуха является разделение воздуха, которое можно осуществлять 3 методами:

- адсорбционный метод;
- мембранный метод;
- криогенный метод [3, 4].

Адсорбционная технология основана на поглощении молекулярными ситами определенных веществ, за счет этого обеспечивается разделение воздушной смеси. Данный метод позволяет эффективно получать из атмосферного воздуха такие газы, как азот и кислород.

Основой мембранной технологии разделения газов является мембрана, с помощью которой происходит разделение газов. Процесс получения кислорода в этих установках основан на эффекте различных скоростей проникновения газовой смеси через мембрану.

Технология разделения воздуха с помощью криогенных температур на основные газовые компоненты известна очень давно. Принцип работы криогенных установок основан на сжижении воздуха и последующем его разделении на азот, кислород и аргон методом ректификации.

Из представленных технологий именно криогенная позволяет получить кислород с наивысшей степенью очистки, который удовлетворяет показателю «кислород медицинский». Так же эта технология имеет и другие преимущества:

- после разделения получаются газы с предельно низким содержанием примесей, таким образом процентное содержание кислорода 99,5-99,9%, азота 99,9995%, аргона 99,9995%.

• высокий коэффициент извлечения при любом количестве продукта;
• высокая эффективность работы установки;
• возможность одновременного получения нескольких продуктов разделения (O2 + N2, O2 + Ar);
• минимальные энергозатраты при получении продуктов высокой чистоты;
• длительный период непрерывной работы;
• высокая надежность оборудования;
• длительный гарантируемый срок службы.

Однако данная технология не лишена недостатков. К ним можно отнести длительный пусковой период, поэтому целесообразно применять для крупных стационарных комплексов большой производительности с длительным периодом непрерывной работы.

Целью данной работы является составление аппаратурной схемы производства медицинского кислорода в программе DWSIM для отладки и оптимизации технологического процесса.

Задачи работы:
1. рассмотреть технологию получения кислорода медицинского;
2. рассчитать технологические параметры на стадиях процесса;
3. разработать аппаратурную схему производства в DWSIM и рассчитать выходы и чистоту получаемых газов.

DWSIM – это симулятор химического процесса, который имеет простой в использовании графический интерфейс со многими функциями, ранее доступными только в коммерческих симуляторах химических процессов. DWSIM способен моделировать стационарные, парожидкостные, парожидкостно–жидкостные, твердожидкостные и водно–электролитные равновесные процессы. Программа позволяет моделировать химико-фармацевтические процессы путем ввода исходных параметров.

Чистый медицинский кислород получается на установке криогенной ректификации. Для данного способа получения кислорода сырьем является атмосферный воздух. Перед поступлением в установку воздух должен проходить предварительную очистку от вредных примесей, избыточной влаги, механических частиц до параметров, указанных в государственной фармакопее. В связи с этим предполагается использовать следующую схему предварительной очистки воздуха: установка предфильтров, использование фильтров EPA, далее фильтры HEPA.

Для очистки применяют фильтры, устанавливаемые на всасывающих трубопроводах компрессоров. Фильтры предварительной очистки – это самые простые фильтры, применяемые в воздухоочистителях. Они состоят из обычной мелкой сетки и предназначены для удаления крупных пылевых частиц. Принцип работы всех фильтров достаточно прост: воздух вентилятором прогоняется через фильтр и тем самым освобождается от частиц пыли. Фильтры различают по эффективности очистки. Для грубой очистки применяются фильтры типа EPA. EPA фильтры очищают воздух от 85 до 99,5% частиц размером менее 0,06 микрон. Фильтры тонкой очистки воздуха – HEPA (High Efficiency Particulate Absorption) – высокоэффективная задержка частиц) представляет собой пылевой воздушный фильтр высокой эффективности. Фильтр HEPA представляет собой волокнистый материал, сложенный в виде гармошки. Волокна имеют диаметр 0.65-6.5 мкм, а расстояние между ними 10-40 мкм. Изготавливаются из бумаги и стекловолокна. HEPA обеспечивают очень высокое качество фильтрации воздуха до 99,995%.

Для удаления избыточной влаги перед процессом сжатия воздух проходит специальную подготовку, которая может осуществляться двумя методами:
• конденсация;
• адсорбция.

Работа конденсационных осушителей воздуха основана на принципе конденсации содержащегося в воздушной массе водяного пара на поверхностях, имеющих температуру ниже температуры точки росы воздуха.

Способ основан на использовании принципа адсорбции. Влага при этом собирается на специальном адсорбирующем материале типа силикагеля с последующей регенерацией, путем прокаливания.

После процесса подготовки воздух подается на установку для получения чистого медицинского кислорода. Данный процесс состоит из 4 основных стадий:
1. компрессия;
2. частичное предразделение;
3. получение чистого медицинского кислорода;
4. выделение чистого аргона и удаление азота.

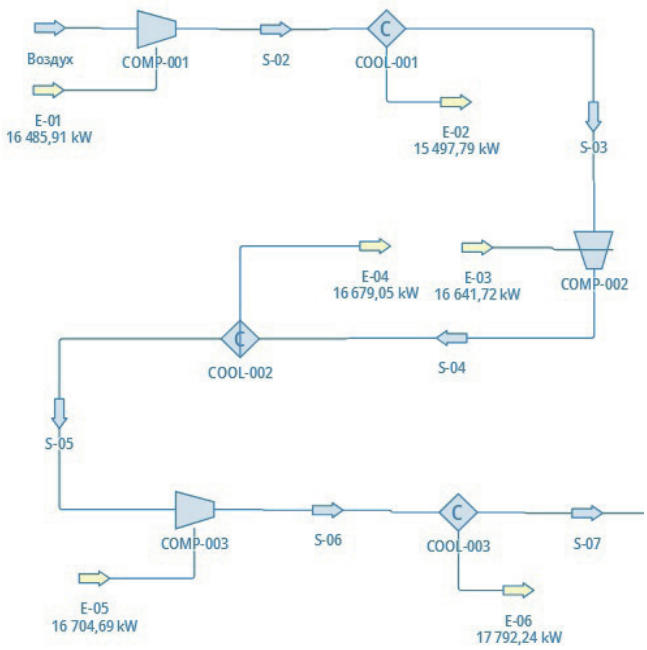


Рисунок 1. Первый этап работы установки – компрессия

Введем условные обозначения для основных технологических параметров, изменяемых в ходе процесса: T – температура, P – давление, G – массовый расход; M – молярный расход, ŋ – адиабатический КПД, N- мощность, V – объемный расход.

Таблица 2 – Спецификация оборудования к рис. 1.

Условное обозначение	Наименование	Технологические параметры
COMP-001	Компрессор 1	ΔP=96675 Па; ŋ=39,0%, ΔT=162,6ºC; N=16485,9 кВт
COOL-001	Теплообменник 1	ΔP=-20000 Па; эффективность 100; $Q_{удал}$=15497,8 кВт; молярная доля пара на выходе 1; ΔT =-152,6ºC.
COMP-002	Компрессор 2	ΔP=168000 Па; ŋ=39,5%, ΔT=163,9ºC; N=16641,7 кВт.
COOL-002	Теплообменник 2	ΔP=-20000 Па; эффективность 100; $Q_{удал}$=16679,0 кВт; молярная доля пара на выходе 1; ΔT =163,9ºC.
COMP-003	Компрессор 3	ΔP=309000 Па; ŋ=39,5%, ΔT=164,3ºC; N=16704,7 кВт.
COOL-003	Теплообменник 3	ΔP=-25000 Па; эффективность 100; $Q_{удал}$=17792,2 кВт; молярная доля пара на выходе 1; ΔT =174,3ºC

Таблица 3 – Спецификация потоков к рис. 1.

Условное обозначение	Наименование	Технологические параметры
Воздух	Воздух	T=30,0ºC; P=1,0 бар; G=100,0 кг/с; M=12431,0 кмоль/ч; V =309099,0 м³/ч
S-02	Поток после первой компрессии	T=192,6ºC; P=2,0 бар; G=100,0 кг/с; M=12431,0 кмоль/ч; V =243254,1 м³/ч.
S-03	Поток после первого охлаждения	T=40,0ºC; P=1,8 бар; G=100,0 кг/с; M=12431,0 кмоль/ч; V =181735,9 м³/ч.
S-04	Поток после второй компрессии	T=203,9ºC; P=3,5 бар; G=100,0 кг/с; M=12431,0 кмоль/ч; V =142640,2 м³/ч.
S-05	Поток после второго охлаждения	T=40,0ºC; P=3,3 бар; G=100,0 кг/с; M=12431,0 кмоль/ч; V =99191,9 м³/ч.
S-06	Поток после третьей компрессии	T=204,3ºC; P=6,4 бар; G=100,0 кг/с; M=12431,0 кмоль/ч; V =77872,4 м³/ч.
S-07	Поток после третьего охлаждения	T=30,0ºC; P=6,1 бар; G=100,0 кг/с; M=12431,0 кмоль/ч; V =51253,7 м³/ч.

В установке применяется трехступенчатое сжатие подготовленного воздуха, так как одноступенчатое сжатие не даст необходимого давления, а также создает риск поломки установки. Многоступенчатое сжатие применяют для получения высоких давлений газа. Процесс многоступенчатого сжатия осуществляют в многоступенчатых компрессорах, в которых газ проходит последовательно ряд ступеней, постепенно сжимаясь до конечного давления. Поскольку при сжатии газ нагревается, то между ступенями газ подвергают охлаждению в промежуточных холодильниках. В первый компрессор подается подготовленный газ «воздух» с параметрами, указанными в табл. №3. Газ проходит через три ступени сжатия, параметры которого указаны в табл. №3. Проходя через 3 ступени газ сжимает от давления 1,0 до 6,1 бар, температура воздуха в процессе компрессии изменяется, но на выходе остается равной входящей температуре 30,0 ºC, объемный рас-

ход уменьшается примерно в 6 раз с 309099,0 м³/ч до 51253,7 м³/ч. Изменения массовых и молярных потоков на данном этапе не происходит.

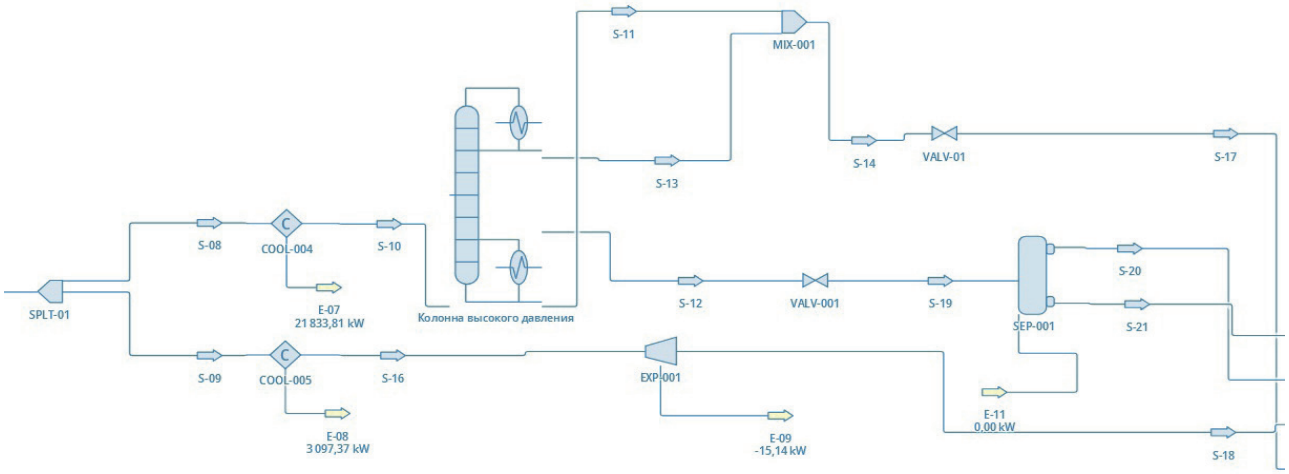


Рисунок 2. Второй этап работы установки – частичное предразделение

Таблица 4 – Спецификация оборудования к рис. 2

Условное обозначение	Наименование	Технологические параметры
SPLT-01	Сплиттер	Соотношение разделения 17:3
COOL-004	Теплообменник 4	ΔP=-40000 Па; эффективность 100; $Q_{удал}$=21833,8 кВт; молярная доля пара на выходе 0,8; ΔT=203,8°C.
MIX-001	Смеситель	-
VAIV-01	Клапан 1	ΔP=-430000 Па; ΔT =-16,0°C.
VAIV-001	Клапан 2	ΔP=-438000 Па; ΔT =-16,5°C.
SEP-001	Сепаратор	Температура разделения 25,0°C; давление разделения 1,0 бар.
COOL-005	Теплообменник 5	ΔP=-20000 Па; эффективность 100; $Q_{удал}$=3097,4 кВт; молярная доля пара на выходе 1; ΔT=198,2°C.
EXP-001	Адиабатический расширитель	ΔP=-460000 Па; η=75%; ΔT=-6,3°C; генерируемая мощность -15,1 кВт.

Таблица 5 – Спецификация потоков к рис. 2

Условное обозначение	Наименование	Технологические параметры
S-08	Больший поток после разделения	T = 30°C; P = 6,1 бар; G = 85 кг/с; M = 10566,4 кмоль/ч; V = 43565,6 м³/ч.
S-09	Меньший поток после разделения	T = 30°C; P = 6,1 бар; G = 15 кг/с; M = 1864,7 кмоль/ч; V = 7688,0 м³/ч.
S-10	Поток после теплообменника 4	T = -173,8°C; P = 5,7 бар; G = 85 кг/с; M = 10566,4 кмоль/ч; V = 10123,0 м³/ч.
S-11	Поток после колонны высокого давления обогащенный азотом 1	T = -177,7°C; P = 5,6 бар; G = 22,6 кг/с; M = 2903,3 кмоль/ч; V = 113,4 м³/ч.
S-12	Поток после колонны высокого давления обогащенный кислородом	T = -174,3°C; P = 5,7 бар; G = 61,8 кг/с; M = 7578,6 кмоль/ч; V = 292,4 м³/ч.
S-13	Поток после колонны высокого давления обогащенный азотом 2	T = -177,7°C; P = 5,6 бар; G = 0,7 кг/с; M = 84,5 кмоль/ч; V = 102,8 м³/ч.
S-14	Поток после смесителя, обогащенный азотом	T = -177,7°C; P = 5,6 бар; G = 23,2 кг/с; M = 2987,8 кмоль/ч; V = 216,2 м³/ч.
S-16	Меньший поток после теплообменника 5	T = -168,2°C; P = 5,9 бар; G = 15 кг/с; M = 1864,7 кмоль/ч; V = 2432,9797 м³/ч.
S-17	Поток с пониженным давлением, обогащенный азотом	T = -193,6°C; P = 1,3 бар; G = 23,2 кг/с; M = 2987,8 кмоль/ч; V = 2919,8 м³/ч.
S-18	Меньший поток после адиабатического расширителя	T = -174,5°C; P = 1,3 бар; G = 15 кг/с; M = 1864,7 кмоль/ч; V = 11430,9 м³/ч.
S-19	Поток с пониженным давлением, обогащенный кислородом	T = -190,8°C; P = 1,3 бар; G = 61,8 кг/с; M = 7578,6 кмоль/ч; V = 6588,9 м³/ч.
S-20	Паровой поток, обогащенный азотом	T = -190,8°C; P = 1,3 бар; G = 10,2 кг/с; M = 1289,7 кмоль/ч; V = 6380,1 м³/ч.
S-21	Жидкостной поток, обогащенный кислородом	T = -190,8°C; P = 1,3 бар; G = 51,5 кг/с; M = 6288,9 кмоль/ч; V = 208,8 м³/ч.

Полученный сжатый воздух на 1 этапе делится в сепараторе в соотношении 17:3 на 2 потока: первый направляется непосредственно в колонну высокого давления, а второй проходит этап подготовки и направляется в колонну низкого давления.

Часть воздуха, которая составляется 85 кг/с массового потока, направляется через холодильник, где происходит понижение температуры до -173,8ºС, падение давления до 5,7 бар, в колонну высокого давления. В колонне высокого давления происходит предварительное разделение воздуха на жидкий азот и обогащенную кислородом азото-кислородную смесь. Эти жидкости служат для орошения второй колонны низкого давления, в которой происходит окончательное разделение воздуха на кислород и азот.

Сжатый компрессором и охлажденный воздух идет в колонну на 45 тарелку. В нижней части колонны находится жидкая смесь, содержащая 25-35% кислорода. Смесь нагревается и легколетучий компонент восходящим потоком направляется вверх колонны, где он встречается с нисходящим потоком тяжелокипящего компонента, жидкий воздух встречается с поднимающимися парами, благодаря чему осуществляется процесс предварительной ректификации жидкого воздуха. Полученные в верхней и средней части колонны потоки воздуха, которые обогащены азотом, смешиваются в смесителе и получается смесь с температурой -177,7ºС, давлением 5,6 бар. Полученная смесь направляется в трубопровод, который имеет клапан, предназначенный для понижения давления до 1,3 бар, вследствие чего изменяются и другие параметры, указанные в табл. №5 С нижней части колонны выходит поток, обогащенный кислородом с температурой -174,3ºС, давлением 5,7 бар. Полученная смесь проходит через клапан, в котором падает давление до 1,32 бар, из-за этого изменяется температура -190,8ºС. И далее смесь по трубопроводу направляется в сепаратор, в котором исходная смесь кипит при температуре 25 градусов и 1 атмосфере для того, чтобы разделить смесь на паровую и жидкостную часть. Паровая часть будет насыщена азотом, а жидкостная часть кислородом, полученные смеси направляются во вторую колонну на 28 тарелку. Температура и давление смесей после сепаратора остается одинаковой для обоих потоков, а остальные параметры указаны в табл. №5.

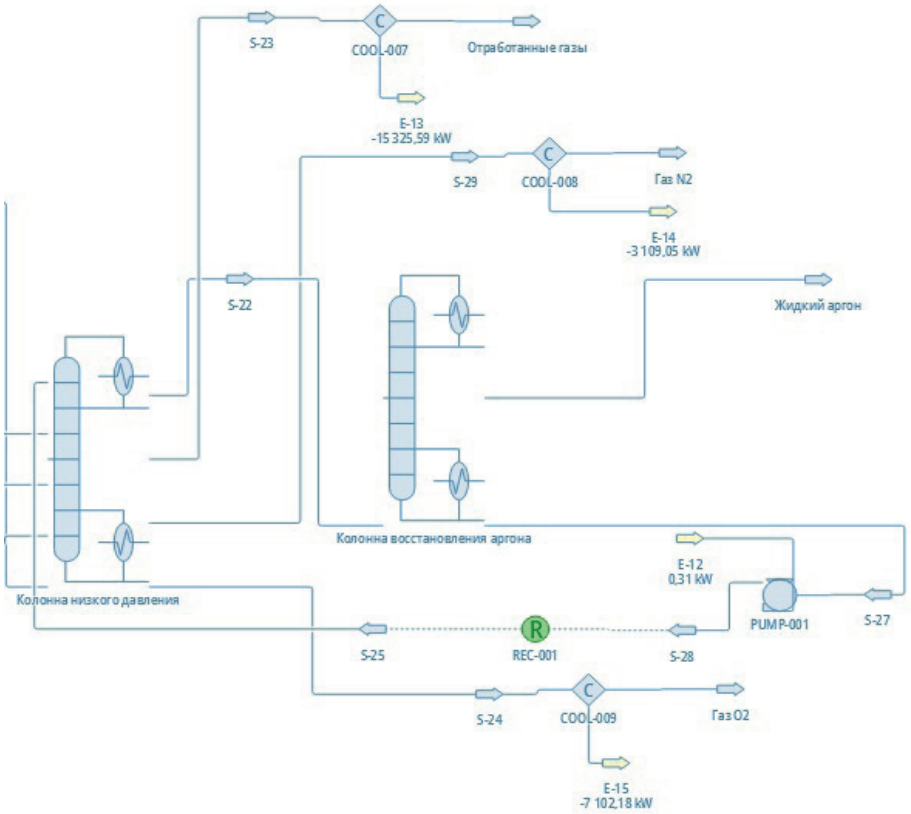


Рисунок 3. Третий и четвертый этапы работы установки – получение чистого медицинского кислорода, выделение чистого аргона и удаление азота

Таблица 6 – Спецификация оборудования к рис. 3

Условное обозначение	Наименование	Технологические параметры
COOL-007	Теплообменник 7	ΔP = -10000 Па; эффективность 100; Qудал. = -15325,6 кВт; молярная доля пара на выходе 1; ΔT = 217,5ºС.
COOL-008	Теплообменник 8	ΔP = -10000 Па; эффективность 100; Qудал. = -3109,1 кВт; молярная доля пара на выходе 1; ΔT = 219,3ºС.
COOL-009	Теплообменник 9	ΔP = -25000 Па; эффективность 100; Qудал. = -7102,2 кВт; молярная доля пара на выходе 1; ΔT = 205,3ºС.

Условное обозначение	Наименование	Технологические параметры
PUMP-001	Насос	ΔP = 50000 Па; эффективность 100; ΔT = 0,2ºC; N = 0,3 кВт.
REC-001	Аппарат для переработки низкого давления	максимальное количество итерации 50; допустимый массовый расход 0,01 кг/с; допустимая температура 0,1ºC; допустимое давление 0,1 Па.

Таблица 7 – Спецификация потоков к рис. 3

Условное обозначение	Наименование	Технологические параметры
S-22	Поток, обогащенный аргоном	T = -181,0ºC; P = 1,3 бар; G = 7,5 кг/с; M = 810 кмоль/ч; V = 4531,7 м³/ч.
S-23	Поток отработанных газов после колонны низкого давления	T = -192,5 ºC; P = 1,2 бар; G = 68,1 кг/с; M = 8640 кмоль/ч; V = 45408,5 м³/ч.
S-24	Поток газа O2 после колонны низкого давления	T = -180,3ºC; P = 1,4 бар; G = 18,0 кг/с; M = 2019,8 кмоль/ч; V = 128,6 м³/ч.
S-25	Переработанный поток, отправляемый на колонну	T = -181,0ºC; P = 1,8 бар; G = 7,1 кг/с; M = 774,0 кмоль/ч; V = 22,0 м³/ч.
S-27	Поток, обогащенный кислородом 1	T = -181,2ºC; P = 1,3 бар; G = 7,1 кг/с; M = 774,8 кмоль/ч; V = 28,2 м³/ч.
S-28	Поток, обогащенный кислородом 2	T = -180,9ºC; P = 1,8 бар; G = 7,1 кг/с; M = 774,8 кмоль/ч; V = 22,1 м³/ч
S-29	Поток газа N2 после колонны низкого давления	T = -194,3ºC; P = 1,2 бар; G = 13,5 кг/с; M = 1735,2 кмоль/ч; V = 9042,7 м³/ч.
Отработанные газы	Отработанные газы	T = 25 ºC; P = 1,1 бар; G = 68,1 кг/с; M = 8640 кмоль/ч; V = 191229,7 м³/ч.
Жидкий аргон	Жидкий аргон	T = -184,2ºC; V = 1,2 бар; G = 0,4 кг/с; M = 35,2 кмоль/ч; V = 1,0 м³/ч.
Газ N2	Газ N2	T = 25 ºC; V = 1,1 бар; G = 13,5 кг/с; M = 1735,2 кмоль/ч; V = 39090,1 м³/ч.
Газ O2	Газ O2	T = 25ºC; V = 1,1 бар; G = 18,0 кг/с; M = 2019,8 кмоль/ч; V = 45470,1 м³/ч.

Часть воздуха, которая составляет 15 кг/с массового потока направляется в холодильник, где охлаждается до температуры -168,2ºC, вследствие чего давление падает до 5,9 бар, а объемный расход составляет 2433,0 м³/ч. Далее воздух поступает в адиабатический расширитель, который представляет собой расширение в диаметре трубопровода, в котором понижается давление до 1,3 бара, слегка понижается температура и увеличивается объемный расход. Этот поток направляется на 21 тарелку второй колонны.

Следующая стадия – получение чистого медицинского кислорода. В результате процесса ректификации в верхней колонне в межтрубном пространстве конденсатора собирается жидкий кислород концентрации 99,5–99,8 %. Пары его частично поднимаются по колонне и участвуют в процессе ректификации. Часть кислорода отводятся в качестве готового продукта сначала с температурой -180,3ºC и давлением 1,4 бар в теплообменник, где температура повышается до 25ºC, а давление падает до 1,1 бар. Объемный расход чистого медицинского кислорода составит 45470,1 м³/ч.

Далее осуществляется выделение чистого аргона и удаление азота. В нижней части колонны создается давление, соответствующее температуре конденсации азота. Газообразный азот конденсируется в трубках конденсатора за счет холода испаряющегося жидкого кислорода, получаемого в колонне, и стекает вниз. Остальная часть жидкого азота, имеющего концентрацию 99,9%, собирается в карманах конденсатора и выводится из колонны. Поток азота с температурой -194,3ºC и давлением 1,2 бар направляется в теплообменник, где происходит нагрев. Подробные параметры указаны в табл. №7. Объемный расход газообразного азота составит 39090,1 м³/ч.

При получении чистого аргона методом ректификации воздуха аргонную фракцию получают в колонне низкого давления с очисткой ее от кислорода и разделяют в третьей колонне для получения чистого аргона. Жидкую аргонную фракцию с температурой -181,0ºC и давлением 1,3 бар, отводимую из второй колонны с 55 тарелки отправляют на 120 тарелку третьей колонны, в которой происходит разделение смеси на чистый аргон с температурой -184,2ºC, давлением 1,2 бар, и на жидкость, которая направляется на орошение второй колонны на 55 тарелку. Объемный расход жидкого аргона составил 1,0 м³/ч.

Заключение

Таким образом в ходе выполненной работы проведено моделирование установки по получению кислорода медицинского; показано, что при предлагаемых параметрах ее работы возможно получать кислород с чистотой, удовлетворяющей требованиям фармакопеи.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность
61.01.00 Общие вопросы химической технологии и химической промышленности
61.45.00 Технология химико-фармацевтических средств
61.55.09. Сырье и вспомогательные материалы

ЛИТЕРАТУРА

1. Кислород медицинский жидкий. ОФС.2.2.0027.18 // Государственная фармакопея РФ. Т. 3. XIV изд. [Электронное издание] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol3/807/
2. Еникеева Р.А. Использование новых технологий получения кислорода медицинского и его применение в военно-медицинских организациях // Известия Российской военно-медицинской академии. 2017. Т. 36. N 3. С. 81-83.
3. Мирошниченко Ю.В., Еникеева Р.А., Кассу Е.М. Характеристика способов получения кислорода медицинского и перспективы их применения в военном здравоохранении // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2016. N 2(54). С. 157–163.
4. Müller H. Medical Gases: Production, Applications and safety. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, 2015. 168 p.

SUMMARY

SIMULATION OF THE PROCESS OF OBTAINING MEDICAL OXYGEN USING CRYOGENIC THREE-STAGE RECTIFICATION USING THE DWSIM PROGRAM

Kornilova A.D., 4th year student, **Mironova I.S.,** 4th year student

Scientific supervisor: **Sorokin V.V.,** Candidate of Pharmacy, chairholder of processes and devices of chemical technology

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: anastasiya.kornilova@spcpu.ru

The topic of the work was modeling the process of obtaining medical oxygen using the DWSIM program. The main stages of the process are analyzed and the technological parameters of the process allowing to obtain oxygen with 90% yield are shown. The article discusses the theoretical aspects of medical oxygen production, reviews existing technologies, analyzes existing technologies, and selects a technology for obtaining pure medical oxygen. To design the technology, the DWSIM program was used, which allows modeling the technological process. The result of the simulation was the determination of technological parameters, costs and yields of active substances and intermediates, as well as the amount of energy consumed at the production stage.

Keywords: *oxygen, oxygen medical, distillation, compressor, DWSIM, cryogenic method.*

REFERENCES

1. Medical liquid oxygen. OFS.2.2.0027.18 // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Vol. 3. XIV ed. [Internet] URL.: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol3/807/ (in Russian)
2. Enikeeva R.A. The use of new technologies for obtaining medical oxygen and its application in military medical organizations // Proceedings of the Russian Military Medical Academy. 2017. Vol. 36(3). P. 81-83. (in Russian)
3. Miroshnichenko Yu.V., Enikeeva R.A., Kassu E.M. Characteristics of methods for obtaining medical oxygen and prospects for their use in military healthcare // Vestn. Ros. military-med. acad. 2016. N 2(54). P. 157–163. (in Russian)
4. Müller H. Medical Gases: Production, Applications and safety. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, 2015. 168 p.

УДК 61.615.4

ХОЛОДОВАЯ ЦЕПЬ ДЛЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ ТЕРМОЛАБИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Лобанова Е.Н., маг. 1 года обучения

Руководитель: **Басевич А.В.**, к. фарм. наук, доцент кафедры ПТЛП

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,

197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация

E-mail: lobanova.elena@pharminnotech.com

Рассмотрено понятие, назначение и этапы холодовой цепи для надлежащей дистрибуции термолабильных лекарственных средств. Рассмотрены методы и технические средства для обеспечения особых условий хранения и транспортировки лекарственных средств с целью дальнейшей разработки холодовой цепи с учетом риск-ориентированного подхода.

Ключевые слова: *холодовая цепь, дистрибуция лекарственных средств, хранение лекарственных средств, транспортировка лекарственных средств, термолабильные лекарственные средства, вакцины.*

Эффективность и безопасность лекарственного средства напрямую зависят от соблюдения условий окружающей среды в ходе хранения и транспортировки. Особенно критичными являются термолабильные лекарственные средства, которые необходимо хранить при пониженной температуре.

В настоящее время повышенный спрос на вакцины, являющиеся термолабильными препаратами, из-за COVID-19 является ключевым фактором роста отрасли логистики холодовой цепи. Разработка холодовой цепи является сложной

задачей, включающей в себя рассмотрение процесса перевозки на нескольких уровнях: начиная от производителя, заканчивая аптечной организацией. Для соблюдения холодовой цепи существуют различное специализированное оборудование и приспособления.

Из актуальности данной работы следует её цель: анализ литературных источников по теме «Разработка процедуры холодовой цепи для хранения и транспортирования термолабильных лекарственных препаратов с учетом анализа рисков». Для этого необходимо выполнить следующие задачи: обозначить понятие, назначение и этапы холодовой цепи и рассмотреть методы обеспечения особых условий хранения и транспортировки с учетом требований нормативной документации и сделать заключение по работе.

Холодовая цепь – это система хранения и транспортировки термочувствительной продукции при рекомендуемых температурах от места производства до места использования [1].

Холодовая цепь состоит из нескольких уровней (рис. 1):

• первый уровень – доставка от организации-изготовителя до организаций оптовой торговли лекарственными средствами, включая этап таможенного оформления;

• второй уровень – хранение организациями оптовой торговли лекарственными средствами и доставка до других организаций оптовой торговли лекарственными средствами;

• третий уровень – хранение аптечными организациями, медицинскими организациями и доставка до медицинских организаций или их обособленных подразделений, а также розничная реализация;

• четвертый уровень – хранение у потребителя [2].

Несоблюдение холодовой цепи создает высокий риск для качества и эффективности препарата, а, следовательно, высокий риск для безопасности пациента. Известны смертельные случаи в результате вакцинации от гриппа вакцинами, для которых был нарушен температурный режим при транспортировке [3].

Рисунок 1. Уровни холодовой цепи

В настоящее время в фармацевтической отрасли гармонизированы требования к дистрибуции лекарственных средств, основой которых является надлежащая дистрибьюторская практика (GDP).

Соблюдение GDP гарантирует, что:

• лекарства в цепочке поставок разрешены в соответствии с законодательством;

• лекарства всегда хранятся в надлежащих условиях, в том числе во время транспортировки;

• предотвращается загрязнение другими продуктами или другими продуктами;

• имеет место адекватный оборот хранимых лекарств;

• нужные продукты доходят до нужного адресата в удовлетворительный период времени.

Дистрибьютор также должен внедрить систему отслеживания, позволяющую находить дефектные продукты, и эффективную процедуру отзыва.

В России дистрибуция лекарственных средств регулируется надлежащей дистрибьюторской практикой на уровне Евразийского экономического союза (ЕАЭС), а также некоторыми локальными требованиями [2, 4-6].

Первый уровень холодовой цепи обеспечивается предприятием-изготовителем. Для этого необходимо иметь квалифицированный склад для хранения лекарственных средств. Система вентиляции, кондиционирования и обогрева воздуха фармацевтического склада должна поддерживать заданные параметры температуры и, при необходимости, влажности воздуха независимо от времени суток, дня недели или климатического сезона.

Для оценки влияния неравномерного распределения температуры в разных точках склада применяют температурное картирование склада посредством размещения температурных датчиков для записи данных температуры и влажности в течение определенного периода времени с целью выявления самой холодной и самой горячей точки помещения [7]. Далее необходимо организовать программу мониторинга окружающей среды для рутинного контроля склада с учетом выявленных точек.

Согласно правилам GDP, является обязательным наличие электронной автоматической системы мониторинга микроклимата в складских помещениях (температурно-влажностный контроль). Для оперативного выявления отклонений от требуемых условий хранения необходимо использовать соответствующие системы сигнализации.

В качестве примера рассмотрим такую часть системы автоматического управления как BMS (Building Management System). Это однородная система, которая собирает и хранит данные, полученные на трех уровнях.

Периферийный уровень состоит из всех датчиков (логгеров), расположенных на объекте, то есть всех полученных ими измерений температуры и влажности.

Уровень контроля состоит из контроллеров с модулями. Каждый из модулей, размещенных в шкафах автоматики, принимает сигналы определенного типа. К контроллерам подключаются датчики, свето-звуковые извещатели, диодные информационные панели, сенсорные дисплеи для отображения текущих показателей окружающей среды [8]. В случае отклонения параметров окружающей среды от заданных пределов, может использоваться как световой, так и звуковой сигнал.

Уровень BMS составляет наивысший уровень подключения на многоярусном складе. На этом уровне находится центральная система мониторинга и управления. Программное обеспечение системы климатического мониторинга может управлять оборудованием и собирать данные в электронный архив [7].

Для обеспечения холодового хранения при температуре 2°–8°C используют такие решения, как холодные комнаты или холодильные камеры, в зависимости от потребности в объеме хранения.

В больших помещениях для хранения более эффективно использовать холодные комнаты, нежели многочисленные холодильники или морозильники. В идеале, в больших складских помещениях должна быть одна комната с минусовой температурой для замороженных товаров (-20°C) и другая комната с температурой (2-8°C) для продукции, требующей только охлаждение [9].

Для обеспечения сохранности продукта в случае аварийного отключения электроснабжения, необходимо подключать холодные комнаты и холодильники к альтернативному источнику энергии, например, к генератору [10].

Возможно изготовление холодильных комнат под ключ в комплекте с дублирующей сплит-системой, щитом управления с синхронизацией, терморегистратором, системой мониторинга с СМС-оповещением.

Если требуется маленькая площадь хранения, используют холодильники. Чаще всего это относится к хранению лекарственных средств в медицинских учреждениях.

Для обеспечения сохранности при транспортировке используют переносные системы. Есть две основные категории оборудования переносных систем:

1. активные;

2. пассивные: те системы, которые используют материал с фазовым переходом для обеспечения теплоотвода или источника охлаждения.

Выбор переносной системы зависит от анализа требований к продукту, маршрутов доставки, а также методов и продолжительности транспортировки.

Активные системы – это те системы, которые используют контейнер, включающий в себя систему кондиционирования с приводом, например, систему охлаждения, то есть требующие внутреннего или внешнего источника питания. Это активные термоконтейнеры рефрижераторного типа с встроенной морозильной установкой и авторефрижераторы.

В качестве примера активного термоконтейнера рассмотрим переносной изотермический холодильник Haier HZY-8Z с активным охлаждением, удаленным мониторингом температуры и GPS позиционированием, предназначенный для временного хранения и транспортировки биологических препаратов, медикаментов и других материалов, перевозка и хранение которых требует пониженной температуры [11].

Рефрижератор – это транспортное средство, оснащённое холодильно-обогревательной установкой и предназначенное для перевозки грузов, сохранность которых требует соблюдения определённого климатического режима – диапазона допустимой температуры и/или влажности, зависящего от вида груза и продолжительности поездки. Рефрижераторы применяются на всех видах грузового транспорта: для доставки может использоваться авторефрижератор, рефрижераторный вагон или рефрижераторное судно. На автомобильном транспорте применяют авторефрижераторы – автомобили, прицепы и полуприцепы с теплоизолированными кузовами.

Существует несколько типов рефрижераторных установок:

Автономный рефрижератор имеет собственный дизельный двигатель с собственным топливным баком, проходит техническое обслуживание по собственному графику, не зависит от двигателя автомобиля (может работать в одном и том же режиме при движении и на остановках). Автономные рефрижераторы предназначены для перевозки больших объёмов груза (обычно более 5 тонн) на большие расстояния (в том числе – междугородние и международные перевозки).

Рефрижератор с приводом от двигателя представляет собой дополнительное оборудование, подключаемое к автомобилю: двигатель транспортного средства является одновременно двигателем холодильно-обогревательной установки. Это наиболее экономичный, эффективный и удобный вид рефрижераторов для перевозки небольших грузов на небольшие расстояния (например, для ежедневной доставки в пределах города). У некоторых моделей есть возможность подключения к электросети, что позволяет установке работать при выключенном двигателе автомобиля.

Эвтектическая холодильная установка – это промышленные моноблоки, которые монтируются в изотермическом кузове транспортного средства и используются для транспортировки замороженных продуктов. Низкая температура груза поддерживается за счёт предварительной аккумуляции холода: во время стоянки эвтектические панели подключаются к электросети. Применение установки эвтектического типа позволяет не допустить избыточного поступления тепла в кузов через открытые двери во время выгрузки [12].

Достоинства рефрижератора:

• воздухообмен;

• возможность регулировки микроклимата; перевозка крупногабаритных грузов;

• сохранение изначальных свойств продукции;

• возможность перевозки разных товаров при различных температурах за счет размещения их в отдельных отсеках (рис. 2).

Рисунок 2. Размещение при разных температурах перевозки в авторефрижераторе

Стенки авторефрижераторов делают из сэндвич-панелей. Все стыки изолируются, створки каждой двери прокладываются уплотнителем. На внутреннюю среду кузова рефрижератора окружающая среда не способна оказать влияния. Для теплоизоляции используется пенополиуретан. Этот материал экологически безопасен и устойчив к возникновению плесени [13].

При погрузке необходимо размещать продукцию на специальных поддонах, а также на расстоянии от стенок кузова. Выполнение этих условий предотвратит блокирование свободной циркуляции воздуха в авторефрижераторе и защитит продукцию от тепла, исходящего от пола и стенок кузова. Рекомендуемое расстояние между внутренней поверхностью кузова и поверхностью груза – 200...250 мм. Во избежание порчи товара не стоит размещать перевозимую продукцию непосредственно перед испарителем, блокируя свободную циркуляцию воздуха в кузове. Не допускается перекрывать циркуляцию воздуха по всей внутренней поверхности кузова. Загромождение воздушных каналов в любом месте кузова (из-за неубранных остатков упаковочного материала, из-за коробок, уложенных на полу в задней части кузова) приводит к нарушению циркуляции воздуха и, как следствие, перемораживанию груза в доступных местах и недоохлаждению в других. [14].

Соответственно, альтернативным решением для холодной перевозки будет транспортировка ЛП в термокоробах в транспортном средстве, не оснащенном системой охлаждения. Рассмотрим пассивные системы.

Пассивные системы – это те системы, которые используют немеханические источники охлаждения или нагрева. Энергия, необходимая для охлаждения, обычно обеспечивается энергией, выделяемой при фазовом переходе материала, например, от льда к воде.

Чаще всего применяют многоразовые медицинские аккумуляторы холода, которые заполняют водой и замораживают до образования льда, а затем укладывают в термокороб [15].

Также используют гелевые аккумуляторы холода, представляющие собой прочный пакет из пленки ПВХ, заполненный термогелем [16].

Аккумуляторы холода укладываются в термоконтейнеры. Это жесткие пластиковые контейнеры, термоизолированные экструдированным пенополистиролом, имеющие жесткую крышку с резиновым уплотнителем. Термоконтейнеры устанавливаются в сумку-чехол с мягкой крышкой без термоизоляции на двусторонней молнии [17].

Альтернативным решением поддержания особых условий транспортировки являются резервуары с криогенами. Например, резервуары с жидким азотом серии Dry shipper предназначены для доставки биологических образцов на самолетах. Внутри контейнера находится специальный адсорбционный материал, который поглощает и сохраняет жидкий азот, предотвращая перелив жидкого азота во время доставки. В нем используется специальная стенка из нержавеющей стали для разделения места для хранения и криогенного материала, чтобы избежать смешивания жидкого азота с пробой.

Следует отметить, что использование этих устройств требует времени на подготовку для зарядки резервуара перед отправкой (обычно от 6 до 12 часов). Эта технология может поддерживать условия до 10 дней (в зависимости от размера и условий) [18].

Успех применения и активных, и пассивных систем зависит от хорошей изоляции от окружающей среды. Стоит использовать непористые материалы. Если рассматриваются пористые материалы, они должны быть полностью герметизированы, так как любое попадание влаги значительно ухудшит характеристики материала.

Материалы можно использовать двумя способами:

• формованные пакеты, которые могут быть поставлены в стандартных размерах или изготовлены на заказ;

• листовой материал, который можно разрезать (или предварительно разрезать) для конкретного применения [19].

Таким образом, выбор материалов и вида системы зависит от объемов и длительности транспортировки и выбирается исходя из экономической целесообразности и с учетом рисков, связанных с транспортировкой.

Требуемые условия хранения лекарственных средств должны соблюдаться в течение всего времени транспортировки в соответствии с указаниями производителя или информацией на упаковке. То есть в ходе перевозки необходимо не только обеспечить требуемые условия, но и контролировать их выполнение.

В этих целях используют как термоиндикаторы, размещенные на транспортной таре, так и системы мониторинга рефрижераторов.

В систему мониторинга рефрижератора (рис. 3) входит:

• датчик открытия дверей;

• датчик температуры камеры;
• ГЛОНАСС трекер;
• фотокамера.

Оборудование мониторинга размещается в герметичном защитном боксе на внешней стороне рефрижератора. Датчик температуры и фотокамера внутри холодильной камеры. По факту открытия дверей, с программируемой задержкой фотокамера делает снимок и отсылает его с помощью ГЛОНАСС оборудования (трекера) на сервер с фиксацией времени и местоположения. Датчик температуры производит измерения непрерывно при наличии внешнего питания на борту рефрижератора.

Все данные об уровне температуры доступны в режиме online в виде отчетов и графиков за любой промежуток времени в течение 6 месяцев с любой точки доступа в интернет. Для осуществления непрерывного видеоконтроля возможна поставка дополнительного оборудования [20].

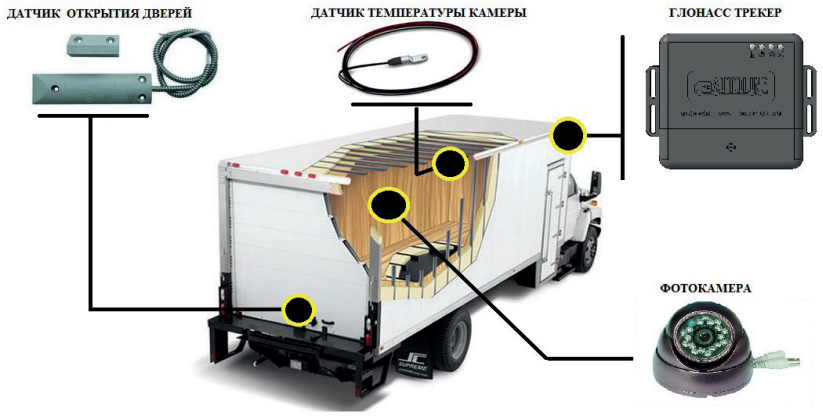


Рисунок 3. Схема системы контроля температуры рефрижератора

Для контроля температурного режима и выявления нарушений температурного режима используют термоиндикаторы.

В соответствии с конструкцией термоиндикаторы холодовой цепи бывают однократного и многократного использования. При этом в термоиндикаторах многократного применения должны быть предусмотрены меры по предотвращению фальсификаций их показаний.

В соответствии со своим принципом действия термоиндикаторы для контроля холодовой цепи подразделяются на:
• капиллярные;
• химические;
• электронные.

Капиллярный термоиндикатор состоит из запаянной стеклянной ампуллы (капилляра) со специальной жидкостью внутри. Принцип действия капиллярного термоиндикатора, основан на свойстве жидкости, расширяться при замерзании при определенной температуре, что приводит к разрушению капилляра (ампулы). Капиллярные термоиндикаторы являются одноразовыми.

В химическом термоиндикаторе на основу (бумажную или другую) наносится красящее вещество, которое необратимо меняет свой цвет под воздействием температуры выше заданной в течение определенного периода. Химический термоиндикатор поставляется в комплекте с контрольной карточкой индикатора, отражающий зависимость цвета от температурного воздействия.

Электронный термоиндикатор для холодовой цепи представляет собой электронный прибор, состоящий в общем виде из: источника питания, микропроцессора, термодатчика и средства индикации. Электронные индикаторы бывают как одноразовые, так и многоразовые. Для них доступно программирование пороговых значений и запись данных. Для удобства использования могут опционально поставляться с USB-разъёмом.

При перевозке лекарственных препаратов в составе холодовой цепи термоиндикаторы необходимо использовать в термоконтейнерах, термосумках, рефрижераторах. При этом химические и электронные термоиндикаторы, настроенные на фиксацию повышенной температуры, должны размещаться в наиболее удаленном от источника холода месте, то есть в наиболее теплом месте рефрижератора. Капиллярные и электронные термоиндикаторы, предназначенные для контроля пониженной температуры, должны размещаться в наиболее холодном месте, где лекарственные препараты могут подвергнуться воздействию чрезмерно низких температур. При необходимости более точного контроля возможно использовать несколько термоиндикаторов одновременно [21].

Заключение

В ходе данной работы было установлено понятие и назначение холодовой цепи: рассмотрены четыре этапа холодовой цепи, а также мероприятия, оборудование и системы, обеспечивающие соблюдение особых условий хранения и транспортировки.

Таким образом, собранные данные будут использованы при разработке процесса перевозки термолабильных лекарственных средств с учетом риск-ориентированного подхода, позволяющего учесть все критические параметры процесса перевозки, выявить риски и разработать мероприятия по их минимизации.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.39 Готовые лекарственные формы

ЛИТЕРАТУРА

1. Термозависимая продукция медицинского назначения в холодовой цепи // Всемирная Организация Здравоохранения. 2020. [Электронный ресурс]. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336748/WHO-2019-nCov-Immunization-Cold_Chain-2020.1-rus.pdf?sequence=12&isAllowed=y (Дата обращения 23.02.2022).

2. Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» : постановление главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28 января 2021 г №4. [Электронный ресурс]. URL: https://docs.cntd.ru/document/573660140?marker=DME0RF (Дата обращения 23.02.2022).

3. Количество смертей после вакцинации от гриппа в Южной Корее продолжает расти // Новости GxP [Электронный ресурс]. URL: https://gxpnews.net/2020/10/kolichestvo-smertej-posle-vakcinacii-ot-grippa-v-yuzhnoj-koree-prodolzhaet-rasti/ (Дата обращения 23.02.2022).

4. Об утверждении Правил надлежащей дистрибьюторской практики Евразийского экономического союза : решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 80 [Электронный ресурс]. URL: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411930/cncd_21112016_80 (Дата обращения 23.02.2022).

5. МУ 3.3.2.2437–09 Применение термоиндикаторов для контроля температурного режима хранения и транспортирования медицинских иммунобиологических препаратов в системе «холодовой цепи» : утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г.Онищенко 21 января 2009 г. и введены в действие с 1 марта 2009 г. [Электронный ресурс]. URL: https://docs.cntd.ru/document/1200071065 (Дата обращения 23.02.2022).

6. МУ 3.3.2.1121–02 Организация контроля за соблюдением правил хранения и транспортирования медицинских иммунобиологических препаратов : утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г.Онищенко 21 января 2009 г. и введены в действие с 4 апреля 2002 г. [Электронный ресурс]. URL: https://docs.cntd.ru/document/901827448 (Дата обращения 23.02.2022).

7. Температурное картирование фармацевтического склада / И. Табасевич [и др.] // X Международная конференция «Промышленная инженерия и защита окружающей среды» 2020. [Электронный ресурс]. URL: https://www.researchgate.net/publication/346025002_TEMPERATURE_MAPPING_IN_PHARMACEUTICAL_WAREHOUSE_-_FRAMEWORK_FOR_PHARMACY_40 (Дата обращения 23.02.2022).

8. Система мониторинга микроклимата фармацевтического склада по стандарту GDP // Sensor Tools [Электронный ресурс]. URL: http://sensor-tools.ru/projects/farmacevtika/sistema-monitoringa-mikroklimata-farmacevticheskogo-sklada-po-standartu-gdp/ (Дата обращения 23.02.2022).

9. Фармацевтические холодильные камеры // Голд Холод [Электронный ресурс]. URL: https://goldholod.com/pharmaceutical-refrigeration-chamber/ (Дата обращения 23.02.2022).

10. Охлаждающие камеры +2°C to +8°C // CRS Pharma Solutions [Электронный ресурс]. URL: https://www.crspharmasolutions.ie/2-8degree/ (Дата обращения 23.02.2022).

11. Переносной изотермический холодильник Haier HZY-8Z с активным охлаждением, удаленным мониторингом температуры и GPS позиционированием для транспортировки биологических образцов // AWTech [Электронный ресурс]. URL: https://www.awt.ru/catalog/termocontainers/haier-hzy-8z/#content (дата обращения 20.12.2021).

12. Рефрижераторные перевозки // UBI Logistic [Электронный ресурс]. URL: https://ubi-logistic.com.ua/refrizheratornye-perevozki/ (Дата обращения 23.02.2022).

13. Производство и продажа медицинской техники // ТермоПро [Электронный ресурс]. URL: https://thermo-pro.ru (Дата обращения 23.02.2022).

14. Резервуар для жидкого азота серии Dry Shipper // Sichuan Haishengjie Cryogenic Technology [Электронный ресурс]. URL: https://thermo-pro.ru/shop/termokontejnery-mediczinskie/termosumka-s-plastikovym-termokontejnerom-s-kryshkoj-seriya-tpk/tpk-18-vnutr-razmery-mm-280200330-obem-18-l/ (Дата обращения 23.02.2022).

15. Guide: Cold Chain Management // International Society for Pharmaceutical Engineering. [Электронный ресурс]. URL: https://ispe.org/publications/guidance-documents/good-practice-guide-cold-chain-management (Дата обращения 23.02.2022).

16. RDSMT2015 система ГЛОНАСС мониторинга температуры для рефрижераторов с видеокамерой // Auto Tuning Group LTD [Электронный ресурс]. URL: http://www.autotuninggroup.ru/en/product/2166/ (Дата обращения 23.02.2022).

17. Термоиндикаторы для холодовой цепи // РэлСиб [Электронный ресурс]. URL: https://relsib.com/articles/termoindikatory-dlya-holodovoj-tsepi (Дата обращения 23.02.2022).

SUMMARY

COLD CHAIN FOR STORAGE AND TRANSPORTATION OF HEAT-LABLE DRUGS

Lobanova E.N., 1st year Master student
Scientific supervisor: **Basevich A.B.**, Candidate of pharm. sciences, associate professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: lobanova.elena@pharminnotech.com

The concept, purpose and stages of the cold chain for the proper distribution of time- and temperature-sensitive pharmaceutical products (TTSPPs) are considered. Methods and technical means for ensuring special conditions for the storage and transportation of medicines are considered in order to further develop the cold chain, taking into account the risk-based approach.

Keywords: *cold chain, distribution of medicines, storage of medicines, transportation of medicines, time- and temperature-sensitive pharmaceutical products (TTSPPs), vaccines.*

REFERENCES

1. Temperature-dependent medical products in the cold chain // World Health Organization [Internet]. URL:https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336748/WHO-2019-nCov-Immunization-Cold_Chain-2020.1-rus.pdf?sequence=12&isAllowed=y (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

2. Ob utverzhdenii sanitarnyh pravil i norm SanPiN 3.3686-21 «Sanitarno-jepidemiologicheskie trebovanija po profilaktike infekcionnyh boleznej» : postanovlenie glavnogo gosudarstvennogo sanitarnogo vracha Rossijskoj Federacii ot 28 janvarja 2021. N 4 [Internet]. URL: https://docs.cntd.ru/document/573660140?marker=DME0RF (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

3. The number of deaths after influenza vaccination in South Korea continues to rise // GxP News [Internet]. URL: https://gxpnews.net/2020/10/kolichestvo-smertej-posle-vakcinacii-ot-grippa-v-yuzhnoj-koree-prodolzhaet-rasti/ (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

4. Ob utverzhdenii Pravil nadlezhashhej distrib'jutorskoj praktiki Evrazijskogo jekonomicheskogo sojuza : reshenie Soveta Evrazijskoj jekonomicheskoj komissii ot 03.11.2016 N 80 [Internet]. URL: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411930/cncd_21112016_80 (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

5. MU 3.3.2.2437—09 Primenenie termoindikatorov dlja kontrolja temperaturnogo rezhima hranenija i transportirovanija medicinskih immunobiologicheskih preparatov v sisteme «holodovoj cepi» : utverzhdeny Rukovoditelem Federal'noj sluzhby po nadzoru v sfere zashhity prav potrebitelej i blagopoluchija cheloveka, Glavnym gosudarstvennym sanitarnym vrachom Rossijskoj Federacii G.G.Onishhenko 21 janvarja 2009 i vvedeny v dejstvie s 1 marta 2009 [Internet]. URL: https://docs.cntd.ru/document/1200071065 (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

6. MU 3.3.2.1121—02 Organizacija kontrolja za sobljudeniem pravil hranenija i transportirovanija medi-cinskih immunobiologicheskih preparatov: utverzhdeny Glavnym gosudarstvennym sanitarnym vrachom Rossijskoj Federacii G.G.Onishhenko 21 janvarja 2009 g. i vvedeny v dejstvie s 4 aprelja 2002 [Internet]. URL: https://docs.cntd.ru/document/901827448 (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

7. Temperature mapping in pharmaceutical warehouse / I. Tabašević [et al.] // X International Conference Industrial Engineering and Environmental Protection (2020). [Internet] URL: https://www.researchgate.net/publication/346025002_TEMPERATURE_MAPPING_IN_PHARMACEUTICAL_WAREHOUSE_-_FRAMEWORK_FOR_PHARMACY_40 (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

8. Monitoring system for the microclimate of a pharmaceutical warehouse according to the GDP standard // Sensor Tools [Internet]. URL: http://sensor-tools.ru/projects/farmacevtika/sistema-monitoringa-mikroklimata-farmacevticheskogo-sklada-po-standartu-gdp/ (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

9. Pharmaceutical cold rooms // Gold Kholod [Internet]. URL: https://goldholod.com/pharmaceutical-refrigeration-chamber/ (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

10. +2°C to +8°C Chilled Stores // CRS Pharma Solutions [Internet]. URL: https://www.crspharmasolutions.ie/2-8degree/ (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

11. Portable isothermal refrigerator Haier HZY-8Z with active cooling, remote temperature monitoring and GPS positioning for transporting biological samples // AWTech [Internet]. URL: https://www.awt.ru/catalog/termocontainers/haier-hzy-8z/#content (Accessed 20.12.2021). (in Russian)

12. Refrigerated transportation // UBI Logistic - international transport and logistics company. [Internet]. URL: https://ubi-logistic.com.ua/refrizheratornye-perevozki/ (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

13. Production and sale of medical equipment // TermoPro [Internet]. URL: https://thermo-pro.ru (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

14. Dry Shipper Liquid Nitrogen Tank // Sichuan Haishengjie Cryogenic Technology [Internet]. URL: https://thermo-pro.ru/shop/termokontejnery-mediczinskie/termosumka-s-plastikovym-termokontejnerom-s-kryshkoj-seriya-tpk/tpk-18-vnutr-razmery-mm-280200330-obem-18-l/ (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

15. Guide: Cold Chain Management // International Society for Pharmaceutical Engineering. [Internet]. URL: https://ispe.org/publications/guidance-documents/good-practice-guide-cold-chain-management (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

16. RDSMT2015 GLONASS temperature monitoring system for refrigerators with video camera // Auto Tuning Group LTD [Internet]. URL: http://www.autotuninggroup.ru/en/product/2166/ (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

17. Temperature indicators for the cold chain // RelSib [Internet]. URL: https://relsib.com/articles/termoindikatory-dlya-holodovoj-tsepi (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

УДК 615.322

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ САПАНИНОВ ИЗ АСТРАГАЛА ПЕРЕПОНЧАТОГО

Лохматова Д.Э., студент 4 курса
Руководитель: **Ароян М.В.,** канд. фарм. наук, старший преподаватель
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: olohmatova@gmail.com

Изучено влияние технологических параметров на полноту извлечения сапонинов из астрагала перепончатого. На основании полученных результатов подобраны оптимальные условия экстрагирования сапонинов из астрагала перепончатого корня и травы.

Ключевые слова: *сапонины, экстрагирование, астрагал перепончатый, спектрофотометрия, перколяция.*

Современная фармация направлена на разработку новых эффективных лекарственных средств, содержащих биологически активных веществ (БАВ) растительного происхождения, характеризующихся широким диапазоном фармакологического действия. Поиск новых лекарственных растений как источника БАВ, модернизация уже изученных методик выделения БАВ может способствовать расширению номенклатуры препаратов растительного происхождения [3].

Препараты на основе растительного сырья в отличие от синтетических отличаются лучшей переносимостью, редким выявлением побочных эффектов даже при долговременном использовании. Важная особенность фитопрепаратов заключается в поддержании и мобилизации различных функциональных систем организма: иммунной, сердечно-сосудистой, эндокринной и др. [5].

В качестве перспективного источника БАВ выделяется крупный род семейства бобовых – Астрагал (Astragalus).

Астрагал перепончатый, Astragalus propinquus, растение, семейства бобовых (Fabaceae), содержит биологически активные вещества (БАВ), представленные следующими классами: кумарины, флавоноиды, дубильные вещества, сапонины, катехины, эфирные масла, танины, аскорбиновая кислота [2].

Ареал астрагала перепончатого охватывает юг Западной и Восточной Сибири, Приамурье. Вне России вид произрастает в Юго-Восточном Казахстане, Монголии, Корее, Северо-восточном, северном и северо-западном Китае. В коммерческих целях культивируют в Северо-Восточном Китае и КНДР. С 1925 года Astragalus membranaceus выращивается в Северной Америке.

В естественных условиях этот вид можно встретить на опушках и полянах лиственничных, сосновых, березовых лесов, в горных пихтовых и еловых лесах, степях, кустарниках, на суходольных и лесных лугах, степных каменистых, скалистых склонах, осыпях, по долинам, берегам рек, от равнины до верхнегорного пояса [2, 4].

Трава астрагала – богатый источник микроэлементов. Среди них кремний, фосфор, кальций, цинк, титан, натрий и марганец. Астрагал также накапливает селен. Растение содержит много железа [3].

Биопрепараты на основе астрагала перепончатого обладают тонизирующим свойствами, применяются при общей усталости или затяжной депрессии.

По данным исследований, астрагал эффективен для снятия воспалений. Также отвары из этого растения усиливают иммунные реакции организма и помогают ему эффективно бороться с патогенными бактериями и вирусами. В народной медицине астрагал уже сотни лет известен как эффективное средство для улучшения работы сердечно-сосудистой системы. Комбинированное воздействие микроэлементов и сложных органических соединений укрепляет сосуды, улучшает циркуляцию крови, насыщает её кислородом и железом. Антиоксидантное воздействие флавоноидов, входящих в состав астрагала, нормализует уровень холестерина, снижая риск развития атеросклероза. Препараты на основе золототысячника помогают понизить содержание сахара в крови. Астрагал используются для лечения гипертонической болезни на ранней стадии [5].

Существует значительное количество публикаций, посвященных изучению фармакологической активности субстанций Астрагала перепончатого, свидетельствующих о его перспективности в качестве лекарственного средства.

Целью данного исследования являлось определение оптимальных технологических параметров экстрагирования, при которых достигается максимальная полнота извлечения сапонинов из различных частей растения (корень, трава) астрагала перепончатого.

Экспериментальная часть

Материалы и методы. Объектом исследования являлись две партии воздушно-сухого сырья (корень и трава) астрагала перепончатого – Astragalus membranaceus (Fisch.) Bunge, семейство бобовые (Fabáceae), заготовленные в 2018-2020 годах в Алтайском крае. Было подтверждено наличие сапонинов [4].

Таблица 1 – Результаты товароведческого анализа астрагала перепончатого

Наименование показателя		Экспериментальные данные	
		Астрагал перепончатый (корень)	Астрагал перепончатый (трава)
Влажность, %		5,54 ± 0,23	6,07 ± 0,12
Зола общая, %		2,9 ± 0,35	3,86 ± 0,65
Зола, не растворимая в 10% кислоте хлористоводородной		1,375 ± 0,02	2,72 ± 0,04
Другие части растения, не соответствующие установленному описанию сырья		Не обнаружены	Не обнаружены
Органические примеси, %		Не обнаружены	Не обнаружены
Тяжелые металлы		0,005 ± 0,0006	0,0031 ± 0,0002
Минеральные примеси		0,12 ± 0,02	0,04 ± 0,01
Содержание экстрактивных веществ, %	Вода	2,02 ± 1,02	3,12 ± 0,45
	Спирт этиловый 40 %	30,51 ± 1,22	34,03 ± 0,41
	Спирт этиловый 50 %	34,60 ± 1,17	35,20 ± 0,32
	Спирт этиловый 70 %	42,42 ± 0,92	37,74 ± 0,63
Фракционный состав, %	>2,0 мм, <3,0 мм	35,00 ± 0,07	23,07 ± 0,06
	>1,0 мм, <2,0 мм	25,88 ± 0,05	33,88 ± 0,05
	>0,5 мм, <1,0 мм	23,73 ± 0,05	28,73 ± 0,02
	<0,5 мм	7,33 ± 0,03	6,24 ± 0,07

Был провелен качественный анализ с целью подтверждения присутствия сапонинов в ЛРС. Предварительно проводили осаждение сапонинов добавлением ацетата свинца. В результате наблюдали реакцию пенообразования, которая подтвердила наличие данной группы соединений в сырье. Также по характеру и степени пенообразования определили групповую принадлежность сапонинов – тритерпеновая.

Таблица 2 – Результаты качественного анализа

Качественные реакции	Аналитический эффект	Результат
10% $NaNO_2$ и концентрированный раствор H_2SO_4	Изменение цвета	Кроваво-красное окрашивание
Хлороформ и концентрированный раствор H_2SO_4	Расслоение и окрашивание каждого слоя	Возникает желтое, переходящее в темно-коричневое окрашивание в нижнем (хлороформном) слое
Этанол, концентрированный раствор H_2SO_4 и $Fe_2(SO_4)_3$	Изменение цвета при повышении температуры	При нагревании появляется сине-зелёное окрашивание

Количественное определение сапонинов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии [1]. Лекарственное растительное сырье предварительно обезжиривали хлористым метиленом.

Изучили влияние следующих технологических факторов: природа экстрагента, соотношение сырье:экстрагент (модуль экстракции). Экстракцию проводили методом перколяции. Извлечения из ЛРС подкисляли концентрированным раствором H_2SO_4, с последующим термостатированием.

Таблица 3 – Влияние природы экстрагента на эффективность извлечения сапонинов из астрагала перепончатого

Экстрагент	Соотношение сырьё:экстрагент	Содержание сапонинов в извлечении из корня, %	Содержание сапонинов в извлечении из травы, %
Вода	1:20	2,02 ± 1,02	3,12 ± 0,45
Спирт этиловый 40 %	1:20	2 51 ± 1,22	34,03 ± 0,41
Спирт этиловый 50 %	1:20	2,87 ± 1,17	35,20 ± 0,32
Спирт этиловый 70 %	1:20	3,42± 0,92	37,74 ± 0,63

Установлено, при использовании спирта этилового 70% в качестве экстрагента достигается наибольшее истощение сырья Астрагала перепончатого.

Таблица 4 – Влияние модуля экстракции на эффективность извлечения сапонинов из астрагала перепончатого корня

Соотношение сырье : экстрагент	Содержание сапонинов в извлечении, %
1 : 8	0,73 ± 0,04
1 : 15	1,13 ± 0,03
1 : 20	2,41 ± 0,04
1 : 25	2,94 ± 0,03
1 : 30	0,90 ± 0,02

Исходя из полученных данных установлено, что увеличение соотношения сырьё:экстрагент улучшает эффективность процесса извлечения, при этом наибольший выход сапонинов получен при соотношении корень астрагала : 70 % этиловый спирт (1:25).

Таблица 5 – Влияние модуля экстракции на эффективность извлечения сапонинов из астрагала перепончатого травы

Соотношение сырье : экстрагент	Содержание сапонинов в извлечении, %
1 : 8	0,87 ± 0,08
1 : 15	2,56 ± 0,32
1 : 20	3,03 ± 0,57
1 : 25	1,46 ± 0,46

Исходя из полученных данных установлено, что увеличение соотношения сырьё:экстрагент улучшает эффективность процесса извлечения, при этом наибольший выход сапонинов получен при соотношении трава астрагала:70 % этиловый спирт (1:20).

Выводы

Установлено, что максимальное извлечение сапонинов достигается в различных условиях для каждого вида сырья. Так, для корня астрагала перепончатого необходимо использовать соотношение сырья:экстрагент 1:25, а для травы – 1:20.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях. ОФС.1.2.1.1.0003.15 // Государственная фармакопея РФ. Т. 1. XIV изд. 2018. [Электронное издание]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/751/

2. Растения семейства бобовые (Fabaceae LINDL.) в Красной книге Пензенской области / Л. А. Новикова [и др.] // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2013. Т. 22. N 3. С. 116-128.

3. Deng Z., Hu Q. Effect of Astragalus membranaceus polysaccharides on oxidative damage in skeletal muscle of exhaustive exercise rats // African Journal of Agricultural Research. 2011. Vol. 6(17). P. 4086-4090. DOI: 10.5897/AJAR11.457

4. Батоцыренова Э.Т., Шантанова Л.Н., Цыренжапова О.-Д. Антигипоксические свойства сухого экстракта астрагала перепончатого // Бюллетень Восточно-сибирского научного центра СО РАМН. 2012. N 4(1). С. 178-180.

5. Применение адаптогенов в онкологии / А.К. Антонов [и др.] // Вестник службы крови России. 2011. N 2. С. 23-26.

SUMMARY

STUDY OF EXTRACTION OF SAPANNINS FROM ASTRAGALUS MEMBINA

Lokhmatova D.E., 4th year student
Scientific supervisor: **Aroyan M.V.,** Ph.D., senior lecturer,
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: olohmatova@gmail.com

The influence of technological parameters on the completeness of the extraction of saponins from Astragalus membranus was studied. Based on the results obtained, the optimal conditions for the extraction of saponins from astragalus membranous root and grass were selected.

Keywords: *saponins, extraction, membranous astragalus, spectrophotometry, percolation.*

REFERENCES

1. Spektrofotometrija v ul'trafioletovoj i vidimoj oblastjah. OFS.1.2.1.1.0003.15 // Gosudarstvennaja farmakopeja RF. Vol. 1. XIV izd. 2018. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/751/ (in Russian).

2. Plants of the legume family (Fabaceae LINDL.) in the Red Book of the Penza Region / L.A. Novikova [et al.] // Samarskaya Luka: problems of regional and global ecology. 2013. Vol. 22(3). P. 116-128. (in Russian).

3. Deng Z., Hu Q. Effect of Astragalus membranaceus polysaccharides on oxidative damage in skeletal muscle of exhaustive exercise rats // African Journal of Agricultural Research. 2011. Vol. 6(17). P. 4086-4090. DOI: 10.5897/AJAR11.457

4. Batotsyrenova E.T., Shantanova L.N., Tsyrenzhapova O.–D. Antihypoxic properties of dry extract of astragalus membranosus // Bulletin of the East-Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences. 2012. N 4(1). P. 178-180. (in Russian).

5. The use of adaptogens in oncology / A.K. Antonov [et al.] // Bulletin of the blood service of Russia. 2011. N 2. P. 23-26. (in Russian).

УДК 628.164

МЕТОДЫ ОБЕССОЛЕВАНИЯ ПРИРОДНЫХ ВОД И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Магдиев С.Х., студ. 3 курса
Руководитель: **Александрова Л.Ю.,** преп. кафедры ПАХТ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: sabir.magdiev@spcpu.ru

В данной статье рассматривается важность умягчения воды в промышленности, ставится цель поверхностного ознакомления с основными методами умягчения воды для успешного протекания технологических процессов, областью их применения, их достоинства и недостатки, а также приводится метод умягчения воды для оценки эффективности его использования.

Ключевые слова: *умягчение воды, жесткость воды, накипь, методы умягчения, термические методы, реагентные методы, термохимические методы, физические методы, мембранные методы, ионообменные методы, известково-сульфатный метод, показатели фильтрования.*

Для самых различных отраслей промышленности в технологических процессах применяется умягченная вода. Под умягчением воды подразумевается процесс удаления из нее катионов кальция и магния. На предприятиях пищевой и химической промышленности необходима вода с низким уровнем жесткости, в пределах 1 мг-экв/л. В системах, работающих под высоким давлением, например, в котлах, жесткость воды должна быть менее 0,3 мг-экв/л [1, 2].

Необходимость в использовании мягкой воды связана с образованием накипи на внутренней поверхности труб. Уменьшение жесткости воды заключается в снижении концентрации солей кальция и магния [3].

Накипь образуется везде, где проходит горячая вода: в бойлерах, на стенках котлов, оседает в трубах горячего водоснабжения. Так как накипь обладает гораздо меньшей теплопроводностью, чем металл, из которого изготовлены нагревательные элементы или трубы, на подогрев воды расходуется больше времени.

Из-за низкой теплоотдачи накипи нагревательные элементы перегреваются, на них появляются вздутия, трещины и деформации, что приводит к поломке оборудования. Накипь также является причиной появления точечной коррозии [4], очагов ржавчины, разрушающей стенки труб и котлов. Это нередко является причиной аварийных ситуаций, сокращения межремонтных сроков и увеличения затрат на ремонт и обслуживание. По окончании отопительного сезона приходится выполнять трудоемкую и дорогостоящую процедуру удаления накипи с поверхности нагрева котлов и теплообменной аппаратуры.

Уменьшение диаметра теплообменных труб, низкая теплоотдача, значительный перерасход энергоносителей, рост количества вредных выбросов в атмосферу, перегрев поверхностей нагрева котлов, увеличение затрат на обслуживание и ремонт теплообменного оборудования, снижение срока службы теплообменного оборудования, снижение коэффициента полезного действия (КПД) – все это последствия образования накипи [4].

Целью данного исследования является ознакомление с основными методами умягчения воды.

Задачами данного исследования являлись:

- Ознакомление с основными методами умягчения воды;
- Определение области их применения;
- Определение их достоинств и недостатков;
- Оценка эффективности использования известково-сульфатного метода

К методам умягчения воды относятся:

- Термические методы;

• Реагентные методы;
• Термохимические методы;
• Физические методы;
• Мембранные методы;
• Ионообменные методы

Термический метод умягчения воды стоит применять при использовании карбонатных вод, идущих на питание котлов низкого давления, а также в сочетании с реагентными методами умягчения воды. Он основан на смещении углекислотного равновесия при ее нагревании в сторону образования карбоната кальция [1].

Данный метод обладает рядом преимуществ:

• Простота и надежность конструкции аппаратов и технологического процесса;
• Возможность использования низко потенциальной тепловой энергии;
• Слабая зависимость показателей экономической эффективности термоопреснительной установки от солесодержания минерализованной воды;
• Существенное снижение удельных капитальных и эксплуатационных затрат при увеличении единичной производительности термоопреснительной установки

К недостаткам термического опреснения можно отнести высокую энергоемкость.

Реагентное умягчение наиболее распространено на станциях водоподготовки и сводится к переводу солей кальция и магния в нерастворимые соединения, выпадающие в осадок.

К преимуществам метода можно отнести большое разнообразие способов проведения метода, а к недостаткам – малое использование метода, жесткие требования по дозированию реагентов.

Термохимическое умягчение применяют исключительно при подготовке воды для паровых котлов, так как в этом случае наиболее рационально используется теплота, затраченная на подогрев воды. Этим методом умягчение воды производят обычно при температуре воды выше 100 °С. Термохимический метод применяют с добавлением коагулянта и без него, поскольку большая плотность осадка исключает необходимость в его утяжелении при осаждении. Помимо коагулянта используют известь и соду с добавкой фосфатов и реже гидроксид натрия и соду. Применение гидроксида натрия вместо извести несколько упрощает технологию приготовления и дозирования реагента, однако экономически такая замена не оправдана в связи с его высокой стоимостью.

К преимуществам метода можно отнести применение более компактных установок по сравнению с другими методами.

К физическим методам относятся магнитная и ультразвуковая обработка воды.

Обработка воды в магнитном поле служит для борьбы с накипеобразованием. Метод считается эффективным при обработке вод кальциево-карбонатного класса составляющие около 80% вод всех водоемов нашей страны и охватывающие примерно 85% ее территории.

Широкое применение находит в конденсаторах паровых турбин, в парогенераторах низкого давления и малой производительности, различных теплообменных аппаратах, где применение других методов обработки воды экономически нецелесообразно. В устройствах, работающих на основе этого способа, применяются редкоземельные химические элементы. Если вода нагревается до 120 °С, использование таких приборов может быть бессрочным. Если вода нагревается свыше 120 °С, то эффективность устройств снижается.

Основными преимуществами магнитной обработки являются простота, дешевизна, безопасность и почти полное отсутствие эксплуатационных расходов.

Если магнитный метод можно считать методом предварительной обработки воды, то ультразвуковой метод относится к методу обработки соленой воды непосредственно в теплообменных аппаратах и применяется как с целью снижения ее накипеобразующих свойств, так и с целью ликвидации образовавшейся ранее накипи.

Достоинства:

• Обеспечивает высокое качество воды, не изменяя ее состав;
• Уничтожает болезнетворные микроорганизмы;
• Избавляет от помутнений и налета;
• Предотвращает появление накипи в теплообменнике;
• Увеличивает эксплуатационный срок оборудования;
• Удаляет водоросли;
• Не требует использования химических реагентов

Основные недостатки:

• Не все вредоносные микроорганизмы, вирусы и химические соединения уничтожаются;
• Ультразвуковое оборудование имеет очень высокую цену;
• Аппарат нуждается в регулярном профессиональном обслуживании

Мембранный способ заключается в прохождении воды под высоким давлением через мембранную пленку, сквозь которую не проходят соли. Качество воды с использованием данного метода значительно улучшается, однако такой способ имеет значительную стоимость из-за высокой цены самой мембраны и оборудования в целом [1].

Ионообменный метод заключается в прохождении воды через мелкозернистую смолу, после чего возникает процесс замены кальция и магния на натриевые элементы.

Ионообменный метод, являясь одним из самых эффективных методов водоподготовки, имеет неоспоримые преимущества перед другими методами фильтрации:

• Не образует осадка, который необходимо удалять при помощи дополнительных устройств;
• Технология ионообменного умягчения используется при высоких уровнях жесткости (100-200 мг-экв/л);
• Устраняет соли жесткости и другие вредные соединения;
• Эффективное функционирование в автоматическом режиме

К недостаткам можно отнести:

• Периодические затраты на регенерацию химических реагентов;
• Жесткие требования к утилизации отработанной смолы

Осаждение солей жесткости модельного раствора, содержащего 400 мг-экв/л кальция и 98 мг-экв/л магния, известково-сульфатным методом проводились с применением различных реагентов, а также при различных способах обработки суспензии перед фильтрованием. Результаты показали, что способ нагревания суспензии оказывает значительное влияние на остаточную жесткость и щелочность раствора, а также на показатели по фильтрованию.

В модельный раствор объемом 50 мл при постоянном перемешивании вводили различные дозы $Ca(OH)_2$: 100, 110, 120, 130% от стехиометрии на магний, после чего определяли остаточное содержание солей магния и кальция в растворе. Далее добавляли стехиометрическое количество кристаллического Na_2SO_4 на сумму магния и кальция. В ходе процесса протекают следующие химические реакции:

$$MgCl_2 + Ca(OH)_2 = Mg(OH)_2 + CaCl_2$$
$$CaCl_2 + Na_2SO_4 = CaSO_4 + 2NaCl$$

($MgCl_2$, CAS №7786-30-3, $Ca(OH)_2$, CAS №1305-62-0, $Mg(OH)_2$, CAS №1309-42-8, $CaCl_2$, CAS №10043-52-4, Na_2SO_4, CAS №7757-82-6, $CaSO_4$, CAS №10101-41-4, NaCl, CAS №7647-14-5).

В результате образовалась суспензия, которую подвергали электронагреву (ЭН) или обработке сверхвысокочастотным излучением (СВЧ) при различных мощностях до 95ºС, после чего проводили фильтрование с использованием стеклянного фильтра Шотта (100 пор). Определяли массу фильтрата и влажного осадка. Осадок промывали ацетоном и сушили при температуре 70ºС до постоянной массы. Для определения его влажности, производительности фильтрования по твердой фазе рассчитывали производительность по фильтрату. Фильтрат отбирали на анализ для определения остаточной жесткости и общей щелочности в растворе. В фильтрат дозировали $BaCO_3$ для достижения исходного Ж:Т = 50:1 и перемешивали в течение 30 минут. Протекают следующие реакции:

$$CaSO_4 + BaCO_3 = BaSO_4 + CaCO_3$$
$$Ca(OH)_2 + BaCO_3 = Ba(OH)_2 + CaCO_3$$

($CaSO_4$, CAS №10101-41-4, $BaCO_3$, CAS №513-77-9, $BaSO_4$, CAS №7727-43-7, $CaCO_3$, CAS №471-34-1, $Ca(OH)_2$, CAS №1305-62-0, $Ba(OH)_2$, CAS №17194-00-2).

Осаждение солей жесткости в виде гидроксида магния и сульфата кальция проводилось, как в отсутствии, так и при содержании 6 − 12 % NaCl. Результаты исследований представлены в таблице 1.

По данным таблицы 1 видно, присутствие в растворе хлорида натрия существенно влияет на показатели остаточной жесткости и щелочности при любом способе нагрева суспензии до 95ºС перед фильтрованием.

Таблица 1 – Влияние концентрации NaCl на остаточную жесткость и щелочность в исходном модельном растворе при последовательной подачи реагентов: $Ca(OH)_2$ (100% от стехиометрии на Mg), Na_2SO_4 (100% от стехиометрии на ∑(Mg и Ca)) и $BaCO_3$ (Ж:Т=50:1)

Содержание в растворе, мг-экв/л			Щелочность (мг-экв/л) и условия нагрева на 2 стадии	3 стадия ($BaCO_3$, Ж:Т=50:1)			
				$Ж_{ост}$, мг-экв/л		Щелочность, мг-экв/л	
NaCl	$Mg^{2+}+Ca^{2+}$ после 1 стадии	$Mg^{2+}+Ca^{2+}$ после 2 стадии		Перемешивание 30 мин	СВЧ-800Вт	Перемешивание 30 мин	СВЧ-800Вт
-	500,0	76,5	2, КН	38,5	19,2	8	12
3510	471,4	105,8	10, КН	38,5	13,5	8	6
4680	457,9	96,2	10, КН	42,3	13,5	6	6
5820	461,8	100,1	10, КН	48,1	34,6	8	6
7020	465,6	105,8	12, КН	57,7	38,5	8	8
-	500,0	107,7	2, СВЧ-800Вт	67,3	28,9	8	10
3510	471,4	111,6	12, СВЧ-800Вт	42,3	19,2	8	6
4680	457,9	105,8	6, СВЧ-800Вт	23,1	13,5	4	4
5820	461,8	111,6	8, СВЧ-800Вт	34,6	19,2	6	6
7020	465,6	115,4	2, СВЧ-800Вт	38,5	19,2	8	8

При обработке суспензии СВЧ мощностью 800Вт видим несколько завышенные показатели по остаточной жесткости по сравнению с электронагревом, что связано с измельчением кристаллов сульфата кальция.

Наличие в растворе хлорида натрия помимо остаточной жесткости влияет и на показатели по фильтрованию. Полученные результаты сведены в таблицу 2.

Таблица 2 – Влияние содержания хлорида натрия в растворе на показатели фильтрования

Содержание NaCl, %	Нагрев до 95°С на 2 стадии	Норма реагентов, % от стехиометрии		Производительность фильтрования, т/(м²·ч)		Влажность осадка, W, %
		1 стадия $Ca(OH)_2$	2 стадия Na_2SO_4	$П_т \cdot 10^2$	$П_ф$	
0	КН, 10 мин	100	100	23,3	5,4	68
6		100	100	21,7	5,8	69
8		100	100	20,1	5,5	68
10		100	100	16,4	4,5	69
12		100	100	15,1	4,0	69
0	СВЧ-800Вт, 35 сек	100	100	24,2	5,7	69
6		100	100	23,3	5,6	69
8		100	100	17,0	5,2	70
10		100	100	12,7	3,4	70
12		100	100	10,2	3,2	72

По данным таблицы 2 можно сделать вывод, что увеличение концентрации хлорида натрия от 0 до 12 % в растворе приводит к снижению съема твердой фазы.

При обработке СВЧ мощностью 800Вт также наблюдается снижение производительности фильтрования по осадку при увеличении содержания хлорида натрия в растворе от 0 до 6% от $24{,}2 \cdot 10^{-2}$ до $23{,}3 \cdot 10^{-2}$ т/(м²·ч) (на 3,7%), при увеличении концентрации NaCl от 0 до 8% происходит снижение съема твердой фазы на 29,8%. Повышение содержания хлорида натрия в растворе от 0 до 10% снижает производительность фильтрования по осадку на 47,5%, при увеличении концентрации NaCl до 12% происходит уменьшение съема твердой фазы уже на 57,9%.

Были проведены исследования по влиянию мощности СВЧ обработки суспензии на остаточную жесткость и производительность фильтрования по осадку модельного раствора, содержащего 400 мг-экв/л кальция, 98 мг-экв/л магния и 1452 мг-экв/л NaCl (8%). Полученные результаты занесены в таблицу 3.

Таблица 3 – Зависимость остаточной жесткости и производительности фильтрования по осадку от мощности СВЧ обработки суспензии на 2 стадии при последовательной подаче реагентов: $Ca(OH)_2$, Na_2SO_4

Нагрев до 95°С на 2 стадии	Остаточная жесткость, мг-экв/л	Щелочность мг-экв/л	Производительность фильтрования, т/(м²·ч)		Влажность осадка, W, %
	2 стадия	2 стадия	По осадку, $П_т \cdot 10^2$	По фильтрату, $П_ф$	
СВЧ-800Вт, 35 сек	105,8	6	17,0	5,2	70
СВЧ-450Вт, 1 мин	63,5	8	7,2	1,9	73
СВЧ-100Вт, 3,5 мин	51,9	8	4,9	1,4	62

По данным таблицы 3 можно сделать вывод, что при снижении мощности СВЧ обработки раствора остаточная жесткость существенно снижается, но при этом снижается и съем твердой фазы.

Приведенные результаты показали, что применение обработки суспензии СВЧ мощностью 100 и 450Вт нецелесообразно, исходя из показателей по фильтрованию, а именно, производительности по осадку и фильтрату.

Умягчение воды является важным этапов водоподготовки, без которого не могут обойтись многие промышленные предприятия, поэтому очень важно иметь общее представление о некоторых методах, которые могут быть использованы для осуществления этого процесса. Доказательство эффективности применения одного из методов установлено экспериментально.

Тематические рубрики

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.00 Технология химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусева К.А. Анализ методов умягчения воды в структуре жилищно-коммунального хозяйства// Вестник науки. 2021. Т. 4. N 5. С. 177-186.

2. Вайцель А.А. Методы умягчения воды // Наука, образование и культура 2020. N 2. С. 7-8.

3. Исмоилова М.А., Мирзорахимов К.К., Камилов Х.Ч. Умягчение воды методом ионной адсорбции// Достижения Вузовской науки. 2013. С. 282-286.

4. Мартынова Н.К. Электрохимический метод умягчения воды и его применение в энергетике// Электрификация и автоматизация сельского хозяйства. 2015. N 6. С. 45-49.

SUMMARY

METHODS OF DESALINATION OF NATURAL WATERS AND THE EFFECTIVENESS OF THEIR APPLICATION

Magdiev S.H., 3rd year bachelor student
Scientific supervisor: **Aleksandrova L.Y.,** Lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: sabir.magdiev@spcpu.ru

This article discusses the significance of water softening in industry, provides examples of specific methods of water softening for the successful flow of technological processes, possible scope of their application, their advantages and disadvantages, gives an example of one method to evaluate the effectiveness of its use.

Keywords: *water softening, water hardness, scale, softening methods, thermal methods, reagent methods, thermochemical methods, physical methods, membrane methods, ion exchange methods, lime-sulfate method, filtration indicators.*

REFERENCES

1. Guseva K.A. Analysis of water softening methods in the structure of housing and communal services // Bulletin of science. 2021. Vol.4(5). P. 177-186. (in Russian)

2. Weitsel A.A. Water softening methods // Science, education and culture. 2020. N 2. P. 7-8. (in Russian)

3. Ismoilova M.A., Mirzorakhimov K.K., Kamilov Kh.Ch. Water softening by ion adsorption // Achievements of Higher Education Science. 2013. P. 282-286. (in Russian)

4. Martynova N.K. Electrochemical method of water softening and its application in the energy sector // Electrification and automation of agriculture. 2015. N 6. P. 45-49. (in Russian)

УДК 66.0

КОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНЫ

Медведева С.С., Темная Ю.А., Пушкарева А.К., студ. 2 курса
Руководитель: **Воднева Л.Ю.**, кандидат физико-математических наук
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: sofya.medvedeva@spcpu.ru

В статье представлен краткий обзор актуальной темы композиционных материалов, их роль в разных сферах жизни человека.

Ключевые слова: *композиционные материалы, стоматология, машиностроение, синтетические полимеры, полимерные материалы, хирургия.*

Современный человек сталкивается с полимерными материалами не только в технике, но и в повседневной практике, поэтому знание основных свойств этих материалов и умение правильно использовать их постепенно становятся необходимыми все более широкому кругу людей.

Полимерные композиционные материалы представляют собой гетерогенные системы, состоящие из двух или более компонентов, различающихся по химическому составу, физикомеханическим характеристикам и разделенных в материале четко выраженной границей, причем одни из компонентов являются армирующими составляющими, а другие – связующими матрицами.

Развитие технологии композиционных полимерных материалов в настоящее время определяется научными исследованиями в области полимерного материаловедения, поскольку проблема взаимодействия наполнителей и матриц весьма многогранна. Сегодня в промышленно развитых странах производство изделий из полимерных композиционных материалов в машиностроении неуклонно растет, поскольку эти материалы позволяют добиться существенного улучшения качества и снижения веса изделий, в том числе работающих в экстремальных условиях, при одновременном увеличении их надежности и ресурса.

Одним из важнейших условий конкурентоспособности полимерных композиционных материалов является оптимальное сочетание их технологичности в производстве деталей с высокими эксплуатационными характеристиками (прочностью, жесткостью, износостойкостью) и низкой стоимостью. Конечно, высокотехнологичные конструкционные полимеры не экономичнее стали или алюминиевого сплава, и процесс формования деталей из полимеров длительнее, чем штамповка стального листа, но зато им не требуется защита от коррозии.

Применение имплантатов, изготовленных из композитных материалов, сейчас является очень актуальным в сфере хирургии. Во-первых, это наиболее эффективный метод для лечение поврежденной костной ткани, различными патологиями или посторонним вмешательством.

Соответственно, для восстановления костных дефектов используют материалы синтетического и природного происхождения. Их огромное преимущество по сравнению с металлическими имплантатами состоит в том, что они не требуют повторного хирургического вмешательства ввиду устранения боли, раздражения или развития патологий. Также, при наличии металлического имплантата высока вероятность проблемы визуализации мягких тканей с помощью магнитно-резонансной томографии.

Решетить данную проблему на сегодняшний день можно использованием биологических и синтетических имплантатов. Все же, применение первых несет риск инфицирования и возникновения иммунного ответа, к тому же возникает необходимость дополнительных хирургических вмешательств для извлечения здоровой кости, что невозможно в случае обширных дефектов.

Разработка материалов исходя из строения кости. С синтетическими материалами также возможно наличие некоторых трудностей. Они заключаются в биосовместимости с тканью, биоактивности, механических свойствах, соответствующим костной ткани.

При разработке материалов для тканевой инженерии необходимо опираться в первую очередь на строение кости и ее химический состав. Основные компоненты кости – это фосфаты кальция (65 мас. %), коллаген (25 мас. %) и вода (10 мас. %). Кроме указанных веществ присутствуют другие органические соединения и ионы в малых количествах. По структуре кость представляет собой природный композит. Органическим компонентом кости является коллаген. Это спиральные полипептидные нити, стабилизированные водородными связями. Коллаген представлен в костной ткани волокнами длиной от 100 до 2000 нм. Неорганический компонент кости составляют кристаллические и/или аморфные фосфаты кальция, в частности гидроксиапатит (ГА) с анионными и катионными замещениями.

Для изготовления имплантатов были предложены некоторые материалы: фосфаты кальция, сплавы магния, биостекла, различные полимеры и их композиты. Ортофосфаты кальция применяются в восстановительной медицине более 50 лет. К сожалению, улучшение их физико-механических и био-химических свойств до сих пор является актуальным.

Синтетические полимеры. Синтетические полимеры характеризуются воспроизводимой и контролируемой молекулярной структурой, которая не является иммуногенной. Создают их полимеризацией. Так, полиметилметакрилат используют в качестве костного цемента при замене суставов – паста является связующим между металлическим протезом и трубчатой костью. Однако в процессе полимеризации выделяется тепло, что может привести к некрозу окружающих тканей. Полиуретаны благодаря своей гемосовместимости используют для изготовления имплантатов, контактирующих с кровью, а также для заполнения костных дефектов.

Существует достаточно синтетических полимеров, одобренных управлением по сан.надзору медикаментов для использования в медицине такие как: полилактид, полигликолид, и поли-ε-капролактон, а также их сополимеры. Полиэфиры получают поликонденсацией и полимеризацией.

Как пример, полигликолид используют для изготовления биоразлагаемых хирургических ниетй, а полилактид, как оптически активный полимер, является термопластом. Термодеструкцияполилактида происходит при температурах выше 200°С. Его получение возможно из возобновляемых растительных ресурсов, что является большим достоинством. Все это делает данный полимер столь популярным при созданииширокого спектра медицинских изделий, в том числе крепежных имплантатов и скаффолдов, используемых в ортопедии.

Композиты в стоматологии. Помимо практического применения в хирургии, композитные материалы так же широко используются в стоматологии. Основное применение в стоматологии – это лечение кариеса и использование в ортопедической стоматологии.

Композит является материалом особого свойства, поэтому надо чётко понимать, что называется композитным материалом. Композитами считаются стоматологические материалы, в состав которых входят определённые компоненты, придающие веществу особые технологические свойства. Существуют разнородные компоненты, которые могут добавлять в стандартные композитные материалы. В стоматологии же применяется только несколько основных. Среди них стоит выделить:

1. полимерный ингибитор;
2. наполнитель (самый лучший – это неорганический наполнитель);
3. катализаторы;
4. органическую матрицу;
5. разного рода красители.

Если подобрать правильную пропорцию всех вышеупомянутых компонентов, получается композит.

Достоинства композитов, если сравнивать с другими материалами:

1. Высокая прочность. Композиты выдерживает большую нагрузку, при этом не деформируясь;

2. Они обладают универсальностью. Легко можно выбрать состав для определённого случая, получив тем самым максимально эффективный результат работы. Также этот материал прекрасно подходит для любой стоматологической операции. Например, он одинаково хорошо себя проявляет во время реставрации фронтальных и жевательных зубов;

3. Отличается эстетической пластичностью. Ему легко можно придать нужный внешний вид, форму, цвет и прочее;

4. Полностью отвечает всем техническим свойствам нашего времени.

Недостатки полимерных материалов. У композитных материалов есть и недостатки. Например, иногда после их применения у пациентов могут наблюдаться осложнения, но самый главный, как показывают исследования, – это неумение стоматологов работать с композитными материалами. В 2014 году журнал «Институт стоматологии» совместно со Смоленской государственной медицинской академией провел исследование, которое выявило, что более половины практикующих врачей-стоматологов, которые в своей работе используют композитные материалы, не умеют правильно работать с ними.

Композитные материалы светового отверждения

Это однокомпонентная паста или жидкотекучая субстанция. Для полимеризации применяются светопоглощающие компоненты. Самым распространённым является камфорохинон. Под действием света образуются свободные радикалы. Плюсы в том, что нет необходимости в смешивании материала до однородности, затвердения. Можно корректировать цветоустойчивость, реставрацию, эстетические свойства.

Химическое отверждение

Речь идёт о микронаполненных составах, грибридах в виде пасты, порошка, жидкости. Среди преимуществ стоит назвать привлекательность вида, скорость реставрации. Материал отличается невысокой, мягкой усадкой.

Макронаполненные

Они считаются первыми веществами, вошедшими в историю композитов. По определённым параметрам они хуже современных субстанций. Плюсом является хорошая оптика, отличная прочность, неплохая рентгеноконтрастность.

Микронаполненный

Гарантирует высокую эстетичность результата, прекрасную полируемость. Когда-то размер частиц составлял 1 мкм, а на сегодняшний день – 0,04 мкм. Микронаполненный вариант используют при восстановлении резцов, изготовлении виниров прямо у пациента во рту. Плюсы заключаются в том, что материал не изнашивается, характеризуется полируемостью, сохраняет цвет, глянцевую поверхность.

Гибридные

Отличаются большой популярностью благодаря универсальности использования. Исключение – это полость кариеса, где доступ является ограниченным, потому применяется другая консистенция материалов. С этим композитом удобно работать, он очень прочный, универсальный, даёт привлекательный результат, обеспечивает хорошую рентгеноконтрастность.

Текучий

Он нужен, чтобы заполнять небольшие полости, и чтобы компенсировать усадку полимеров, обеспечивать качественное прилегание по краю. Преимущества: удобный процесс работы, полируемость, хорошая эстетика.

Ормокер

Материал является модифицированной керамикой. Это сырьё с низкой усадкой и долгим термином эксплуатации. С помощью модификации матрицы плотность субстанции повысилась, усадка уменьшилась, а количество остаточного мономера стало меньшим. Ормокер – прочный и с малой усадкой.

Нанокомпозит

Нанокластерный материал представляет перспективную группу. Его особенность в том, что используются наномеры и нанокластеры. Они гарантируют высокую наполняемость, гомогенность матрицы. Плюсы заключаются в хорошем внешнем виде, прекрасной полируемости. Сохраняет сухой блеск, малую усадку и отличную прочность.

Таким образом, композитные материалы нужно и можно использовать в стоматологии, но, как показывает практика, далеко не все стоматологи умеют с ними работать.

Выводы

Успехи химии в области синтеза новых полимерных материалов обеспечили возможность их широкого применения в самых различных отраслях. Дальнейшему расширению их использования препятствует недостаточная осведомленность научных работников в вопросах их прочности, надежности, долговечности и других эксплуатационных свойств.

Также, на данный момент было создано достаточно полимеров и разработано какое-то количество достойных синтетических имплантатов, которые сегодня применяют в сфере медицины. Но пока большинство материалов не обладают необходимым набором свойств, а именно достаточной механической прочностью, биоактивностью и способностью к биоразложению одновременно. Это предоставляет тканевой инженерии задачу, решение которой будет нести в себе прорыв в сфере хирургии, стоматологии и проч.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.25.15 Структура и свойства природных и синтетических высокомолекулярных соединений

67.01.97 Коррозия и защита от коррозии

67.09.45 Строительные материалы и изделия на основе полимеров

67.09.55 Композиционные материалы

ЛИТЕРАТУРА

1. Баженов С.Л. Механика и технология композиционных материалов. Долгопрудный: Интеллект, 2014. 332 с.

2. Баурова Н.И., Зорин В.А. Применение полимерных композиционных материалов при производстве и ремонте машин : учеб. пособие. М.: МАДИ, 2016. 264 с.

3. Бондалетова Л.И., Бондалетов В.Г. Полимерные композиционные материалы (часть 1) : учеб. пособие Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2013. 118 с.

4. Виллерсхаузен Б., Эрнст К. Влияние бактерий полости рта на поверхности стоматологических полимерных пломбировочных материалов // Клиническая стоматология. 1999. N 1. С. 4–9.

5. Виллерсхаузен Б., Эрнст К. Актуальное определение места стоматологических пломбировочных композитов // Клиническая стоматология. 2003. N 3. С. 10-21.

6. Материалы, методики и инструменты, применяемые при эстетической реставрации зубов композитными материалами (по данным анкетирования врачей-стоматологов) / А.И. Николаев [и др.]. // Институт стоматологии. 2014. N 3(64). С. 048-051.

SUMMARY

COMPOSITE MATERIALS AND THEIR APPLICATION IN THE FIELD OF MEDICINE

Medvedeva S.S., Temnaya Yu., Pushkareva A.K., 2nd year students
Supervisor: **Vodneva L.Yu.,** candidate of Physical and Mathematical Sciences.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: sofya.medvedeva@spcpu.ru

The article provides a brief overview of the current topic of composite materials, their role in various spheres of human life.
Keywords: *composite materials, dentistry, mechanical engineering, synthetic polymers, polymer materials, surgery.*

REFERENCES

1. Bazhenov S.L. Mechanics and technology of composite materials. Dolgoprudny: Intellect, 2014. 332 p. (in Russian)

2. Baurova N.I., Zorin V.A. The use of polymer composite materials in the production and repair of machines : textbook. manual Moscow: MADI, 2016. 264 p. (in Russian)

3. Bondaletova L.I., Bondaletov V.G. Polymer composite materials (part 1) : textbook. manual Tomsk: Publishing House of Tomsk Polytechnic University, 2013. 118 p. (in Russian)

4. Willershausen B., Ernst K. The influence of oral cavity bacteria on the surface of dental polymer filling materials // Clinical dentistry. 1999. N 1. P. 4-9. (in Russian)

5. Willershausen B., Ernst K. Actual determination of the place of dental filling composites // Clinical dentistry. 2003. N 3. P. 10-21. (in Russian)

6. Materials, techniques and tools used in the aesthetic restoration of teeth with composite materials (according to the survey of dentists) / A.I. Nikolaev [et al.] // Institute of Dentistry. 2014. N 3(64). P. 048-051. (in Russian)

УДК 615.453.8

ПРИМЕНЕНИЕ ТРЁХМЕРНОЙ ПЕЧАТИ В РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПЛЕНОК

Мишина П.А., студ. 2 курса (ORCID: 0000-0002-7063-3300)
Кондакова Ю.А., маг. 2 года обучения (ORCID: 0000-0001-5564-9147)
Руководитель: **Терентьева О.А.,** к.фарм.н., старший преподаватель (ORCID: 0000-0001-6391-2689)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: polina.mishina@spcpu.ru

Технология трехмерной печати сравнительно недавно появилась в области фармацевтической разработки.

Интеграция технологий трехмерной печати позволила ученым всего мира обозначить перспективы создания индивидуальных лекарственных препаратов как переход к персонализированной медицине. Преимуществами трехмерной печати в изготовлении лекарственных препаратов является возможность точно контролировать пространственное распределение биологически активных веществ в составе лекарственных форм, создание любых геометрических форм, модификация высвобождения лекарственных веществ в зависимости от потребности пациента. В данном обзоре представлены методы трехмерной печати, пригодные для производства лекарственных пленок.

Ключевые слова*: 3D печать, аддитивные технологии, лекарственные плёнки, струйная печать (*IJP*), SSE печать, FPT печать, FDM печать.*

Пероральный способ является наиболее предпочтительным и наименее инвазивным среди множества различных способов введения лекарственных препаратов, благодаря простоте и безболезненности введения, соблюдению точной дозировки, соблюдению режима приема пациентом. Несмотря на преимущества использования традиционных лекарственных форм, таких как капсулы и таблетки, их применение может быть ограничено, особенно для пациентов, имеющих проблемы с глотанием (дисфагия, детский возраст, эпилептический приступ и др.) или страдающих психоневрологическими расстройствами (депрессия, шизофрения, деменция и др.). Современной альтернативой традиционным твердым формам с пероральным введением являются фармацевтические пленки. Пленка представляет собой твердую лекарственную форму в виде одно- или многослойной пластинки, фиксирующейся за счет адгезии к слизистой ротовой полости или распадающейся во рту при соприкосновении со слюной. Персонализированные лекарственные пленки можно создавать методами трехмерной печати [1-5].

Трехмерная печать является одной из форм аддитивных технологий [6]. Термин «аддитивные технологии» подразумевает технологии по созданию объектов за счет нанесения последовательных слоев материала. Структура создается путем осаждения или связывания материалов в последовательных слоях для создания трехмерного объекта.

Целью работы является обзор литературы по способам получения мукоадгезивных пленок методами аддитивного производства.

Методы трехмерной печати систем в разработке лекарственных пленок.

Методы трехмерной печати классифицируются по способу создания трехмерного объекта и материалов, применяемых при печати.

Струйная печать

Процесс струйной печати лекарственных пленок состоит из трех основных этапов:

(1) приготовление чернил, содержащих лекарственные вещества в виде раствора или суспензии;

(2) нанесение чернил на съедобную подложку запрограммированным способом;

(3) сушка готовой лекарственной формы.

Исходя из механизма формирования капель, технологии струйной печати можно разделить на непрерывную струйную печать и струйную печать по требованию. Принтеры, осуществляющие данный вид печати, характеризуются наличием головки принтера и специальным механизмом, позволяющим контролировать скорость образования капель [7-9].

При разработке чернил для струйной печати следует учитывать тип применяемого принтера и механизм формирования капель. Чернила должны быть оптимизированы с точки зрения вязкости, поверхностного натяжения, температуры кипения и скорости испарения растворителя.

Поверхностное натяжение должно быть достаточно высоким, чтобы обеспечить образование сферических капель и противостоять утечке чернил из печатающей головки, когда принтер не работает. Вязкость должна быть достаточно низкой, чтобы жидкость могла выбрасываться струей, но достаточно высокой, чтобы жидкость не выбрасывалась слишком быстро, что может привести к образованию хвоста, приводящего к дефектам печати.

Важно, чтобы капли приземлялись в назначенную координату на подложке, поскольку в противном случае невозможно обеспечить однородность дозирования и получения однородных пленок. В состав чернил могут входить поверхностно-активные вещества и модификаторы вязкости. В качестве модификаторов вязкости обычно используются гликоли, такие как полиэтиленгликоль и глицерин, а также увлажнители, чтобы избежать засорения сопла из-за быстрого испарения растворителя. Растворитель следует выбирать в зависимости от растворимости препарата и используемой технологии печати.

В качестве альтернативы струйной печати была предложена технология *флексографической печати* [10-12].

Флексографическая печать – это офсетный ротационный процесс печати, при котором чернила, содержащие действующее вещество, дозируется анилоксовым валиком на отлитую плацебо пленку. Затем растворитель удаляется вентилятором, и пленка сворачивается в рулон или нарезается на более мелкие пленки.

Однако при использовании флексографической печати возникают проблемы, связанные с заполнением ячеек анилоксового валика чернилами и их переносом из ячейки на пленку. Наиболее важными факторами, влияющими на качество печати, являются вязкость раствора, контактные углы валов, размером кристаллов при создании суспензии.

Как струйная, так и флексографичесая печать позволяют получить пленки, отличающиеся по механическим свойствам и стабильности по сравнению с пленками, приготовленными методом литья. Данные технологии печати более универсальны и просты в использовании, чем другие технологии (например, отливание из раствора, электроспиннинг). Кроме того, персонализированные пленки могут быть изготовлены с помощью струйной печати в условиях аптеки, поскольку фармацевтический принтер аналогичен обычному струйному принтеру и управляется стандартным программным обеспечением. Тем не менее, основными недостатками струйной печати являются: небольшой объем чернил, содержащих лекарственное вещество, который можно одномоментно поместить в принтер, непродолжительный срок годности готовых чернил.

Печать послойным наплавлением (FDM-печать) может стать альтернативой струйной и флексографической печатями при изготовлении лекарственных пленок [13-17].

FDM-печать предполагает наплавление расплавленных термопластичных полимерных нитей через два нагретых экструзионных валика с небольшим отверстием в определенный трехмерный рисунок укладки, который впоследствии застывает на платформе принтера.

Принтер обычно состоит из печатающей головки с программным управлением, которая перемещается по осям x и y, и платформы, которая может быть термостатирована, перемещающаяся вертикально по оси z, создавая трехмерные структу-

ры слой за слоем с толщиной 100-300 мкм путем укладывания слоев друг на друга. Критические параметры данного вида печати связаны со скоростью работы принтера, плотностью заполнения готового объекта, высотой слоев и температурой как сопла, так и платформы принтера.

Основным недостатком данной технологии является протекание процесса при нагревании, что может привести к температурной деградации лекарственных и вспомогательных веществ.

Полужидкостная (SSE) печать является инновационным и перспективным методом трехмерной печати, который, по сравнению с другими технологиями, подходит для изготовления персонализированных лекарственных форм при комнатной температуре без подготовки филаментов с действующими веществами и вспомогательных материалов в виде подложек. Распространение данного вида печати может быть реализовано в рамках больничных аптеках для изготовления персонализированных препаратов [18, 19].

Метод полужидкостной печати основан на непрерывной экструзии полутвердых материалов из шприцев под давлением, обычно варьирующемся от 3 до 5 бар, для изготовления желаемой трехмерной структуры. Результаты современных исследований свидетельствуют о том, что SSE-печать является эффективным методом изготовления жевательных лекарственных форм различной формы и цвета, пленок, и что эта методика может улучшить приверженность педиатрических пациентов к приему лекарств в будущих клинических условиях.

Заключение

Таким образом, технологии трехмерной печати в разработке лекарственных пленок на данный момент являются наиболее перспективными и динамично развивающимися направлениями в фармацевтической технологии индивидуальных лекарственных препаратов, внедрение которых тесно связано с развитием персонализированной медицины.

Трехмерная печать не только позволяет производить пациентоориентированные лекарственные препараты различных форм, но и сокращает количество стадий их производства, количество необходимого оборудования и места в производственном помещении для него. За счет уменьшения количества стадий производства увеличивается выход готового продукта, а также снижается риск возможной контаминации продукта.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАУРА

1. A Systematic Review on Oral Drug Delivery as a Fast Dissolving Film to Improve Therapeutic Effectiveness / N.S. Kulkarni [et al.] // Research Journal of Pharmacy and Technology. 2021. Vol. 14(3). P. 1771-1778. DOI: 10.5958/0974-360x.2021.00315.2

2. Hoffmann E.M., Breitenbach A., Breitkreutz J. Advances in orodispersible films for drug delivery // Expert Opin. Drug Deliv. 2011. Vol. 8(3). P. 299–316. DOI: 10.1517/17425247.2011.553217

3. Thin films as an emerging platform for drug delivery / S. Karki [et al.] // Asian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016. Vol. 11(5). P. 559-574. DOI: 10.1016/j.ajps.2016.05.004

4. Morales J.O., McConville J.T. Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2018. Vol. 77(2). P. 1-10. DOI: 10.1155/2018/2403802

5. Doaa E., Nevinenevine S.A. Formulation of a Novel Tianeptine Sodium Orodispersible Film // AAPS PharmSciTech. 2010. Vol. 11(3). P. 1018-1025. DOI: 10.1208/s12249-010-9464-2

6. Nicotine Fast Dissolving Films Made of Maltodextrins: A Feasibility Study / F. Cilurzo [et al.] // AAPS PharmSciTech. 2010. Vol. 11(4). P. 1511-1517. DOI: 10.1208/s12249-010-9525-6

7. Patil H., Tiwari R.V., Repka M.A. Hot-Melt Extrusion: from Theory to Application in Pharmaceutical Formulation // AAPS PharmSciTech. 2016. Vol. 17. P. 20–42. DOI: 10.1208/s12249-015-0360-7

8. Applications of hot-melt extrusion for drug delivery / M.A. Repka [et al.] // Expert Opinion on Drug Delivery. 2009. Vol. 5(12). P. 1357-1576. DOI: 10.1517/17425240802583421

9. Effects of formulation composition on the characteristics of mucoadhesive films prepared by hot-melt extrusion technology / A.M. Bhagurkar [et al.] // J. Pharm. Pharmacol. 2019. Vol. 71(3). P. 293–305. DOI: 10.1111/jphp.13046

10. Novel nicotinamide skin-adhesive hot melt extrudates for treatment of acne / M. Nasr [et al.] // Expet Opin. Drug Deliv. 2018. Vol. 15(12). P. 1165–1173. DOI: 10.1080/17425247.2018.1546287

11. Development and evaluation of an oral fast disintegrating anti-allergic film using hot-melt extrusion technology / M.B. Pimparade [et al.] // Eur. J. Pharm. Biopharm. 2017. Vol. 119. P. 81–90. DOI: 10.1016/j.ejpb.2017.06.004.

12. Characterization of cellulosic hot-melt extruded films containing lidocaine / M.A. Repka [et al.] // European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics. 2005. Vol. 59(1). P. 189-196. DOI: 10.1016/j.ejpb.2004.06.008

13. Reddy M. An Introduction to Fast Dissolving Oral Thin Film Drug Delivery Systems: A Review // Journal of Pharmaceutical Study and Research. 2020. Vol. 12(7). P. 925-940. DOI: 10.2174/1567201810061311251502 49

14. Preis M., Breitkreutz J., Sandler N. Perspective: concepts of printing technologies for oral film formulations // Int J Pharm. 2015. Vol. 494(2). P. 578–584. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.02.032.

15. Personalised dosing: printing a dose of one's own medicine / M. Alomari [et al.] // Int J Pharm. 2015. Vol. 494(2). P. 568–577. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.12.006.

16. Narkevich I.A. Additive Manufacturing Technologies for Pharmaceutics // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018. Vol. 51(11). P. 1025-1029. DOI 10.1007/s11094-018-1733-5.

17. Inkjet printing for pharmaceutics – a review of research and manufacturing / R. Daly [et al.] // Int J Pharm. 2015. Vol. 494(2). P. 554–567. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.03.017.

18. Janssen E.M., Schliephacke R., Breitenbach A. Drug-printing by flexographic printing technology – a new manufacturing process for orodispersible films // Int J Pharm. 2013. Vol. 441. P. 818–825. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.12.023

19. Rathore K.S., Nema R.K., Sisodia S.S. Timolol maleate a gold standard drug in glaucoma used as ocular films and inserts: an overview // Int J Pharm Sci Rev Res. 2010. Vol. 3(1). P. 23–29.

SUMMARY

STUDY OF THE EFFECT OF POLYMER CONCENTRATION ON THE PROPERTIES OF PHARMACEUTICAL FILMS

Mishina P.A., 2nd year student, **Kondakova Y.A.,** 2nd year master student.
Scientific supervisor: **Terenteva O.A.,** candidate of pharmaceutical sciences
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: polina.mishina@spcpu.ru

Three-dimensional (3D) printing technology has recently emerged in the pharmaceutical field as an important step toward personalized medicine. The advantage of using 3D printing in dosage form (DF) manufacturing is the ability to precisely control the spatial distribution of the active pharmaceutical ingredient (API) in the pharmaceutical forms, as well as the ability to use different tablet geometries to adjust the release rate depending on patient need. This review presents methods of drug film manufacturing using 3D printing.

***Keywords*:** *pharmaceutical films, three-dimensional printing, additive technologies, inkjet printing, SSE printing, FPT printing, FDM printing.*

REFERENCES

1. A Systematic Review on Oral Drug Delivery as a Fast Dissolving Film to Improve Therapeutic Effectiveness / N.S. Kulkarni [et al.] // Research Journal of Pharmacy and Technology. 2021. Vol. 14(3). P. 1771-1778. DOI: 10.5958/0974-360x.2021.00315.2

2. Hoffmann E.M., Breitenbach A., Breitkreutz J. Advances in orodispersible films for drug delivery // Expert Opin. Drug Deliv. 2011. Vol. 8(3). P. 299–316. DOI: 10.1517/17425247.2011.553217

3. Thin films as an emerging platform for drug delivery / S. Karki [et al.] // Asian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016. Vol. 11(5). P. 559-574. DOI: 10.1016/j.ajps.2016.05.004

4. Morales J.O., McConville J.T. Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2018. Vol. 77(2). P. 1-10. DOI: 10.1155/2018/2403802

5. Doaa E., Nevinenevine S.A. Formulation of a Novel Tianeptine Sodium Orodispersible Film // AAPS PharmSciTech. 2010. Vol. 11(3). P. 1018-1025. DOI: 10.1208/s12249-010-9464-2

6. Nicotine Fast Dissolving Films Made of Maltodextrins: A Feasibility Study / F. Cilurzo [et al.] // AAPS PharmSciTech. 2010. Vol. 11(4). P. 1511-1517. DOI: 10.1208/s12249-010-9525-6

7. Patil H., Tiwari R.V., Repka M.A. Hot-Melt Extrusion: from Theory to Application in Pharmaceutical Formulation // AAPS PharmSciTech. 2016. Vol. 17. P. 20–42. DOI: 10.1208/s12249-015-0360-7

8. Applications of hot-melt extrusion for drug delivery / M.A. Repka [et al.] // Expert Opinion on Drug Delivery. 2009. Vol. 5(12). P. 1357-1576. DOI: 10.1517/17425240802583421

9. Effects of formulation composition on the characteristics of mucoadhesive films prepared by hot-melt extrusion technology / A.M. Bhagurkar [et al.] // J. Pharm. Pharmacol. 2019. Vol. 71(3). P. 293–305. DOI: 10.1111/jphp.13046

10. Novel nicotinamide skin-adhesive hot melt extrudates for treatment of acne / M. Nasr [et al.] // Expet Opin. Drug Deliv. 2018. Vol. 15(12). P. 1165–1173. DOI: 10.1080/17425247.2018.1546287

11. Development and evaluation of an oral fast disintegrating anti-allergic film using hot-melt extrusion technology / M.B. Pimparade [et al.] // Eur. J. Pharm. Biopharm. 2017. Vol. 119. P. 81–90. DOI: 10.1016/j.ejpb.2017.06.004.

12. Characterization of cellulosic hot-melt extruded films containing lidocaine / M.A. Repka [et al.] // European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics. 2005. Vol. 59(1). P. 189-196. DOI: 10.1016/j.ejpb.2004.06.008

13. Reddy M. An Introduction to Fast Dissolving Oral Thin Film Drug Delivery Systems: A Review // Journal of Pharmaceutical Study and Research. 2020. Vol. 12(7). P. 925-940. DOI: 10.2174/1567201810061311251502 49

14. Preis M., Breitkreutz J., Sandler N. Perspective: concepts of printing technologies for oral film formulations // Int J Pharm. 2015. Vol. 494(2). P. 578–584. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.02.032.

15. Personalised dosing: printing a dose of one's own medicine / M. Alomari [et al.] // Int J Pharm. 2015. Vol. 494(2). P. 568–577. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.12.006.

16. Narkevich I.A. Additive Manufacturing Technologies for Pharmaceutics // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2018. Vol. 51(11). P. 1025-1029. DOI 10.1007/s11094-018-1733-5.

17. Inkjet printing for pharmaceutics – a review of research and manufacturing / R. Daly [et al.] // Int J Pharm. 2015. Vol. 494(2). P. 554–567. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.03.017.

18. Janssen E.M., Schliephacke R., Breitenbach A. Drug-printing by flexographic printing technology – a new manufacturing process for orodispersible films // Int J Pharm. 2013. Vol. 441. P. 818–825. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.12.023

19. Rathore K.S., Nema R.K., Sisodia S.S. Timolol maleate a gold standard drug in glaucoma used as ocular films and inserts: an overview // Int J Pharm Sci Rev Res. 2010. Vol. 3(1). P. 23–29.

УДК 665.632

РАЗРАБОТКА И МОДЕЛИРОВАИЕ ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ СХЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ КИСЛОРОДА МЕДИЦИНСКОГО

Муллаева В.Н., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Сорокин В.В.,** к.ф.н., зав. каф. ПАХТ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: mullaeva.valeriya@pharminnotech.com

Проведено моделирование химико-технологической схемы получения кислорода медицинского методом криогенного разделения воздуха. На основе проведенного энергетического анализа определен энергетический потенциал смоделированной системы.

Ключевые слова: *кислород медицинский, моделирование, криогенное разделение воздуха, оптимизация, пинч-анализ.*

Начавшаяся в 2020 года пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19) выявила острую нехватку кислорода медицинского для обеспечения нужд здравоохранения.

Представляет интерес исследование возможности получения кислорода медицинского из атмосферного воздуха. Наиболее эффективным, на сегодняшний момент, способом решения этой задачи является организация процесса криогенного разделения воздуха. Глубокое разделение компонентов осуществляется только в процессе непрерывной дистилляции. При этом наиболее экономичным, с точки зрения получения кислорода высокой чистоты, является процесс двухколонной криогенной дистилляции.

Медицинский кислород – прозрачный газ, без запаха и вкуса, немного тяжелее воздуха, малорастворим в воде, с объемной долей кислорода не менее 99,5%. При нормальном атмосферном давлении и при температуре -183°С он начинает переходить в жидкое состояние, при -219°С замерзает [1].

Кислород медицинский (КМ) входит в группу важнейших лекарственных препаратов (ЛП) и широко применяется на всех уровнях здравоохранения и практически во всех лечебнопрофилактических организациях [2].

Целью настоящей работы являлось моделирование химико-технологической схемы получения кислорода медицинского, основанное на криогенном процессе разделения воздуха в среде Aspen V. 12.1, а также оценка энергетической эффективности полученной модели с использованием компонентов Aspen Energy Analyzer V. 12.1.

Рассматривалась двухколонная схема проведения процесса. Колонны работают при разных давлениях – колонны низкого (LP|НД) и высокого давления (HP|ВД)– и плотно интегрированы в теплообмен, чтобы минимизировать эксплуатационные расходы и поддерживать очень низкий уровень температуры технологического процесса. Многоступенчатые компрессоры используются для увеличения давления подаваемого воздуха, за которым следует сжижение с использованием многопоточных теплообменников (MHEX). Сжиженный воздух подается на перегонную колонну для разделения азота и кислорода. Кислород особой чистоты получают снизу колонны LP, тогда как азот высокой чистоты может быть получен либо из верхней части колонки LP или сверху обеих колон LP и HP [12].

Моделирование проводилось в среде Aspen V. 12.1. и Aspen Energy Analyzer V. 12.1. Исходные данные для расчета соответствуют свойствам исходной смеси – атмосферного воздуха. В этом исследовании для модели определены следующие параметры:

- расход воздуха = 500 тонн / час (1 тонна = 1000 кг = 1 Мг);
- влажность воздуха = 50%;
- состав воздуха: 76,87% N2, 20,62% O2, 0,92% Ar, 1,56% H2O, 0,03% CO2;
- изэнтропический КПД компрессора = 72%;
- изэнтропический КПД насоса = 80%;
- перепад давления на теплообменнике = 10 кПа;
- подходящая температура в теплообменнике = 10°С;
- количество ступеней в колонке HP =60;
- количество ступеней в колонке LP =60;
- давление колонны ВД = 5,6 бар;
- давление колонны НД = 1,5 бар;

• суммарный перепад давления в колонне высокого давления = 0,2 бар;
• суммарный перепад давления в колонне низкого давления = 0,3 бар.

Имитационные модели устойчивого состояния были определены с использованием пакета свойств Пенг – Робинсона. Каждая ступень сжатия моделировалась с использованием комбинации блоков COMPR (для компрессора), HEATX (для промежуточного и дополнительного охладителей) и FLASH2 (для сепаратора). Адсорберы для удаления углекислого газа и остаточной влаги моделировались с помощью блока SEP. Дистилляционные колонны смоделированы с использованием блоков RADFRAC с уравновешивающими тарелками. Понижение давления потока между различными операциями осуществлено с помощью блоков VALVE.

Принципиальная схема процесса представлена на рисунке 1.

Давление подаваемого воздуха увеличивается с помощью многоступенчатого компрессора. Каждая ступень сжатия включает в себя компрессор, межступенчатый охладитель с водяным охлаждением и сепаратор. Сжатие подаваемого воздуха приводит к повышению его температуры. Сжатый воздух сначала охлаждается в межступенчатом охладителе, а затем направляется к сепаратору для удаления конденсата. В данной конфигурации воздух делится на две фракции после 2-й ступени сжатия. Одна фракция (S8) дополнительно сжимается с помощью третьей стадия сжатия с последующим удалением из воздуха углекислого газа и остаточной влаги с помощью адсорбера (С-2). Вторая фракция (S9) направляется непосредственно в адсорбер (S-1) для удаления углекислого газа и остаточной влаги. Два потока, выходящие из секции сжатия (S12 и S20) таким образом, находятся под разным давлением. Они попадают в 1-й многопоточный теплообменник (MHEX-1), где они охлаждаются и сжижаются с использованием продуктов, поступающих из секции дистилляции. Потоки сжиженного воздуха (S21 и S22) подают в колонну высокого давления для первой фазы разделения. Продукты из колонны ВД (S25 и S26) затем подаются во 2-й многопоточный теплообменник (B-1), где они дополнительно охлаждаются за счет теплообмена с поступающим азотом высокой чистоты из верхней части колонки LP (S31). Охлажденные потоки, выходящие из B-1 (S27 и S28), затем подаются в колонну LP для заключительной фазы разделения. Верхний продукт из колонны LP – 99%- это чистый газообразный азот, который используется для охлаждения входящих потоков сырья в B-2 и B-1, соответственно. Остаточный продукт из колонны низкого давления представляет собой жидкий кислород с чистотой 99%, который используется для охлаждения входящих потоков.

Результаты моделирования в установившемся режиме для конфигурации приведены в таблице.

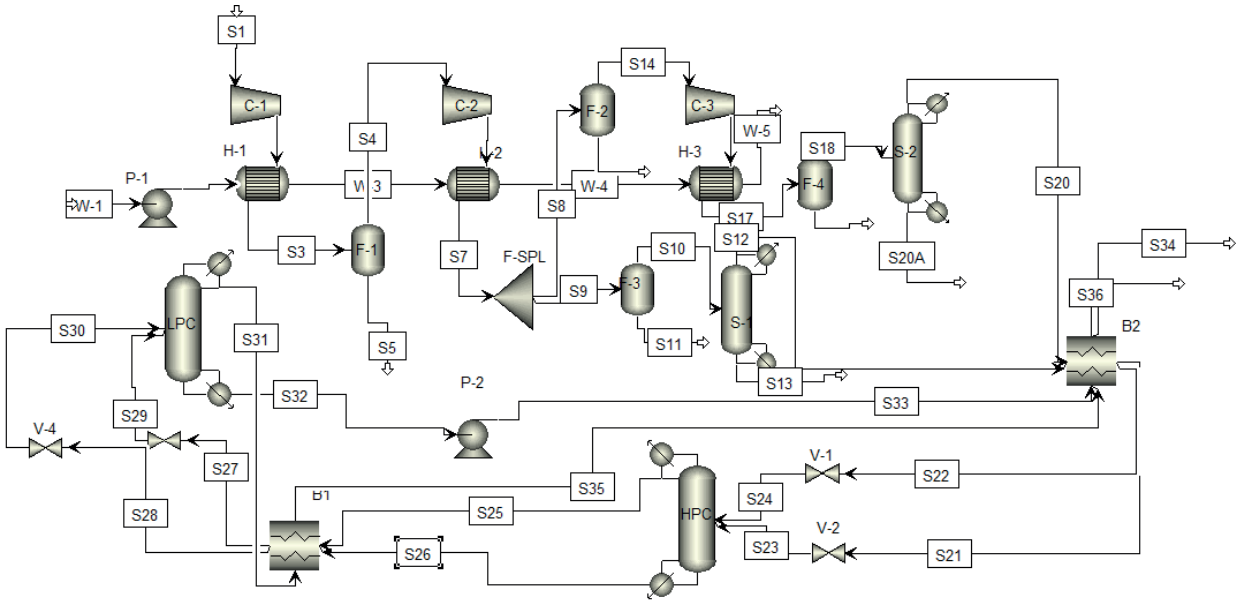


Рисунок 1. Схема процесса получения кислорода медицинского двухколонным методом

Таблица – Результаты моделирования процесса криогенного двухколонного разделения воздуха

Параметр	S1	S25	S26	S31	S32	S34	S36
Фаза	Паровая	Жидкая	Жидкая	Жидкая	Жидкая	Паровая	Паровая
Температура, °C	25	-177,56	-173,8	-194,2	-179,4	39	39
Давление, бар	1	5,6	5,8	1,2	1,5	4,7	1
Массовый расход, кг/ч	500000	192270	299779	385750	106300	106300	385750
Массовая доля							
Кислород	0,2062	0,0008	0,3434	$6,122*10^{-6}$	0,9698	0,9698	$6,122*10^{-6}$
Аргон	0,0092	0,0003	0,0152	0,0036	0,0301	0,0301	0,0036
Азот	0,7687	0,9989	0,6414	0,9964	$1,257*10^{-5}$	$1,257*10^{-5}$	0,9964
Вода	0,0156	0	0	0	0	0	0
Углекислый газ	0,0003	0	0	0	0	0	0

Параметр	S1	S25	S26	S31	S32	S34	S36
Мольная доля							
Кислород	0,1841	0,0007	0,3156	$5{,}365*10^{-6}$	0,9977	0,9977	$5{,}365*10^{-6}$
Аргон	0,0066	0,0002	0,0112	0,0025	0,0023	0,0023	0,0025
Азот	0,7842	0,9991	0,6732	0,9974	$1{,}444*10^{-5}$	$1{,}444*10^{-5}$	0,9974
Вода	0,0247	0	0	0	0	0	0
Углекислый газ	0,0002	0	0	0	0	0	0

Из таблицы следует, что при моделировании данного процесса получаем кислород с чистотой 99,7% и расходом 106.3 т/час.

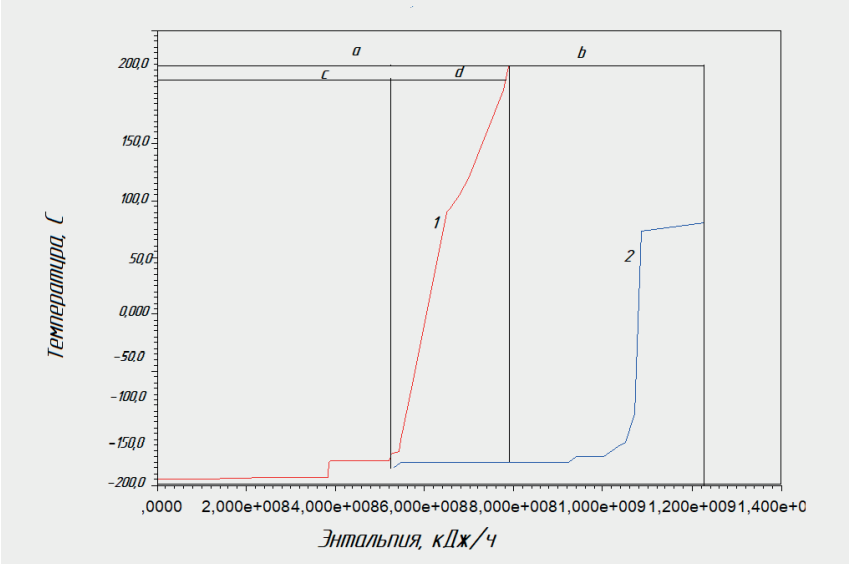


Рисунок 2. Козпозиционные кривые процесса получения кислорода медицинского:
***1* – горячая композитная кривая; *2* – холодная композитная кривая; отрезки соответствуют:**
***a* – общему количеству отводимой тепловой энергии; *b* – количеству тепловой энергии, подводимому утилитами;**
***c* – количеству тепловой энергии, отводимому утилитами; *d* – количеству рекуперируемой энергии**

С целью оценки энергоэффективности теплообменной системы процесса проводили построение композитных кривых, нанося на график изменения температуры горячих и холодных потоков в зависимости от изменения их энергии. Диапазон температур (по оси ординат) одинаков для горячей и холодной композитных кривых. Величине области перекрытия горячей и холодной композитных кривых вдоль оси абсцисс, представляющей собой зону рекуперации, соответствует количество энергии ΣQ_1 (кДж/ч), которое переходит от горячих технологических потоков к холодным.

Из рисунка 2 следует, что теплообменная система характеризуется относительно большой зоной перекрытия композитных кривых и невысокой минимальной разницей температур ΔT_{min},°C. Это указывает на незначительное количество энергии, которым система теплообмена обменивается с внешними источниками тепла, и на относительно большую величину рекуперируемой энергии. Исходя из полученных данных моделирования запас энергетической эффективности системы составляет 1,71%, из чего следует, что система стремится к максимальной рекуперации энергии, а значит энергетически эффективна.

На основании проведенного моделирования разработана схема процесса получения кислорода медицинского методом криогенной двухколонной дистилляции. При реализации данного процесса возможно получить кислород с чистотой 99,7%, что соответствует определению кислорода медицинского, расход по процессу – 106.3 т/час. Проведенный анализ энергетической эффективности данной модели показал, что она эффективна.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.51.21 Технология переработки природных и нефтяных газов.

ЛИТЕРАТУРА

1. History and Technological Progress in the Course of Time // Linde Aktiengesellschaft 2019. [Internet] URL: https://www.linde-engineering.com/en/images/Air-separation-plants-history-and-technological-progress-2019_tcm19-457349.pdf

2. Evaluation of Two-Column Air Separation Processes Based on Exergy Analysis / M.H. Hamayun [et al.] // Energies MDPI AG. 2020 Vol. 13(23). P. 6361. http://dx.doi.org/10.3390/en13236361

3. Стандартизация кислорода медицинского в России и за рубежом / Ю.В Мирошниченко [и др.] // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2016. N 1(53). С. 203–206.

4. Мирошниченко Ю.В., Еникеева Р.А., Кассу Е.М. Характеристика способов получения кислорода медицинского и перспективы их применения в военном здравоохранении // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2016. N 2. С. 157-163.

SUMMARY

DEVELOPMENT AND SIMULATION OF A CHEMICAL-TECHNOLOGICAL SCHEME FOR OBTAINING MEDICAL OXYGEN

Mullaeva V.N., undergraduate 2 years of study
Scientific supervisor: **Sorokin V.V.,** Ph.D., associate professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: mullaeva.valeriya@pharminnotech.com

The simulation of the chemical-technological scheme for obtaining medical oxygen by the method of cryogenic air separation was carried out. Based on the energy analysis performed, the energy potential of the modeled system was determined.

Keywords: *medical oxygen, modeling, cryogenic air separation, optimization, pinch analysis.*

REFERENCES

1. History and Technological Progress in the Course of Time // Linde Aktiengesellschaft 2019. [Internet] URL: https://www.linde-engineering.com/en/images/Air-separation-plants-history-and-technological-progress-2019_tcm19-457349.pdf

2. Evaluation of Two-Column Air Separation Processes Based on Exergy Analysis / M.H. Hamayun [et al.] // Energies MDPI AG. 2020 Vol. 13(23). P. 6361. http://dx.doi.org/10.3390/en13236361

3. Standardization of medical oxygen in Russia and abroad / Yu.V. Miroshnichenko [et al.] // Vestn. Ross. military-med. acad. 2016. N 1(53). P. 203–206. (in Russian)

4. Miroshnichenko Yu.V., Yenikeeva R.A., Kassu E.M. Characteristics of methods for obtaining medical oxygen and the prospects for their use in military healthcare // Vestn. Ross. military-med. acad. 2016. N 2(54). (in Russian)

УДК 615.014.22

РАЗРАБОТКА СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ФИТОСУБСТАНЦИЙ

Наумова А.А., магистрант 2 года обучения (ORCID: 0000-0002-0494-0740)
Руководитель: **Абросимова О.Н.,** канд. фарм. н., доцент (ORCID: 0000-0002-0274-0139)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: naumova.alena@pharminnotech.com

Определены числовые показатели лекарственного растительного сырья – ромашки аптечной цветков и калины обыкновенной коры и подтверждено его качество. Выбраны условия экстрагирования для каждого вида сырья. Подобраны вспомогательные вещества и разработан состав стоматологического геля.

Ключевые слова: *ромашки аптечной цветки, калины обыкновенной кора, лекарственное растительное сырье, стоматологический гель, сухие экстракты, лечение заболеваний полости рта.*

Введение. Лечение и профилактика заболеваний слизистых полости рта одна из приоритетных задач в стоматологии. На практике при комплексном лечении воспалительно-деструктивных процессов часто применяют антибактериальные средства. Однако длительное, бесконтрольное применение таких средств приводит к многочисленным осложнениям: лекарственной толерантности, ослаблению лечебного эффекта, дисбактериозу полости рта и желудочно-кишечного тракта и др. Поэтому в настоящее время вопрос поиска альтернативы антибактериальной терапии остается открытым. В качестве альтернативы следует рассмотреть применение эффективных и безопасных лекарственных средств растительного происхождения, которые легко усваиваются, менее токсичны, практически не вызывают побочных явлений и аллергических реакций, обладают мягким, регулирующим и нормализующим действием [1].

Стоит отметить, что наиболее распространенные лекарственные средства, применяемые в стоматологии, являются средства для местного применения, а именно для нанесения на слизистые оболочки: на десны, на слизистую оболочку полости рта, на зубы, поэтому актуальным является разработка стоматологического средства для местного применения на основе фитоэкстрактов. Выбор сырья для разработки стоматологического средства обусловлен фармакологическим действием фитоэкстрактов из ромашки аптечной цветков и калины обыкновенной коры.

Ромашки аптечной цветки (Chamomillae recutita flores) – официальный вид лекарственного растительного сырья (ЛРС), широко используемый в медицине разных стран. Для него известны следующие виды биологической активности: противовоспалительное, спазмолитическое, седативное, антимикробное действие и др. [2].

Калины обыкновенной кора (Viburni opuli cortex) содержит дубильные вещества (не менее 4%), соли органических кислот. Оказывает антифибринолитическое, гемостатическое, утеротонизирующее, противовоспалительное, вяжущее, спазмолитическое, седативное, гиполипидемическое, диуретическое и кардиотоническое действие.

Также полезные свойства коры:

• профилактика тонзиллита и ларингита. Полоскание отваром коры уменьшают красноту в ротоглотке, и снимает воспаление;

• при пародонтозе. Дубильные вещества положительно воздействуют на десну;

• при сахарном диабете [3].

Целью данной работы является разработка состава стоматологического геля на основе экстрактов ромашки аптечной цветков и калины обыкновенной коры.

Материалы и методы

Сухие экстракты получали из ЛРС: калины обыкновенная кора – изготовитель «Компания Хорст», ромашки аптечной цветки – изготовитель ООО «Грин Сайд». В качестве вспомогательных веществ в технологии стоматологического геля использовали: полиэтиленгликоль-400 (ПЭГ-400), триэтаноламин., карбопол 980. В лабораторных условиях стоматологический гель получали методом смешения действующих и вспомогательных веществ. Числовые показатели ЛРС, количественное содержание действующих веществ в сухих экстрактах и исследование физико-химических свойств геля определяли по методикам, описанным в ГФ XIV.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования были определены числовые показатели ЛРС с целью подтверждения доброкачественности и наличия основных биологически активных веществ (БАВ). Для исследования использованы фармакопейные методики [4]. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Анализ числовых показателей в ЛРС

Показатель		Наименование сырья	
		Ромашки аптечной цветки	Калины обыкновенной кора
Влажность, не более, %		10,8	5,1
Зола общая, не более, %		12,0	10,0
Измельченность сырья, %		**частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером:**	
		5 мм – 0,0	7 мм – 2,8
		0,18 мм – 4,6	0,5 мм – 3,0
Экстрактивные вещества, не менее, %	экстрагент	вода очищенная	спирт этиловый 50 %
	содержание	34,2	24,8
Посторонние примеси, не более, %		Листья, стебли, корзинки с остатками цветоносов длиннее 3 см – 2,0	Кусочки коры, потемневшие с внутренней стороны – 2,0
		Корзинки, изменившие окраску (потемневшие и почерневшие) – 2,0	Кусочки коры с остатками древесины и веточек – 0,5
		Органическая примесь – 0,0	Органическая примесь – 0,0
		Минеральная примесь – 0,0	Минеральная примесь – 0,0

Результаты, полученные в ходе определения числовых показателей подтверждают доброкачественность сырья, используемого на последующих этапах разработки лекарственного средства.

На втором этапе исследования были получены сухие экстракты ромашки аптечной цветков и калины обыкновенной коры. Параметры экстрагирования представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Параметры экстрагирования ЛРС

Вид ЛРС	Гидромодуль	Экстрагент	Метод экстракции
Ромашки аптечной цветки	1:8	горячая вода очищенная 70–80 °С	Мацерация при нагревании (50–60 °С) в течение 1 ч
Калины обыкновенной кора	1:20	спирт этиловый 50 %	Ультразвуковая экстракция при нагревании (60 °С) в течение 35 мин

Количественное определение суммы флавоноидов в ромашке аптечной цветков проводилось в соответствии с требованиями ФС.2.5.0037.15 «Ромашки аптечной цветки» (Количественное определение суммы флавоноидов). Количественное определение дубильных веществ в калине обыкновенной коре проводилось в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1). Выход флавоноидов в сухом экстракте ромашки аптечной цветков составил (27,3±1,4) %. Дубильные вещества в сухом экстракте калины обыкновенной коры составили (28,2±1,4) %.

Третий этап включал в себя разработку состава стоматологического геля. Сначала осуществлялся выбор основы. В стоматологических гелях наиболее широко распространены гидрофильные основы, способные неограниченно смешиваться с водой, смачиваться, или набухать в ней. К ним относят: гели крахмала, желатиново-глицериновые гели, коллагеновые гели, гели полиэтиленгликолей (полиэтиленоксидов), гели эфиров целлюлозы, гели редкосшитых акриловых полимеров (карбопол, ареспол), гели глинистых минералов (например, бентонитовых глин), гели поливинилпирролидона и гели поливинилового спирта.

Были подобраны составы гелей-плацебо с различными гелеобразователями. Для выбора рабочих концентраций разработаны модельные композиции, содержащие 5 % глицерин, 0,05 % хлоргексидина биглюконат и гелеобразователи, представленные в таблице 3.

Таблица 3 – Модельные композиции гелей-плацебо

Гелеобразователь	Концентрация, %	Описание
Гидроксиэтилцеллюлоза	4,5	Густой гель, образовались пузырьки, но после 7 дней стал однородным, без пузырьков, прозрачный. После введения глицерина стал более вязким.
Гидроксиэтилцеллюлоза	5,0	Густой гель, образовались пузырьки, но после 7 дней стал однородным, без пузырьков, прозрачный. После введения глицерина стал более вязким.
Карбопол 980	0,5	Мутный цвет после 7 дней хранения (изначально был прозрачным), густой гель. При введении глицерина стал более пластичным.
Карбопол 980	1,0	Мутный цвет после 7 дней хранения (изначально был прозрачным), слишком густой гель. При введении глицерина стал более пластичным.
Нмтрий-карбоксиметилцеллюлоза	8,0	Белый цвет, много пузырьков, густой. При введении глицерина стал более вязким.
Метилцеллюлоза	8,0	Белый цвет, много пузырьков, густой. При введении глицерина стал более вязким.
Карбопол 980 NF	0,5	Мутный цвет после 7 дней хранения (изначально был прозрачным), густой гель. При введении глицерина стал более пластичным.
Карбопол 980 NF	1,0	Мутный цвет после 7 дней хранения (изначально был прозрачным), густой гель. При введении глицерина стал более пластичным.
Карбопол 974-P-NF	0,5	Не слишком густой, прозрачный. При введении глицерина стал более пластичным.
Карбопол 974-P-NF	1,0	Густой, мутный цвет. При введении глицерина стал более пластичным.
Карбопол 971 P NF	1,0	Не слишком густой, прозрачный. При введении глицерина стал более пластичным.
Карбопол 971 P NF	1,5	Не слишком густой, прозрачный. При введении глицерина стал более пластичным.
Карбопол 971 P NF	2,0	Густой, прозрачный. При введении глицерина стал более пластичным.
Микрокристаллическая целлюлоза + Натрий-карбоксиметилцеллюлоза	12,0	Густой, белый цвет. При введении глицерина стал более пластичным.

Таким образом, в качестве гелеобразователя был выбран карбопол 980 с концентрацией 1%, мутный цвет был устранен изменением порядка введения хлоргексидина и варьированием его концентрации. Наблюдаемый эффект при различных концентрациях хлоргексидина в основе представлен в таблице 4.

Таблица 4 – Влияние хлоргексидина на внешний вид основы геля

№	Концентрация хлоргексидина, %	Наблюдаемый эффект
1	0,01	Формоустойчивый, прозрачный гель
2	0,02	Формоустойчивый, слегка мутный
3	0,03	Гель слегка мягкий
4	0,04	Гуль мутный, мягкий
5	0,05	Мутный, текучий гель

В результате исследования, концентрация хлоргексидина равная 0,01 % соответствует наилучшим показателям стоматологического геля по внешнему виду, так как гель является прозрачным и формоустойчивым.

На дальнейшем этапе в стоматологический гель были введены фитоэкстракты ромашки аптечной цветков и калины обыкновенной коры. В результате исследования был выбран состав стоматологического геля, описание которого представлено в таблице 5.

Таблица 5 – Состав стоматологического геля

Компонент	Содержание на 100 %
Карбопол 980	1,00
Триэтаноламин	1,00
Сухого экстракта калины обыкновенной коры	1,00
Сухого экстракта ромашки	1,00
ПЭГ-400	2,00
Хлоргексидина биглюконата 20%	0,05
Ментол	0,03
Сорбит	2,00
Вода очищенная	до 100,00

Также был проведен анализ стоматологического геля по показателям качества согласно ГФ XIV, спецификация стоматологического геля на основе фитоэкстрактов представлена в таблице 6.

Таблица 6 – Спецификация показателей качества стоматологического геля на основе фитоэкстрактов

Показатель качества	Норма	Результат испытаний
Описание	Однородная масса, не содержащая посторонних примесей	Однородная гелеобразная масса без посторонних включений
Цвет	Свойственный цвету данного крема	От светло коричневого до коричневого
Запах	Свойственный запаху данного крема	Приятный мятного направления с нотами ромашки и коры калины
Водородный показатель, pH	5,5-7,5	6,2 ± 0,3
Термостабильность	Стабилен	Стабилен
Коллоидная стабильность	Стабилен	Стабилен

Заключение

В ходе исследовательской работы определены числовые показатели ЛРС и подтверждено его качество, что позволило использовать его для дальнейшего получения сухих экстрактов. Выбраны условия экстрагирования для каждого вида сырья. Подобраны вспомогательные вещества с учетом свойств сухих экстрактов, разработан состав и технология стоматологического геля на основе фитоэкстрактов, предложена спецификация показателей качества.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Разработка технологии и состава средства для полости рта на основе фитосубстанций / О.Н. Абросимова [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10. N 4. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-37-45.

2. Загорулько Е.Ю., Теслев А.А., Ожигова М.Г. Разработка и оптимизация технологии ультразвукового экстрагирования ромашки аптечной цветков Chamomillae recutita flores // Фармация и фармакология. 2018. Т. 6. N 2. DOI:10.19163/2307-9266-2018-6-2-151-166.

3. Локайчук Е.С., Нестерова Н.В. Изучение полезных свойств калины обыкновенной // Сборник статей IX Международного научно-исследовательского конкурса. М.: Наука и Просвещение, 2019.

4. Государственная Фармакопея РФ XIV изд. Т. 1 [Электронное издание]. URL: http://femb.ru/fembpharmacopea.php

SUMMARY

DEVELOPMENT OF DENTAL GEL BASED ON PHYTOSUBSTANCES

Naumova A.A., graduate student, 2 years of study (ORCID: 0000-0002-0494-0740)
Scientific supervisor: **Abrosimova O.N.**, Ph.D. farm. PhD, Associate Professor (ORCID: 0000-0002-0274-0139)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: naumova.alena@pharminnotech.com

The numerical indicators of medicinal plant raw materials – chamomile flowers and viburnum common bark were determined and its quality was confirmed. Extraction conditions were chosen for each type of raw material. Excipients were selected and the composition of the dental gel was developed.

***Keywords*:** *chamomile flowers, viburnum common bark, medicinal plant materials, dental gel, dry extracts, treatment of oral diseases.*

REFERENCES

1. Development of technology and composition of an oral remedy based on phytosubstances / O.N. Abrosimova [et al.] // Development and registration of medicines. 2021. Vol. 10(4). DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-37-45. (in Russian)

2. Zagorulko E.U., Teslev A.A., Ozhigova M.G. Development and optimization of technology of ultrasonic extraction of chamomile of pharmacy flowers Chamomillae recutita flores // Pharmacy and Pharmacology. 2018. Vol. 6(2). DOI:10.19163/2307-9266-2018-6-2-151-166. (in Russian)

3. Lokaychuk E.U., Nesterova N.V. Study of useful properties of common potassium // Collection of articles of the IX International Research Competition. Moscow Science and Education, 2019. (in Russian)

4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. T. 1 [Internet]. URL: http://femb.ru/fembpharmacopea.php (in Russian)

УДК 54.061; 54.066

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСТРАКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ФЛАВОНОИДОСОДЕРЖАЩЕГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Нестерова Д.И., студ. 4 курса, **Чеботова П.А.**, студ. 4 курса
Руководители: **Васильева П.А.**, аспирант 2 года обучения, **Чухно А.С.**, канд. хим. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: darya.nesterova@spcpu.ru

Исследовано влияние биологически активных веществ, извлекаемых из плодов софоры японской, на свойства получаемых вытяжек. Построен градуировочный график для количественного определения флавоноидов в извлечении в пересчете на рутин. Определены точки нулевого заряда водной дисперсии частиц софоры и полученного извлечения.

Ключевые слова: *флавоноиды, экстракция, перколяция, биологически активные вещества, рутин, софора японская.*

Введение. Флавоноидосодержащее растительное сырье широко используется в производстве лекарственных препаратов, поскольку флавоноиды оказывают положительное влияние на соединительные ткани, желудочно-кишечный тракт, прочность и эластичность сосудов, а также участвуют в окислительно-восстановительных процессах в организме [1]. В настоящее время наблюдается значительный рост интереса к исследованию действия флавоноидов на организм человека, так как на их основе возможно создание новых высокоактивных лекарственных препаратов, обладающих противовоспалительным, антиканцерогенным, противовирусным и бактерицидным действием [2]. Поэтому совершенствование процесса извлечения флавоноидов из лекарственного растительного сырья (ЛРС) является актуальной задачей, стоящей перед фармацевтической технологией.

Целью исследования является изучение процесса экстракции биологически активных веществ (БАВ) из плодов софоры японской. Задачами исследования являются нахождение точки нулевого заряда водной дисперсии частиц софоры и полученного извлечения и количественное определение содержания флавоноидов в извлечениях.

Материалы и методы

Объектами исследования были водно-спиртовые растворы различной концентрации, вытяжки софоры японской на их основе, полученные методом перколяции, водные дисперсии плодов софоры японской, стандартные растворы рутина различной концентрации.

Сушеные плоды софоры японской измельчались до размера частиц 1-3 мм, взвешивались на аналитических весах. Соотношение сырье – экстрагент составило 1:4 соответственно. В качестве экстрагента использовались водно-спиртовые растворы с объемным содержанием этилового спирта 0%, 24%, 48%, 72%, 96%. Количество необходимого экстрагента рассчитывалось по формуле:

$$V_{\text{растворителя}} = V_{\text{извлечения}} + (m_{\text{сырья}} * \text{К}), \quad (1)$$

где $V_{\text{извлечения}}$ – объем необходимого извлечения;
$m_{\text{сырья}}$ – масса сырья;
К – коэффициент водопоглощения – 2.

Перед перколяцией замоченные плоды настаивались в течение часа.

Полученные вытяжки использовались для дальнейшего изучения.

Оцениваемые параметры: поверхностное натяжение, оптическая плотность растворов вытяжек, оптическая плотность стандартных растворов рутина и pH растворов.

Оборудование: тензиометр Дю-Нуи, спектрофотометр СФ-2000, pH-метр Mettler Toledo.

Реактивы: этиловый спирт концентрации 96%, вода дистиллированная, плоды софоры японской ТУ 10.89-066-14721358-2017, хлорид алюминия (III), кислота уксусная, соляная кислота 0,1М, стандартный образец рутина.

Величина поверхностного натяжения водно-спиртовых растворов и вытяжек на их основе определялась на тензиометре Дю-Нуи по методу отрыва кольца.

Сорбция ионов H^+ и OH^- на частицах водной дисперсии софоры определялась методом непрерывного потенциометрического титрования [3-5].

Содержание экстрагируемых биологически активных веществ определялось на спектрофотометре СФ-2000 при длине волны 200-400 нм с использованием кювет с толщиной слоя 10 мм. Растворами сравнения служили соответствующие экстрагенты.

Количественное определение содержания флавоноидов в извлечении определяли с помощью градуировочного графика. В качестве стандарта использовался рутин, так как максимум поглощения его комплекса наиболее соответствует максимуму поглощения комплекса с хлоридом алюминия исследуемого образца.

Все измерения проводились с несколькими параллельными сериями и погрешность измерения не превышала 5 % от измеряемых величин.

Результаты и их обсуждение

Зависимость поверхностного натяжения экстрагентов и извлечений от содержания спирта представлена на рисунке 1.

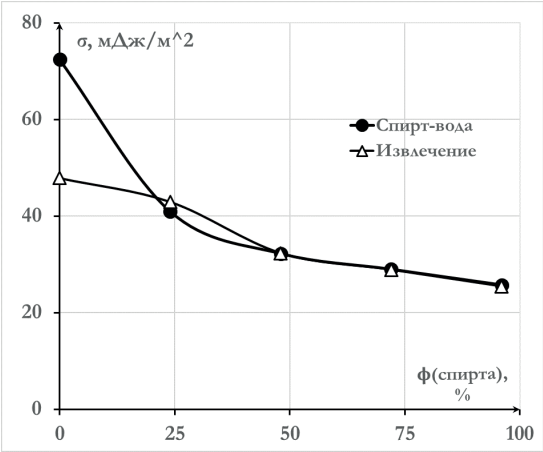


Рисунок 1. Зависимость поверхностного натяжения растворов от концентрации спирта для водно-спиртовых растворов и извлечений

Из рисунка 1 видно, что с увеличением содержания спирта поверхностное натяжение уменьшается, так как спирт является поверхностно-активным веществом (ПАВ). Разница в значениях поверхностного натяжения воды и водной вытяжки объясняется тем, что при экстракции выделяется большое количество БАВ, обладающих поверхностной активностью. Это необходимо учитывать при использовании ПАВ для активизации процесса экстракции.

Кривые потенциометрического титрования водной дисперсии софоры, вытяжки и фонового раствора представлены на рисунке 2.

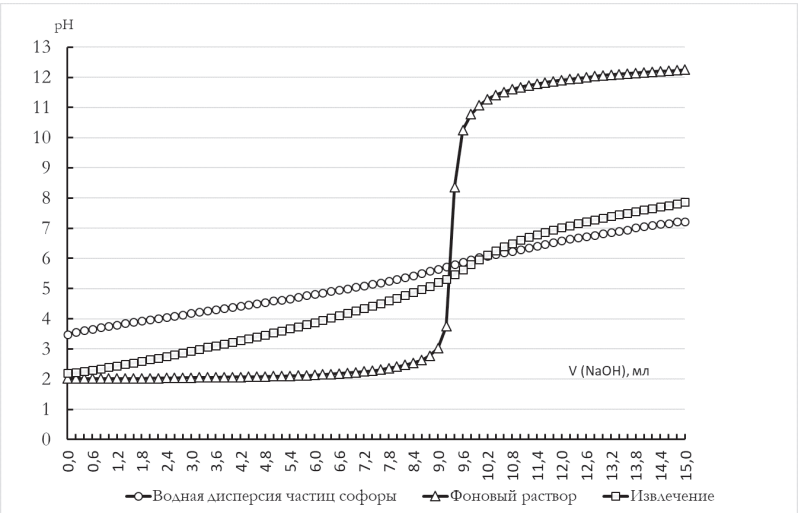


Рисунок 2. Кривые потенциометрического титрования водной дисперсии софоры, извлечения и фонового раствора

Учитывая, что экстракция в большой степени связана с процессами десорбции и сорбции биологически активных веществ из частиц растительного сырья и экстрагента, особый интерес представляет изучение сорбции ионов H^+ и OH^-

на активных центрах, таких как аминогруппы, карбоксильных и других группах, так как растения содержат различные биологически активные вещества (белки, углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты, органические кислоты и др.) [3-5]. Сорбция ионов H^+ преобладает в кислой области pH и частицы софоры заряжены положительно, а в щелочной OH^- и заряд отрицательный.

В кислой области pH кривые титрования вытяжки и водной дисперсии софоры идут выше фоновой кривой вследствие сорбции ионов H^+. В щелочной области pH кривые идут ниже фоновой кривой за счет сорбции OH^- ионов и десорбции H^+. Значение pH, соответствующее точке пересечения фоновой кривой с другими кривыми, является точкой нулевого заряда ($pH_{тнз}$). Ее определяют адсорбционными методами, а изоэлектрическая точка ($pH_{изт}$) соответствует значению pH, при котором электрокинетический потенциал равен нулю, и её можно определять по результатам электрофореза, набухания, коагуляции. В отсутствии специфической сорбции других ионов $pH_{изт}$ и $pH_{тнз}$ совпадают. В присутствии в растворе веществ, способных сорбироваться специфически, происходит смещение как $pH_{тнз}$, так и $pH_{изт}$, причем смещение происходит в разные области pH. Из рисунка 2 видно, что $pH_{тнз}$ водной дисперсии софоры составляет 5,8, а вытяжки 5,2. Основными составляющими вытяжки являются извлеченные из софоры БАВ. В водной дисперсии софоры наряду с БАВ присутствуют частицы софоры, определяющие значение $pH_{тнз}$. Отличие $pH_{тнз}$ вытяжки и водной дисперсии софоры свидетельствует о наличии более прочных связей, чем простое электростатическое взаимодействие между функциональными группами БАВ и частицами софоры, что необходимо учитывать при оптимизации процесса экстракции.

Наличие максимумов поглощения в диапазонах 320-385 нм и 240-280 нм свидетельствует о наличии суммы флавоноидов в полученных вытяжках [6]. Также из рисунка 3 видно, что количество извлеченных БАВ зависит от состава экстрагента.

Спектрофотометрический метод определения основан на способности флавоноидов или их окрашенных комплексов с алюминия (III) хлоридом поглощать монохроматический свет при определенной длине волны. В присутствии хлорида алюминия наблюдается батохромный сдвиг полосы поглощения в длинноволновую область спектра от 250 – 260 нм до 270 – 280 нм в ультрафиолетовой области и от 330 – 350 нм к 390 – 410 нм в видимой области спектра.

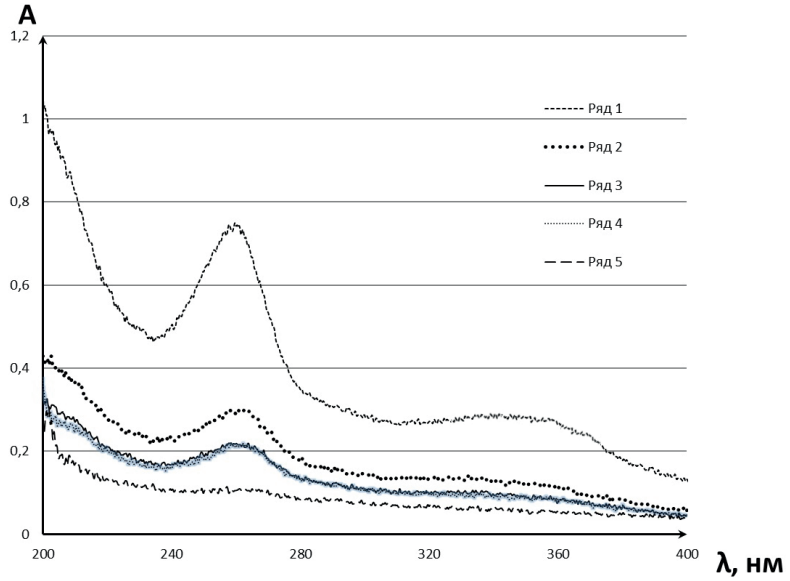


Рисунок 3. Спектр вытяжки софоры японской при разных экстрагентах (ряд 1-вода, ряд 2-концентрация спирта 24%, ряд 3-концентрация спирта 48%, ряд 4-концентрация спирта 72%, ряд 5-концентрация спирта 96%)

Спектры поглощения стандартных растворов рутина представлены на рисунке 4. По результатам измерения оптической плотности растворов рутина различной концентрации при длине волны 410 нм построен градуировочный график (рис. 5), имеющий линейный характер, что позволяет надежно определять концентрацию флавоноидов в извлечении в пересчете на рутин.

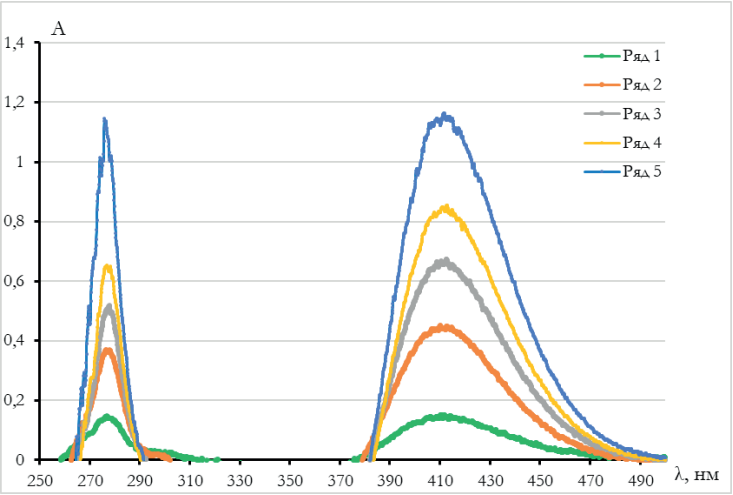


Рисунок 4. Спектры поглощения стандартных растворов рутина различной концентрации (Ряд 1 – $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, Ряд 2 – $3 \cdot 10^{-5}$ моль/л, Ряд 3 – $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л, Ряд 4 – $7 \cdot 10^{-5}$ моль/л, Ряд 5 – $9 \cdot 10^{-5}$ моль/л)

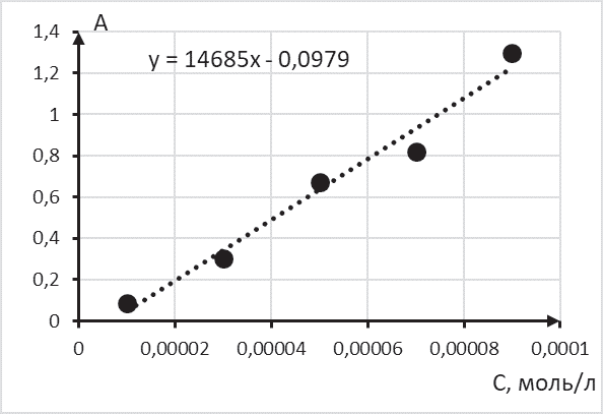


Рисунок 5. Градуировочный график

Выводы

1) Установлено, что в процессе экстракции водой из плодов софоры японской извлекаются БАВ, обладающие поверхностной активностью.

2) Определены $pH_{пиз}$ водной дисперсии частиц софоры – 5,8 и полученного извлечения – 5,2.

3) Количество флавоноидов в извлечении из плодов софоры японской с использованием в качестве экстрагента воды составляет – 1,2 ± 0,1% от массы сухих плодов софоры. При экстрагировании водно-спиртовыми смесями наблюдается уменьшение количества извлеченных флавоноидов при содержании спирта в экстрагенте 24% – 0,5%, при содержании спирта в экстрагенте – 48% – 0,35%.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.23.39 Кумарины, флавоноиды, антоцианины и родственные соединения

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалева Л.Г., Сампиев А.М. Исследование фенольных соединений плодов софоры японской // Современные проблемы науки и образования. 2013. N 6.

2. Шагина Н.А., Азимова Ф.Ш. Перспективы использования растительных флавоноидов в различных отраслях промышленности и в медицине // Концепт. 2017. Т. 31. С. 1286–1290.

3. Дмитриева И.Б., Кергенцев А.А., Чухно А.С. Определение констант диссоциации карбоксильных и аминогрупп на альбумине методом потенциометрического титрования // Бутлеровские сообщения. 2015. Т. 41. N 3. С.141-146.

4. Чухно А.С., Дмитриева И.Б., Мартынов Д.В. Влияние солей одно-, двух- и трехзарядных катионов металлов на сорбцию H+ и OH- ионов на декстране // Бутлеровские сообщения. 2011. Т.27. N 14. С. 47-54.

5. Адсорбция ионов H+ и OH- на коллагене / А.С. Чухно [и др.] // Вестник СПбГУ. 2011. Сер. 4. Вып. 3. С. 87-96.

6. Markham K.R., Marby T.J. Ultraviolet-visible and proton magnetic resonfnce spectroscopy of flavonoids // The flavonoids. 1975. P. 45-77. DOI:10.1007/978-1-4899-2909-9_2

SUMMARY

STUDY OF THE EXTRACTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FROM FLAVONOID-CONTAINING PLANT RAW MATERIAL

Nesterova D.I., 4th year student, **Chebotova P.A.,** 4th year student
Scientific supervisor: **Vasilyeva P.A.**, 2nd year post-graduate student,
Chukhno A.S., Candidate of Chemical Sciences, associate professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: darya.nesterova@spcpu.ru

The effect of biologically active substances extracted from the fruits of Sophora japonica on the properties of the resulting extracts was studied. A calibration curve was built for the quantitative determination of flavonoids in extract in terms of rutin. The points of zero charge of the aqueous dispersion of Sophora particles and the resulting extract were determined.

Keywords: *flavonoids, extraction, percolation, biologically active substances, rutin, Japanese Sophora.*

REFERENCES

1. Kovaleva L.G., Sampiev A.M. Issledovanie fenol'nyh soedinenij plodov sofory japonskoj // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. 2013. N 6. (in Russian)
2. Shagina N.A., Azimova F.Sh. Perspektivy ispol'zovanija rastitel'nyh flavonoidov v razlichnyh otrasljah promyshlennosti i v medicine // Koncept. 2017. Vol. 31. P. 1286–1290. (in Russian)
3. Dmitrieva I.B., Kergencev A.A., Chuhno A.S. Opredelenie konstant dissociacii karboksil'nyh i aminogrupp na al'bumine metodom potenciometricheskogo titrovanija. // Butlerovskie soobshhenija. 2015. Vol. 41(3). P. 141-146 (in Russian)
4. Chuhno A.S., Dmitrieva I.B., Martynov D.V. Vlijanie solej odno-, dvuh- i trehzarjadnyh kationov metallov na sorbciju H+ i OH- ionov na dekstrane // Butlerovskie soobshhenija. 2011. Vol. 27(14). P. 47-54. (in Russian)
5. Adsorbcija ionov H+ i OH- na kollagene / A.S. Chuhno [et al.] // Vestnik SPbGU. 2011. Vol. 4(3). P. 87-96. (in Russian)
6. Markham K.R., Marby T.J. Ultraviolet-visible and proton magnetic resonfnce spectroscopy of flavonoids // The flavonoids. 1975. P. 45-77. DOI:10.1007/978-1-4899-2909-9_2

УДК 615.32: 615.453.7

ТРАНСФЕР ТЕХНОЛОГИЙ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Никитина А.В., студ. 2 курса (ORCID: 0000-0002-6472-7108)
Руководитель: **Абросимова О.Н.**, канд. фарм. наук, доцент (ORCID: 0000-0002-0274-0139)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anna.nikitina@spcpu.ru

Трансфер технологий играет важную роль в развитии фармацевтической отрасли, так как от него зависит успешная разработка нового лекарственного препарата и его коммерциализация, а также увеличение производства уже зарегистрированных лекарственных препаратов. Достижение успеха напрямую зависит от понимания этого процесса и его эффективного использованиями всеми участвующими сторонами. В данной обзорной статье рассмотрены основные этапы трансфера технологии, а также подходы и требования к переносу технологий на всех этапах жизненного цикла препарата.

Ключевые слова: *трансфер технологий, перенос технологии, масштабирование, анализ рисков.*

Трансфер технологий в фармацевтической промышленности – это логичная, контролируемая и задокументированная процедура переноса технологии и методов контроля лекарственного препарата от разработчика к производителю лекарственных средств или от одного производителя лекарственных средств к другому [1-4]. Трансфер технологий считается успешным, если задокументировано подтверждение того, что принимающая сторона может стабильно производить переданный продукт или воспроизводить процесс, или метод в соответствии с определенным набором спецификаций, согласованным с передающей стороной [5].

В фармацевтической промышленности выделяется несколько видов трансфера технологий. Основные виды трансфера технологий, которые могут встречаться при подготовке нового лекарственного препарата на производственной площадке производителя лекарственных средств изображены на рисунке 1 [1].

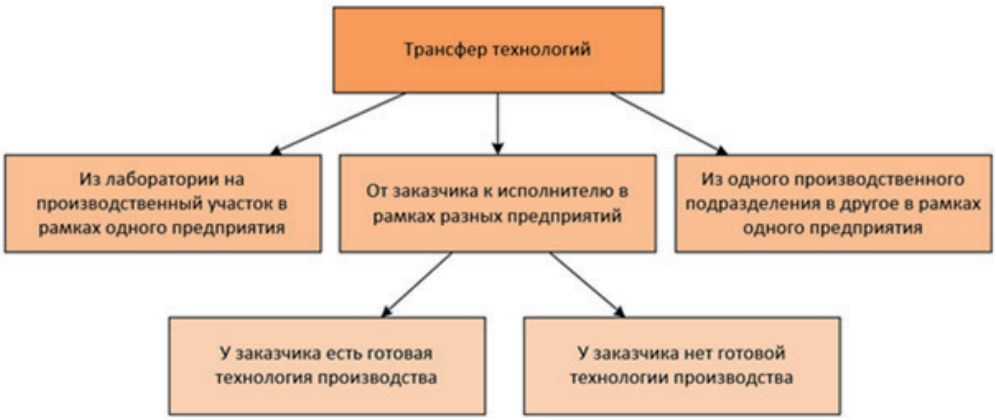


Рисунок 1. Схема видов трансфера технологий в фармацевтической промышленности

Обязательным условием в фармацевтической промышленности является обеспечение качества, эффективности и безопасности лекарств, что предполагает подробное рассмотрение характеристик лекарственных средств и параметров технологических процессов, которые могут быть затронуты в ходе трансфера технологий. Эти аспекты являются объектом регулирования со стороны уполномоченных государственных органов, а указанные регуляторные требования изложены в Правилах GMP [6, 7].

Важной частью переноса технологии является масштабирование процесса, которое в основном определяется как увеличение объема серии от лабораторного до промышленного. Выделяют три последовательные фазы масштабирования [4, 6, 8, 9]. Краткая характеристика фаз представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Краткая характеристика фаз масштабирования

Фаза масштабирования	Краткое описание	Масштаб серии
Лабораторная фаза	В лабораторных условиях проводятся научные исследования и происходит наработка опытных образцов продукта для биологических и первых фаз клинических испытаний	от 1/1000 до 1/100 от промышленного масштаба
Пилотная фаза	Для серий промежуточного масштаба, необходимых для клинических исследований	1/10 промышленной серии
Промышленная фаза	Для производства коммерческих серий	до окончательного промышленного объема

В некоторых случаях изменение технологического процесса от лабораторного масштаба к промышленному требует изменения состава и содержания вспомогательных веществ по сравнению с заявленными при регистрации значениями. Эти изменения могут влиять на качество товарных лекарственных препаратов. Переносы технологии происходят при переходе к каждой последующей стадии [4, 6, 10].

Также в ходе трансфера технологий, при подготовке нового лекарственного препарата на производственной площадке задействовано большое количество подразделений, организованность и слаженность работы которых определяют характер, своевременность и полноту переноса, что оказывает непосредственное влияние на качество выпускаемой продукции [1]. Таким образом, очевидна актуальность процесса трансфера технологий в фармацевтической промышленности.

Рассмотрим основные причины и задачи для трансфера технологий, которые представлены в таблице 2 и на рисунке 2 соответственно.

Таблица 2 – Причины для трансфера технологий [11]

№ п/п	Причина трансфера	Описание
1.	Создание альянсов с партнерами, которые могут ускорить развитие технологии, чтобы вывести ее на рынок	Разработчик технологии может иметь ресурсы для доведения технологии до определенной стадии разработки, например, до исследований на животных и токсикологических исследований, но не имеет ресурсов, чтобы провести технологию через клиническую и регуляторную фазы, и должен сотрудничать с другой организацией, чтобы провести технологию через эти фазы, и вывести ее на рынок.
2.	Создание альянсов с партнерами, обладающими производственными возможностями.	Разработчик технологии может довести ее до такого уровня развития, что она уже почти готова к выходу на рынок, но при этом разработчику не хватает производственных мощностей в чистом помещении или ресурсов для производства продукта, и ему приходится вступать в партнерство с другой организацией, у которой такие возможности имеются.
3.	Формирование альянсов с партнерами, обладающими маркетинговыми и дистрибьюторскими возможностями.	Разработчик технологии может полностью разработать технологию и даже получить нормативные разрешения и регистрацию продукта для его продажи, но у него нет каналов маркетинга и дистрибуции, чтобы обеспечить возможность маркировки, и он должен сотрудничать с другой организацией, у которой есть такая возможность.

№ п/п	Причина трансфера	Описание
4.	Использование в другой области применения.	Разработчик технологии может сам использовать технологию в области диагностического применения, и может предоставить право пользования коммерческому партнеру в терапевтических целях. Передавая технологии для использования в данной ситуации, разработчик технологии создает еще один поток доходов из другой области.
5.	Отсутствие коммерческих возможностей.	Разработчиком технологии может быть исследовательский отдел университета, который не имеет возможности для коммерческого производства, и ему необходимо сотрудничать с другой организацией. организацией, у которой такие возможности есть.

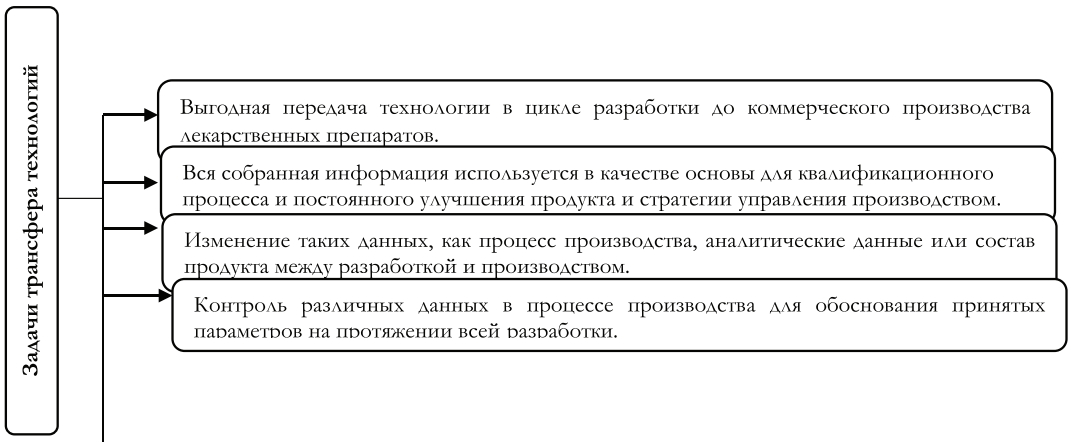


Рисунок 2. Схема основых задач трансфера технологий

Для достижения надежности технологических процессов наиболее важным является наличие полного набора исходных данных, которые детально определяют все мероприятия, необходимые для проведения, изготовления, контроля и управления процессом, а также измерения качества продукта. Этот набор данных составляется во время разработки процесса, дополняется и обновляется с накоплением опыта [6].

Превращение фармацевтического прототипа в успешный продукт требует сотрудничества многих людей. При разработке рецептуры важно понимать порядок используемых операций, критические и некритические параметры каждой операции, производственную среду и удобство использования вспомогательных веществ, которые необходимо учитывать на первых этапах разработки рецептуры, чтобы успешно провести масштабирование. [13] Этапы трансфера технологии приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Этапы трансфера технологий [6]

№ п/п	Этап трансфера	Описание
1.	Оптимизация технологического процесса	При переносе технологии со стадии разработки в промышленное производство оптимизация обычно проводится для процесса, который использовался для получения серий продуктов для клинических испытаний, и/или процесса, уже предназначенного для производства готового коммерческого продукта. На этой стадии разработки процесса уже установлен (заморожен) окончательный метод синтеза АФС и имеются в наличии валидированные аналитические методы. Это гарантирует, что не будет происходить больших изменений в свойствах активной фармацевтической субстанции (АФС), и на основании методов контроля может быть сделано надежное заключение о качестве АФС. В данном случае в фазе оптимизации технологический процесс должен быть отработан и закончен как минимум в пилотном масштабе (не менее 1/10 объема коммерческой серии) путем проведения тестовых прогонов на основе подготовленной документации со стадии разработки. Как правило, в эту документацию входят отчеты о разработке и технологический регламент. В фазе оптимизации передающей стороной должны быть подготовлены досье переноса технологии и шаблоны досье на серию в соответствии с требованиями GMP. Оптимизация процесса должна быть закончена производством передающей стороной нескольких серий, изготовленных с применением предельных значений критических параметров стандартного процесса (пограничных серий).

№ п/п	Этап трансфера	Описание
2.	Выбор производственного участка	Для начала переноса должен быть выбран и определен участок, на котором предполагается размещать производство переносимой продукции. Передающая сторона должна оценить пригодность и степень готовности принимающей стороны для переноса технологии по следующим основным параметрам: • Соответствие помещений, оборудования и других технических средств заданным требованиям; • Адекватность применяемых технологий и методов контроля качества; • Наличие и уровень поддерживающих сервисов (например, закупка и механизм учета, процедуры контроля качества, документация, компьютерная валидация, квалификация оборудования, техническое обслуживание оборудования и помещений, вода для фармацевтического производства, обращение с отходами); • Наличие, функционирование и соответствие системы фармацевтического качества требованиям GMP; • Возможность совмещения производства переносимого продукта с другими препаратами, выпускаемыми на этой площадке; • Квалификация и опыт персонала подразделений производства и контроля качества; • Логистические требования; • Коммерческие и финансовые вопросы. Для оценки может быть проведен аудит потенциальных производственных участков на соответствие указанным выше требованиям и при необходимости с привлечением для этого независимой третьей стороны.
3.	Планирование переноса технологии	Во время этапа планирования определяется и согласовывается объем и время переноса, формируется команда по переносу технологии с учетом информации, собранной и проанализированной на предыдущей фазе, при необходимости происходит обучение персонала принимающей стороны. Подготавливается протокол переноса, в котором перечисляются и описываются последовательные стадии переноса технологии. Данный протокол должен включать: • Цели и объем переноса технологии; • Ключевой персонал обеих сторон и его ответственность; • Сравнение материалов, методов и технических средств у передающей и принимающей сторон; • Стадии переноса с перечислением основных мероприятий, которые должны быть на них выполнены, и указанием документов и критериев, подтверждающих удовлетворительное выполнение каждой стадии до начала следующей; • Идентификацию критических контрольных точек; • Указание о необходимости и организации переноса аналитических методов; • Вопросы обучения персонала принимающей стороны; • Информацию об опытных производственных сериях, сериях для изучения стабильности продукта и валидации процесса; • Контроль изменений для каких-либо обнаруженных отклонений при переносе; • Оценку конечного продукта; • Мероприятия для сохранения архивных образцов активных субстанций, промежуточных и готовых продуктов, а также информацию о стандартных образцах, если необходимо. Протокол переноса технологии должен быть согласован всеми ключевыми участниками проекта передающей и принимающей сторон и утвержден уполномоченными руководителями обеих сторон.
4.	Перенос аналитических методов (при необходимости)	Перенос аналитических методов должен быть осуществлен до начала переноса технологий. Аналитические методы, используемые для испытания фармацевтических продуктов, исходных материалов, упаковочных материалов и для контроля очистки (остатков), должны быть внедрены в контрольной лаборатории, как минимум, до начала проведения испытаний образцов при валидации процесса принимающей стороной. Для переноса аналитических методов передающей стороной должен быть подготовлен протокол, определяющий стадии переноса. Протокол переноса аналитических методов должен описывать цели, объем, ответственности передающей и принимающей сторон, спецификацию материалов и методов, дизайн эксперимента и критерии приемлемости, документацию (включая информацию, которая должна быть предоставлена вместе с результатами, и форму отчета, если он требуется); отклонения, ссылки, утверждение с подписями и сведения о стандартных образцах (исходные материалы, промежуточные и готовые продукты).
5.	Перенос и масштабирование процесса	Во многих случаях перенос технологии включает изменение объема серии, т.е. ее увеличение или уменьшение. В случае отсутствия масштабирования при переносе технологии, например при переносе товарного продукта на другой участок для производства по контракту, этот этап необходим для адаптации процесса и продукта при переносе и достижения уверенности в том, что будут учтены имеющиеся различия в оснащении участков и другие существенные различия между передающей и принимающей сторонами. На этапе переноса и масштабирования должно быть доказано, что предназначенный для переноса процесс будет воспроизводиться в заданном окончательном масштабе в условиях и на оборудовании, имеющихся у принимающей стороны. Для этого масштабирование должно быть проведено как передающей, так и принимающей сторонами.

№ п/п	Этап трансфера	Описание
6.	Изготовление серий (при необходимости)	Изготовление серий продукта необходимо в случае переноса технологии новых, еще незарегистрированных продуктов, для изучения их стабильности и установления срока годности. Оно должно проводиться на участке и на оборудовании, предназначенных для промышленного производства, с использованием стандартного процесса и окончательной производственной рецептуры продукта.
7.	Валидация процесса и завершение переноса	Завершающей стадией переноса технологии является валидация процесса, когда процесс окончательно верифицируется путем изготовления трех последовательных серий, все из которых должны соответствовать утвержденным спецификациям продукта. За проведение и документирование валидации процесса в соответствии с требованиями GMP отвечает принимающая сторона. Успешное проведение валидации процесса должно быть задокументировано в отчете. После этого, в соответствии с требованиями GMP, возможно самостоятельное производство и выпуск перенесенного продукта принимающей стороной. Это означает завершение переноса технологии, что подтверждается в заключительном отчете, составленном и подписанном обеими сторонами.
8.	Производство после переноса	Этот этап выходит за рамки переноса технологии. Однако он является необходимым с точки зрения прослеживаемости жизненного цикла продукта. Ответственность и степень участия передающей стороны на этапе производства после переноса регулируется соответствующими соглашениями между сторонами, составленными на этапе переноса технологии или последующего производства. Окончательная ответственность лежит на владельце регистрационного удостоверения на продукт. В случае передачи продукта с разработки на производство передающая сторона должна поддерживать коммуникацию с производителем продукта (принимающей стороной) в случае возникновения каких-либо отклонений от качества продукта или проведения процесса, а также любых других непредвиденных инцидентов с продуктом.

Особенность этапа переноса технологии состоит в значительном изменении параметров и условий производства продукта и появлении новых факторов, оказывающих влияние на этот процесс и непосредственно на сам продукт. При переносе технологии следует учесть эти изменения и факторы, а также доказать, что они не оказывают неблагоприятного влияния на качество продукта, и перенос технологии проводится с соблюдением обязательных требований.

Для изучения возможного влияния различных факторов на качество лекарственного средства используется подход на основе оценки рисков. При проведении анализа рисков для качества лекарственных средств могут применяться различные методы, например, такие как [14]:

- Анализ видов, последствий и критичности отказов (Failure Mode, Effect and Criticality Analysis, FMECA);
- Анализ дерева ошибок (Fault Tree Analysis, FTA);
- Анализ опасности и критические контрольные точки (Hazard Analysis and Critical Control Points, HACCP);
- Исследования опасности и пригодности к эксплуатации (Hazard and Operability Studies, HAZOP);
- Предварительный анализ опасности (Preliminary Hazard Analysis, PHA).

Независимо от применяемых методов анализа рисков общая схема его проведения включает в себя следующие этапы:

- Анализ системы и идентификация рисков;
- Оценка наличия рисков и/или уровня рисков;
- Сравнение проанализированных рисков с критериями приемлемости;
- Устранение или снижение уровня неприемлемых рисков.

Области производства лекарств, на которые стоит обратить внимание при анализе рисков:

- Технологический процесс производства продукции;
- Вспомогательные процессы производства;
- Материалы, продукты и среды, используемые и обращающиеся в производстве;
- Факторы окружающей среды и условий производства.

При проведении рисков критические факторы должны быть изучены с точки зрения возможных рисков влияния на качество. Идентификация риска касается вопроса: «Что может пойти неправильно?», ответ на который, в свою очередь, определяет возможные последствия.

Успешного результата в переносе технологии можно добиться только в том случае, если гарантируется достижение поставленной задачи в соответствии с целями организации и выполнение требований GMP для передаваемого продукта и процесса [6,15].

Полноценная разработка и производство качественного, эффективного и безопасного лекарственного препарата невозможна без трансфера технологии. Для успешного проведения передачи технологии необходимо соблюдение этапов трансфера технологии, учет всех возможных рисков и правильное оформление всей документации. Также успех во многом определяется осведомленностью и хорошей совместной работой всех сторон, участвующих в процессе.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Оригинальный алгоритм действий при подготовке нового лекарственного препарата производителем лекарственных средств. Стадия 2: Трансфер технологий / А.В. Басевич [и др.] // Формулы Фармации. 2021. Т. 3. N 1. С. 18-30. https://doi.org/10.17816/phf48535

2. Резцов Е., Могилюк В., Рябко Д. Трансфер технологий в фармацевтической отрасли // Фармацевтическая отрасль. 2010. N 2(19). С. 49-52.

3. Ставка на трансфер: развитие регуляторной базы для развития фармацевтической промышленности / А.И. Рудько [и др.] // Фармация. 2020. N 7. С. 5-9 https://doi.org/10.29296/25419218-2020-07-01

4. Абросимова О.Н., Буракова М.А. Масштабирование процесса гранулирования в условиях GMP тренинг-центра и оценка возможных рисков // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10. N 3. С. 131-137. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-131-137

5. Annex 7. WHO guidelines on transfer of technology in pharmaceutical manufacturing // WHO Technical Report Series. 2011. N 961. P. 285-309.

6. Береговых В.В., Спицкий О.Р. Перенос технологий при создании производства лекарственного средства // Вестник Российской академии медицинских наук. 2013. Т. 68. N 12. С. 49-57. https://doi.org/10.15690/vramn.v68i12.860

7. Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза: Решение №77 от 03.11.2016 [Электронный ресурс]. URL: https://docs.cntd.ru/document/456026099 (дата обращения 01.03.2022).

8. Власенко Ю.В. Проектно-ориентированный подход к разработке готовых лекарственных средств на примере дженерикового многокомпонентного препарата, содержащего амоксициллин и клавулановую кислоту // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. N 1. С. 30-36.

9. Демина Н.Б. Фармацевтическая разработка: обзор оборудования для лабораторной разработки и наработки опытных партий твердых лекарственных форм // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. N 1. С 38-46.

10. Документирование фармацевтической разработки. Часть 2. Документы системы качества / И.Е. Смехова [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10. N 2. С. 147-153. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-2-147-153

11. Technology Transfer in Pharmaceutical Industry: Facts and Steps Involved / Sheikh Y [et al.] // American Journal of PharmTech Research. 2012. Vol. 2(4). P. 73-82.

12. Pavithra G.M., Manoranjith S. Nagalakshmi. An overview of technology transfer as a regulatory aspect // International Journal of Applied Pharmaceutics. 2021. Vol. 13(2). P. 14-19

13. An overview on technology transfer of pharmaceutical industry / S. Shalini [et al.] // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2020. Vol. 11(2). P. 573-579. https://doi.org/10.22159/ijap.2021v13i2.40067

14. Береговых В.В., Спицкий О.Р. Применение подхода, основанного на рисках, для определения критических факторов при переносе технологии в производстве лекарственных средств // Вестник Российской академии медицинских наук. 2014. Т. 69. N 9/10. С. 117-122. https://doi.org/10.15690/vramn.v69i9-10.1140

15. John R.M. Technology transfer in pharmaceutical industry // Pharma Innovation Journal. 2017. N 6(3). P.235-240.

SUMMARY

TECHNOLOGY TRANSFER IN THE PHARMACEUTICAL INDUSTRY

Nikitina A.V., 2nd year student (ORCID: 0000-0002-6472-7108)
Scientific supervisor: **Abrosimova O.N.,** Candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor
(ORCID: 0000-0002-0274-0139)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: anna.nikitina@spcpu.ru

Technology transfer plays an important role in the development of the pharmaceutical industry, as it affects the successful development of a new drug and its commercialization, as well as an increase in the production of already registered drugs. Achieving success directly depends on the understanding of this process and its effective use by all parties involved. This review article discusses the main stages of technology transfer, as well as approaches and requirements for technology transfer at all stages of the drug life cycle.

Keywords*: technology transfer, technology transfer, scaling, risk analysis.*

REFERENCES

1. The development of an algorithm for introduction of a new drug on the existing pharmaceutical production. Stage 2. Transfer of technologies / A.V. Basevich [et al.] // Pharmacy Formulas. 2021. Vol. 3(1). P. 18-30. https://doi.org/10.17816/phf48535. (in Russian)

2. Reztsov E., Mogiliuk V., Ryabko D. Technology transfer in the pharmaceutical industry. Pharmaceutical industry. 2010. N 2(19). P. 49-52. (in Russian)

3. Stake on transfer: evolution of a regulatory framework for the development of the pharmaceutical industry / A.I. Rudko [et al.] // Pharmacy. 2020. N 7. P. 5-9 https://doi.org/10.29296/25419218-2020-07-01. (in Russian)

4. Abrosimova O.N., Burakova M.A. Scaling of the Granulation Process in the Conditions of GMP Training Center and Assessment of Possible Risks // Drug development & registration. 2021. Vol. 10(3). P. 131-137. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-131-137. (in Russian)

5. Annex 7. WHO guidelines on transfer of technology in pharmaceutical manufacturing // WHO Technical Report Series. 2011. N 961. P. 285-309.

6. Beregovykh V.V., Spitskii O.R. Technology transfer to the facility for production of medicines // Annals of the Russian academy of medical sciences. 2013. Vol. 68(12). P. 49-57. https://doi.org/10.17816/phf48535. (in Russian)

7. Approving the Good Manufacturing Practice Rules of the Eurasian Economic Union : Decision No. 77 of 03.11.2016. [Internet] URL: https://docs.cntd.ru/document/456026099 (Accessed 01.03.2022). (in Russian)

8. Vlasenko Yu.V. Project-oriented approach to finished pharma product development in the context of generic polycomponent drug containing amoxycillin and clavulanic acid // Drug development & registration. 2016. N 1. P. 30-36. (in Russian)

9. Diomina N.B. Pharmaceutical development: review of equipment for laboratory development and pilot batches production of solid dosage forms // Drug development & registration. 2016. N 1. P. 38-46. (in Russian)

10. Documentation of Pharmaceutical Development. Part 2. Quality System Documents / I.E. Smekhova [et al.] // Drug development & registration. 2021. Vol. 10(2). P. 147-153. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-2-147-153. (in Russian)

11. Technology Transfer in Pharmaceutical Industry: Facts and Steps Involved / Sheikh Y [et al.] // American Journal of PharmTech Research. 2012. Vol. 2(4). P. 73-82.

12. Pavithra G.M., Manoranjith S. Nagalakshmi. An overview of technology transfer as a regulatory aspect // International Journal of Applied Pharmaceutics. 2021. Vol. 13(2). P. 14-19

13. An overview on technology transfer of pharmaceutical industry / S. Shalini [et al.] // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2020. Vol. 11(2). P. 573-579. https://doi.org/10.22159/ijap.2021v13i2.40067

14. Beregovykh V.V., Spitskii O.R. Application of risk-based approach for determination of critical factors in technology transfer of production of medicinal products // Annals of the Russian academy of medical sciences. 2014. Vol. 69(9/10). P. 117-122. https://doi.org/10.15690/vramn.v69i9-10.1140. (in Russian)

15. John R.M. Technology transfer in pharmaceutical industry // Pharma Innovation Journal. 2017. N 6(3). P.235-240.

УДК 615.326:549.67

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ДЕСОРБЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК МИНЕРАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЖЕЛЕЗА

Новикова Н.Б., маг. 2 года обучения, **Гамаюнова Т.С.**, маг. 2 года обучения
Руководитель: **Бондарев А.В.**, канд. фарм. наук, доц. (ORCID: 0000-0003-0077-7031)
Белгородский государственный национальный исследовательский университет
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85
E-mail: bondarev_@bsu.edu.ru

Исследованы морфологические и десорбционные характеристики минеральной системы доставки железа на основе монтмориллонитовой глины. Установлено, что исследуемое вещество является микроструктурным объектом. Определена пористость в образцах монтмориллонитовой глины. Отмечено выделение ионов железа из минеральной системы в модельной среде желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: *минеральная система доставки железа, десорбция, морфология.*

Железодефицитная анемия широко распространена и наносит большой экономический ущерб. Основной причиной анемии является дефицит железа. Железо – один из пятнадцати жизненно необходимых микроэлементов, играющий ключевую роль в процессах метаболизма, роста и пролиферации клеток. По данным Всемирной организации здравоохранения железодефицитная анемия встречается у 1,62 млрд жителей Земли. Латентный дефицит железа регистрируется у 3,6 млрд человек на планете. В среднем 2 из 10 человек в популяции имеют малокровие, но в некоторых странах доля граждан с железодефицитной анемией гораздо больше, в силу неблагоприятных социальных и экономических условий, национальных особенностей диеты. Кроме того, в некоторых социальных группах распространённость железодефицитной анемии выше [1].

Клинические проявления дефицита железа известны давно и включают развитие гипохромной анемии и сидеропенического синдрома, к которому относят извращение вкуса, сухость кожи, изменение ногтей, выпадение волос, ангулярный стоматит, жжение языка, диспептический синдром. Разнообразие симптомов при заболеваниях, связанных с дефицитом железа, объясняется широким спектром метаболических нарушений, к которым приводит дисфункция железосодержащих и железозависимых ферментов. К менее известным клиническим проявлениям железодефицита относятся невротические реакции, снижение работоспособности мышц и общей толерантности к физической нагрузке, нарушения метаболических процессов в миокарде, расстройства периферического кровообращения и микроциркуляции оворить о гомеостазе железа.

В организме здорового человека содержится около 3-5 г железа. Из этого количества большая часть железа в количестве 2100 мг входит в состав клеток крови и костного мозга, 600 мг содержатся в макрофагах различных типов, 1000 мг – в клетках печени и лишь около 400 мг железа входят в состав других клеток организма.

Для лечения железодефицитных анемий применяют препараты железа. Препараты железа перорального применения более предпочтительны по сравнению с медикаментами парентерального введения. Терапевтический эффект от препаратов железа, применяемых *per os*, наступает несколько позже, чем при назначении внутривенно или внутримышечно, но побочные эффекты при назначении внутрь возникают существенно реже.

Минеральные вещества с сорбционными свойствами возможно использовать для создания системы доставки железа в организм. Основным механизмом связывания, транспорта и выделения железа в таких системах является сорбционный механизм. Одними из путей изучения сорбционных процессов в терапевтических системах доставки лекарственных веществ является исследование морфологической микроструктуры сорбента-носителя, а также десорбционные свойства лекарственного вещества. Под морфологической микроструктурой понимается совокупная характеристика элементов, включающая в себя их размер, форму и пространственную организацию. Морфология элементов может существенным образом различаться в зависимости от состава материала, его кристаллической структуры и способа получения. Зная физико-химические свойства вещества, в частности морфологию поверхности, можно прогнозировать сорбционные характеристики. Изменение морфологии поверхности является действенным способом управления функциональными характеристиками сорбционных веществ [2].

Изучение десорбционных характеристик лекарственного вещества в терапевтической системе доставки позволяет сделать прогноз эффективности фармакологической активности разрабатываемого лекарственного препарата. Минеральную систему предварительно насыщают необходимым лекарственным веществом и в дальнейшем применяют в режиме десорбции. Лекарственное вещество имеет большую активную площадь на минеральном сорбенте-носителе за счет сорбции мономолекулярным слоем. Согласно нашей рабочей гипотезе предполагается, что полученная сорбционная лекарственная система сможет выполнять функцию транспортного средства доставки лекарственного вещества в организм.

Цель. Исследование морфологических и десорбционных характеристик минеральной системы доставки железа.

Задачи исследования:

1. провести электронную микроскопию и исследование структурных особенностей минерального сорбента;
2. исследовать десорбционные свойства минерального сорбента.

Материалы и методы. В исследовании использовали монтмориллонитовою глину (ТУ 9296-001-62646221-2012, Россия) с массовой долей Fe^{3+} 5,50 % и обогащенную Fe^{2+}. Предварительно провели отмучивание и обогащение глины.

Методика отмучивания: разделение минеральных твердых тел, основанное на различной скорости их падения в жидкой среде, проводили в реакторе с мешалкой. Одну часть минерального сырья монтмориллонитовой глины и 10 частей воды загружали в реактор и перемешивали в течение часа, после чего отстаивали сутки, затем перемешивали еще 10 минут и отстаивали 1 час. Верхняя часть представляет собой воду, средняя – коллоидный раствор глины в воде, нижняя – неглинистые твердые вещества. После отстаивания средний коллоидный слой суспензии глины декантировали от жидкой фазы и отбирали сифонированием. Отмучивание проводили три раза. Контроль освобождения глины от песчаных примесей производили растиранием ее между двумя стеклами. Критерием эффективности отмучивания является отсутствие в глине песчаных частиц. Центрифугирование проводили в течение 5 минут при режиме работы центрифуги 3 тысячи оборотов в минуту. Сушку глины осуществляли в сухожаровом шкафу при температуре 120 °С в течение 180 минут. В результате получена глина с размером частиц 1-20 мм. Указанные нормативы сушки установлены практическим путем как наиболее эффективные. Механическую обработку проводили в шаровой мельнице МЛ-1 с последующим контролем формы и размера частиц. Экспериментально установлено, что оптимальное время механической обработки составляет 45 минут.

Методика обогащения: глину поместили в колбу объемом 500 мл, заливали водой в массовом соотношении глина к воде 1:10. Полученную суспензию перемешивали в течение двух часов при комнатной температуре, после одного часа перемешивания в суспензию добавили по каплям 0,1 М раствор $FeSO_4$ (массовое соотношение глины к модифицирующему агенту 20:1). После окончания обработки глину промывали дистиллированной водой, фильтровали и высушивали при 120°С в сушильном шкафу в течение 2 часов [3].

Для исследования морфологии использовали растровую электронную микроскопию (РЭМ). Микроскопы FEI Quanta 600, FEG Quanta 200 3D с режимом низкого вакуума – детектором LFD. РЭМ использует принцип развертки тонкого пучка электронов по поверхности образца. Каждая точка образца последовательно облучается сфокусированным электронным пучком, который перемещается по исследуемой поверхности, в результате возникают ответные сигналы различной физической природы (отраженные и вторичные электроны, Оже-электроны, рентгеновское излучение), которые используются для синхронного построения изображения. Описание объекта проводили согласно методике [4-5]. РЭМ проведена на базе ЦКП «Технологии и материалы» НИУ «БелГУ».

Основная часть. На рисунке 1 представлены микрофотографии монтмориллонитовой глины. Для проведения анализа применили метрику в единицах измерения – микрометр, а также сегментирование элементов как подсистем, внутрь которых описание не проникает. Сегментирование элементов представлено двумя уровнями организации: 1 уровень – это микрофотографии а-б, второй уровень – в-г.

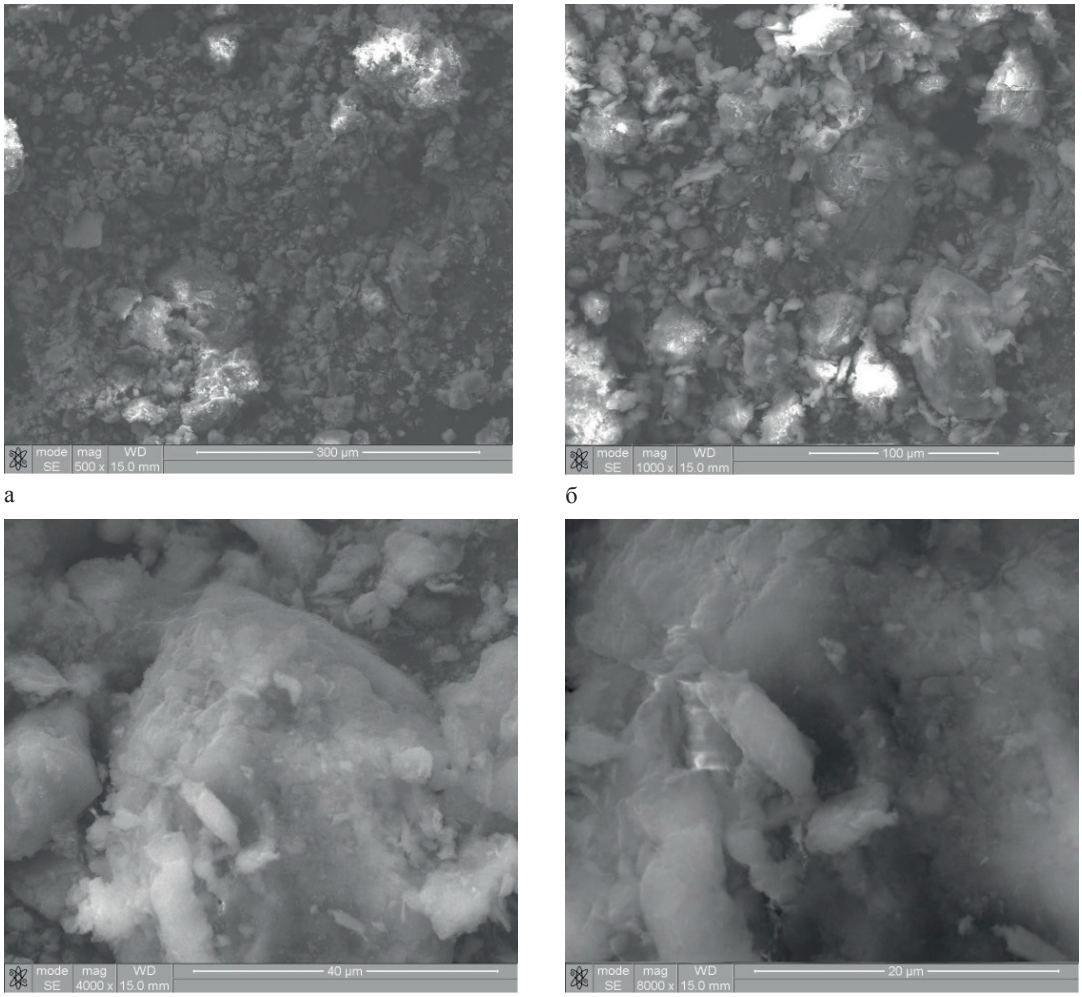


Рисунок 1. Микрофотографии монтмориллонитовой глины.
Масштабный отрезок: а – 300 мкм, б – 100 мкм, в – 40 мкм, г – 20 мкм

Монтмориллонитовая глина, представленная на рисунке 1, на первом уровне организации состоит из равноосных частиц пластинчатой формы с неровной поверхностью, острыми краями, трещинами; средний размер частиц составил 2-5 мкм. Встречаются агрегаты с хлопьевидными очертаниями, складчатые образования. На втором уровне организации при увеличении в 4-8 тысяч раз пластинчатые частицы объединены в более крупные элементы. Имеются поры различных размеров, образованные соединением пластинчатых элементов между собой.

В настоящее время в России исследования по разработке лекарственных форм второго поколения – терапевтических систем доставки лекарственных веществ, в которых основным механизмом транспорта является процесс сорбции, не проводились. Морфологический анализ сорбционных веществ позволил разработать классификацию возможного взаимодействия вещества-носителя с лекарственной молекулой в транспортной лекарственной системе [6]. Согласно представленной классификации, исследуемые материалы по пористым характеристикам делятся на две группы:

1 группа – сорбционное взаимодействие в порах (уголь активный), сорбционное взаимодействие в порах и посредством ионнообмена (смектит, монтмориллонитовая глина), сорбция во вторичных порах и посредством кислородных и гидроксильных центров (каолин);

2 группа – сорбция на кислородных центрах (кремния диоксид), сорбция посредством комплексообразования (повидон).

Таким образом, монтмориллонитовая глина относится к первой группе и обладает высокой реакционной способностью с различными органическими и неорганическими молекулами, взаимодействующими посредством ионного обмена, вторичным связыванием или ковалентной связью с получением новых соединений. При модификацировании монтмориллонитовой глины ионным обменом промежуточные компенсирующие катионы можно обменивать с широким спектром гидратированных неорганических или органических катионов, в том числе аминов или четвертичных аммониевых солей. Как в тетраэдрическом, так и в октаэдрическом слоях могут происходит изоморфные замещения. Если ионы алюминия замещается на ионы с меньшим положительным зарядом, как Fe^{2+}, Mg^{2+}, то структурный каркас приобретает отрицательный заряд. Чтобы сохранить электронейтральность в межплоскостные пространства необходимо внедрить катионы. На реализацию внедрение катионов влияет величина ионного радиуса катиона, проникающего в слоистую структуру и степень его гидратации. Монтмориллонитовая глина по сравнению с другими глинистыми минералами имеет наибольшую катионную емкость. Это объясняется тем, что катионы монтмориллонита в водных суспензиях свободно обмениваются с катионами раствора внутри межплоскостных пространств, на краях и углах граней.

Для определения количества выделяемых ионов железа модифицированной монтмориллонитовой глиной моделировали условия желудочно-кишечного тракта: pH=2, t=37°C, масса навески 1,0 г. На рисунке 2 представлена линейная диаграмма изменения концентрации ионов Fe^{3+} во времени.

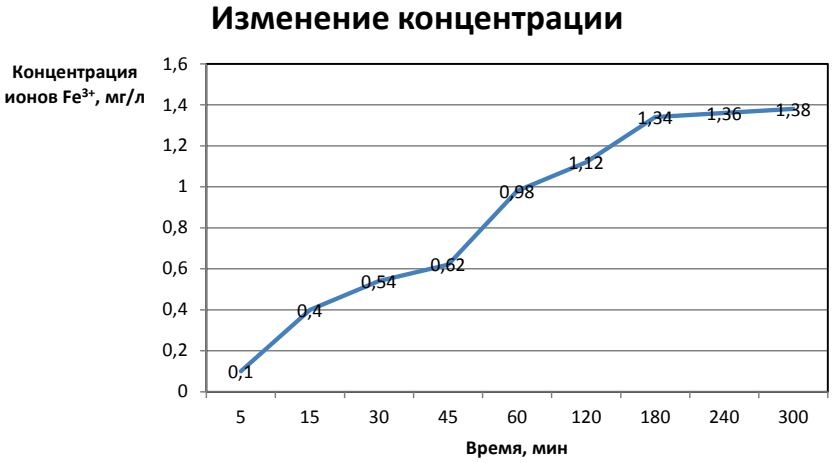


Рисунок 2. Линейная диаграмма изменения концентрации ионов Fe^{3+} во времени

Согласно представленным данным, во время эксперимента при контакте монтмориллонитовой глины с модельным раствором происходит увеличение концентрации ионов Fe^{3+} от 0 до 1,38 мг/л. Из 1,0 г монтмориллонитовой глины в течение 5 часов высвобождается 1,38 мг ионов Fe^{3+}. После 180 минут эксперимента наблюдается замедление процесса десорбции железа. Таким образом, концентрация десорбированных ионов Fe^{3+} в течение 180 мин приходит в равновесное состояние. Из 1,0 г обогащенной монтмориллонитовой глины в течение 180 минут высвобождается 1,34 мг Fe^{3+}. Анализируя полученные данные при изучении десорбционных характеристик монтмориллонитовой глины можно сделать вывод, что в кислой среде модельного раствора желудочно-кишечного тракта происходит выделение ионов Fe^{3+}.

Заключение

Проведена электронная микроскопия объекта с применением сегментирования элементов как подсистем, внутрь которых морфологическое описание не проникает. Изучена морфология объекта. Установлено, что исследуемое вещество является микроструктурным объектом. Определена пористость в образцах монтмориллонитовой глины. Сорбционное взаимодействие может происходить в порах и посредством ионнообмена. Благодаря высокой катионообменной способности монтмориллонитовой глины ионы из раствора могут замещаться на ионы в кристаллической решетке и на поверхности минерала. Отмечено выделение ионов железа в кислой среде желудочно-кишечного тракта. Из 1,0 г обогащенной монтмориллонитовой глины в течение 180 минут высвобождается 1,34 мг Fe^{3+}. Полученные данные подтверждают рабочую гипотезу о возможности использования монтмориллонитовой глины в качестве минеральной системы доставки железа при анемиях.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.36 Лекарственные средства из природного сырья

ЛИТЕРАТУРА

1. Стуклов Н.И., Митченкова А.А. Анемия и дефицит железа. Глобальные проблемы и алгоритмы решений // Терапия. 2018. N 6. С. 147-156.

2. Исследование морфологии сорбционных веществ / А.В. Бондарев [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2019. Т. 8. N 2. С. 33-37. http:dx.doi.org/10.33380/2305-2066-2019-8-2-33-37.

3. Антибактериальные свойства модифицированного бентонита месторождения «Там Бо» / Бу Куанг Ку [и др.] // Научный результат. Фармакология. 2016. N 3. С. 63-74.

4. Оценка размера и формы частиц фармацевтических субстанций микроскопическим методом / Е.С. Новик [и др.] // Успехи современного естествознания. 2016. N 11 (часть 2). С. 249-255.

5. Высокоэффективные технологии измерения формы и размера частиц при разработке и обеспечении качества твердых лекарственных форм // Фармацевтическая отрасль. 2013. N 3(38). С. 96-100.

6. Бондарев А.В., Жилякова Е.Т., Автина Н.В. Минеральные носители для пероральной доставки лекарственных веществ // Фармация. 2022. N 1. С. 10-16. http:dx.doi.org/10.29296/25419218-2022-01-02.

SUMMARY

INVESTIGATION OF MORPHOLOGICAL AND DESORPTION CHARACTERISTICS OF THE MINERAL IRON DELIVERY SYSTEM

Novikova N.B., 2nd year master student, **Gamayunova T.S.**, 2nd year master student
Scientific supervisor: **Bondarev A.V.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor,
ORCID: 0000-0003-0077-7031
Belgorod State National Research University
85 Pobedy Str., Belgorod, 308015, Russia
E-mail: bondarev_@bsu.edu.ru

Morphological and desorption characteristics of a mineral iron delivery system based on montmorillonite clay have been investigated. It is established that the substance under study is a microstructural object. Porosity in montmorillonite clay samples was determined. The release of iron ions from the mineral system in the model environment of the gastrointestinal tract was noted.

Keywords: *mineral iron delivery system, desorption, morphology.*

REFERENCES

1. Stuklov N.I., Mitchenkova A.A. Anemia and iron deficiency. Global problems and algorithms of solutions // Therapy. 2018. N 6. P. 147-156. (in Russian)
2. Investigation of the morphology of sorption substances / A.V. Bondarev [at al.] // Development and registration of medicines. 2019. Vol. 8(2). P. 33-37. http:dx.doi.org/10.33380/2305-2066-2019-8-2-33-37. (in Russian)
3. Antibacterial properties of modified bentonite from the Tam Bo deposit / Bu Quang Ku [at al.] // Scientific result. Pharmacology. 2016. N 3. P. 63-74. (in Russian)
4. Evaluation of the size and shape of particles of pharmaceutical substances by microscopic method / E.U. Novik [at al.] // The successes of modern natural science. 2016. N 11 (part 2). P. 249-255. (in Russian)
5. Highly efficient technologies for measuring the shape and size of particles in the development and quality assurance of solid dosage forms // Pharmaceutical industry. 2013. N 3(38). P. 96-100. (in Russian)
6. Bondarev A.V., Zhilyakova E.T., Avtina N.V. Mineral carriers for oral drug delivery // Pharmacy. 2022. N 1. P. 10-16. http:dx.doi.org/10.29296/25419218-2022-01-02. (in Russian)

УДК 665.584.25

РАЗРАБОТКА СОСТАВА ОСНОВЫ ЛЕЧЕБНО-КОСМЕТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ АКНЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ПЛАНИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Новиньков А.Г., студ. 4 курса (ORCID: 0000-0001-5704-4344)
Руководители: **Буракова М.А.,** канд. фарм. наук, доцент (ORCID: 0000-0002-3880-0359)
Сорокин В.В., канд. фарм. наук зав. кафедры, доцент (ORCID: 0000-0002-7262-0941)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: aleksandr.novinkov@spcpu.ru

Представлены результаты исследования по разработке состава основы лечебно-косметического средства с применением метода планирования эксперимента в программе для обработки статистических данных «Minitab». Получены уравнения, связывающие показатели качества основы крема: динамическая вязкость, период полурелаксаци, растекаемость с применяемыми в технологии производства эмульгаторами (МГД, препарат ОС-20, эмульсионный воск).

На основе проведенных исследований разработан рациональный состав основы лечебно-косметического средства для коррекции акне.

Ключевые слова: *динамическая вязкость, период полурелаксации, растекаемость, Minitab, планирование эксперимента, диаграмма Парето.*

Введение. При разработке составов и технологии большинство экспериментальных исследований формируются как задачи, связанные с определением рациональных составов композиций и условий технологического процесса. Пути поиска рецептур и технологических факторов различны. Чаще всего такие задачи ставятся путем пассивного эксперимента, заключающегося в последовательном изучении влияния на свойства лечебно-косметического средства каждого из факторов. Данный метод связан со значительными затратами времени и материалов. Одновременно варьировать все

факторы и получать количественную оценку основных факторов и эффектов их взаимодействия, а также оптимизировать состав основы лечебно-косметического средства позволяют методы математического планирования эксперимента, представляющие собой процедуру выбора условий и числа проведения опытов, необходимых и достаточных, чтобы решить поставленные задачи с требуемой точностью. Преимуществами метода планирования эксперимента в программе для обработки статистических данных «Minitab» являются сокращение времени и средств при проведении эксперимента, а также повышение достоверности результатов опытов.

Практический интерес представляет получение математической модели и установление на ее основе состава основы лечебно-косметического средства (крема) для коррекции акне.

Целью работы является разработка состава основы лечебно-косметического средства (эмульсионного крема) с заданными реологическими показателями.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Создание плана эксперимента в программе для обработки статистических данных «Minitab»;
2. Получение зависимостей, описывающих влияние показателей технологического процесса и состава смеси на показатели качества основы крема;
3. Поиск оптимального состава основы крема.

Объектом исследования явились образцы основы крема. Состав каждого образца, полученного в ходе планирования эксперимента, обозначен в таблице 1. Для изменяемых параметров были установлены следующие границы их содержания:

• МГД (моноглицериды дистиллированные, CAS 123-94-4) – белое или слегка желтоватое воскоподобное вещество, используется как эмульгатор. Содержание от 2% до 6%.

• Препарат ОС-20 (смесь полиоксиэтиленгликолевых эфиров высших жирных спиртов, CAS 68439-49-6) – воскообразные чешуйки от белого до желтого цвета, эмульгатор. Содержание от 1% до 4%.

• Воск эмульсионный (CAS 8014-38-8) – гомогенная твердая масса беловатого цвета, растворяется в маслах, жирах, углеводородах, эмульгатор. Содержание от 1% до 5%.

Таблица 1 – Состав основы эмульсионного крема

№ опытов / Компоненты	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9
	Содержание компонентов в образцах основы, %								
МГД	2	6	2	6	2	6	2	6	4
Препарат ОС-20	1	1	4	4	1	1	4	4	2,5
Воск эмульсионный	1	1	1	1	5	5	5	5	3
Глицерин	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Масло кукурузное	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Масло кокосовое	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Спирт цетиловый	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Салициловая к-та	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Эуксил PE 9010	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Триэтаноламин	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Вода очищенная	До 100	До 100	До 100	До 100	До 100	До 100	До 100	До 100	До 100

За функции отклика были приняты показатели:

• Динамическая вязкость, которая измерялась на ротационном вискозиметре Anton Paar DV-2P, Австрия.

• Период полурелаксации, определяемый на специальном приборе, сконструированном в Санкт-Петербургском государственном химико-фармацевтическом университете под руководством профессора доктора фармацевтических наук В. А. Вайнштейна [1].

• Растекаемость, для определения которой была взята проба в 1 мл. с использованием шприца трехкомпонентного одноразового на 10 мл.

Методом исследования являлся «Design of Experiments» (планирование эксперимента). Использовался полный двухфакторный эксперимент с тремя оцениваемыми параметрами и одной центральной точкой. Соотношение эмульгаторов в каждом из опытов было задано в программе для обработки статистических данных «Minitab».

Нахождение оптимальных значений параметров представляет из себя важнейшую задачу, которая решается при разработке основ лечебно-косметических средств, управлении целым производством или технологическими процессами. Правильный выбор точного количества компонентов, вводимых в исследуемый объект, определяет его конечные свойства. В ходе обработки экспериментальных данных в программе «Minitab» получены зависимости нахождения эмульгаторов в составе на реологические свойства основы крема.

Оценка качества полученных образцов проводилась по следующим критериям, представленных в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели качества полученных образцов основы крема

Оцениваемый параметр	Критерий желательности
Динамическая вязкость	23000 мПа*с
Период полурелаксации	1,8 м
Растекаемость	0,8 см

Выбор данных параметров обуславливается их практической значимостью. Динамическая вязкость представляет собой свойство жидких тел оказывать сопротивление при перемещении одной их части относительно другой. Именно с помощью него определяется густота, текучесть, обрабатываемость косметических продуктов [2].

В качестве числового критерия структурно-механических свойств крема использовался период 50% релаксации, то есть время, за которое произойдет тиксотропное восстановление структуры наполовину. Этот показатель сообщает о легком и быстром распределении эмульсии на коже при намазывании [1].

Растекаемость представляет из себя площадь поверхности кожи, на которую распространится эмульсионный крем за 10 минут. Этот критерий является определяющим показателем при оценке способности крема впитываться и времени, за которое исчезнет ощущение жирности [3].

Процессуальная схема получения основы эмульсионного крема, заключающаяся в раздельном приготовлении водной и масляной фазы при температуре 80^{0}С и их последующей гомогенизации в течение 10 минут, представлена на рисунке 1. После остывания полученного крема в него вводится консервант.

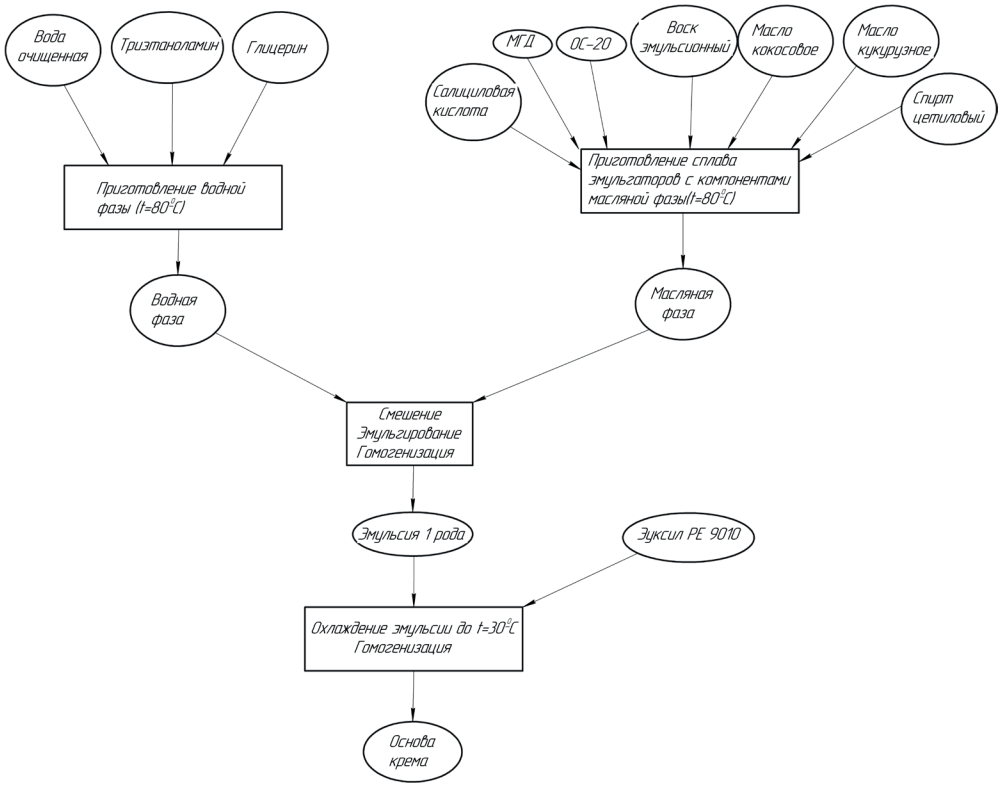


Рисунок 1. Процессуальная схема получения основы для эмульсионного крема

По окончании проведения эксперимента производился контроль качества приготовленных образцов. Количественные величины показателей качества основы эмульсионного крема представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Оценка показателей качества основы эмульсионного крема

№ опытов / Показатель	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9
Динамическая вязкость, мПа*с	16588	27389	2703	9322	17654	31779	8113	18133	12988
Период полурелаксации, мин.	0,93	1,95	0,02	0,05	2,60	3,05	0,07	1,06	0,64
Растекаемость, см	1,0	0,7	2,0	1,7	0,8	0,6	1,9	1,2	1,3

Динамическая вязкость измерялась при фиксированном количестве оборотов шпинделя – 20 оборотах. Для определения периода полурелаксации строился график зависимости напряжения сопротивления структуры от логарифма времени при введенном тестере. Линейная зависимость позволяет определить скорость релаксации напряжения, а из него период полурелаксации – время, за которое напряжение снижается в два раза. Растекаемость определялась по размеру пятна на горизонтальной поверхности через 10 минут после нанесения 1 мл образца.

Уравнения, описывающие зависимость между независимыми переменными и откликами, представлены в виде линейных уравнений.

$$\text{Динамическая вязкость} = 13481 + 2598 * \text{МГД} - 4595 * \text{ОС} - 20 + 1230 * \text{Эмульс. воск}$$

$$\text{Растекаемость} = 1{,}017 - 0{,}0938 * \text{МГД} + 0{,}3083 * \text{ОС} - 20 - 0{,}0563 * \text{Эмульс. воск}$$

$$\text{Период полурелаксации} = 1{,}339 + 0{,}156 * \text{МГД} - 0{,}611 * \text{ ОС} - 20 + 0{,}2392 * \text{Эмульс. воск}$$

При анализе представленных уравнений установлено, что МГД и эмульсионный воск повышают динамическую вязкость и период полурелаксации, но при этом уменьшают растекаемость основы эмульсионного крема. Препарат ОС-20 увеличивает растекаемость образца, при этом динамическая вязкость и период полурелаксации уменьшаются.

Важной частью обработки экспериментальных данных являлась проверка статистической значимости используемых параметров. Для установления значимости факторов использовалась диаграмма Парето – на ней изображаются абсолютные значения влияния факторов, а красной контрольной линией отмечается значение критерия Стьюдента. Статистически значимыми являлись те факторы, для которых рассчитанное значение критерия Стьюдента превышает табличное – рисунок 2.

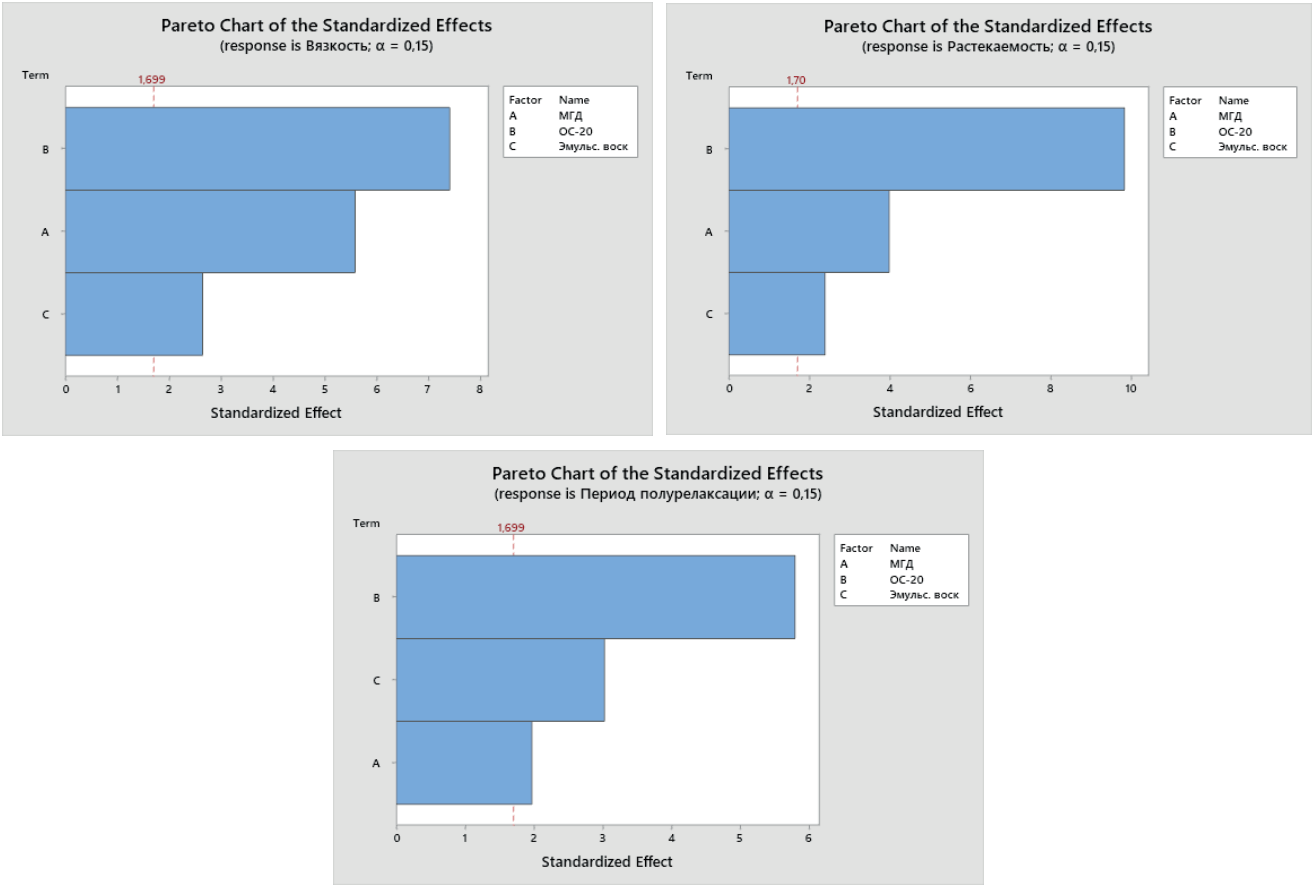


Рисунок 2. Оценка влияния факторов на вязкость, растекаемость и период полурелаксации

В соответствии с представленными тремя диаграммами Парето для вязкости, периода полурелаксации и растекаемости можно сделать вывод, что все компоненты являются статистически значимыми.

Для установления рационального состава основы крема с требуемыми критериями желательности использовали функцию «response optimizer» (оптимизация функции отклика), с помощью которой можно определить искомый состав основы, представленный на рисунке 3. Данный метод позволяет провести анализ влияния содержания каждого из компонентов в составе на изменение показателей качества продукции.

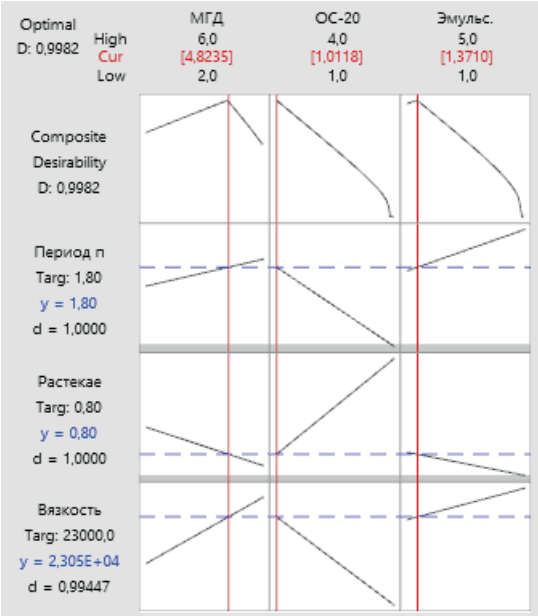


Рисунок 3. График оптимизации состава основы эмульсионного крема

На основании критерия желательности получен рациональный состав основы крема, приведенный в таблице 4.

Таблица 4 – Рациональный состав основы эмульсионного крема

Компонент	Содержание, %
Вода очищенная	78,8
Масло кукурузное	5
МГД	4,82
Спирт цетиловый	2
Масло кокосовое	2
Глицерин	2
Салициловая кислота	1,5
Воск эмульсионный	1,37
Препарат ОС-20	1,01
Триэтаноламин	1
Эуксил PE 9010	0,5

Таким образом, в ходе исследований с помощью метода планирования эксперимента в программе Minitab была установлена зависимость между составом основы (количеством эмульгаторов) и ее реологическими свойствами (динамической вязкость, период полурелаксации, растекаемость). Получены уравнения, описывающие эти зависимости, позволяющие оценивать влияние изменений в составе на качество продукта.

Получен состав основы крема, обладающий требуемыми показателями качества по всем исследуемым параметрам.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вайнштейн В.А. Исследование структурно-механических свойств мягких лекарственных форм // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. N 3. С. 70-78.

2. Вязкость. ОФС 1.2.1.0015.15 // Государственная фармакопея РФ. Т. 1. XIV изд. 2018. [Электронное издание] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/595/ (Дата обращения 20.02.2022)

3. Саутина Н.В., Мельников Б.С., Галяметдинов Ю.Г. Исследование растекаемости некоторых косметических масел // Вестник Казанского Технологического Университета. 2014. N 7. P. 170-172.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION OF THE BASIS OF THE THEREAPEUTIC-COSMETIC PRODUCT FOR ACNE PREVENTION USING DESIGN OF EXPERIMENTS

Novinkov A.G., 4th year student (ORCID: 0000-0001-5704-4344)
Supervisor: **Burakova M.A.**, Ph.D., Associate Professor (ORCID: 0000-0002-3880-0359)
Sorokin V.V., Ph.D., Head of the Department, Associate Professor (ORCID: 0000-0002-7262-0941)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: aleksandr.novinkov@spcpu.ru

The results of the research on the development of therapeutic-cosmetic product using the method design of experiments in the software for statistical data processing «Minitab» are presented. The equations linking the quality parameters of the cream base: dynamic viscosity, half-relaxation period, spreadability with the emulsifiers used in the production technology (MGD, preparation OS-20, emulsion wax) were obtained.

On the basis of the carried out researches the rational structure of the basis of a medical-cosmetic product for acne correction was developed.

Keywords: *dynamic viscosity, half-relaxation period, spreadability, Minitab, design of experiments, Pareto diagram.*

REFERENCES

1. Vainshtein V.A. Study of the structural and mechanical properties of soft dosage forms // Development and registration of medicines. 2017. N 3. P. 70-78. (in Russian)
2. OFS 1.2.1.0015.15. Viscosity. // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Vol. 1. XIV ed. 2018. [Internet] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/595/ (Accessed 20.02.2022). (in Russian)
3. Sautina N.V., Melnikov B.S., Galyametdinov Yu.G. A study on the spreadability of some cosmetic oils // Bulletin of the Kazan Technological University. 2014. N 7. P. 170-172. (in Russian)

УДК 615.454.122

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ, ОБЛАДАЮЩЕЙ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Ногаева У.В., аспирант 2 года обучения (ORCID: 0000-0002-8214-7553),
Якимов К.Д., студ. 4 курса (ORCID: 0000-0001-5591-2558)
Руководители: **Флисюк Е.В**., докт. фарм. наук, профессор (ORCID: 0000-0001-8077-2462)
Ивкин Д.Ю., к.б.н., доцент (ORCID: 0000-0001-9273-6864)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: uljana.nogaeva@pharminnotech.com

Целью исследования стала фармацевтическая разработка комбинированного противовоспалительного средства с доклинической оценкой его эффективности в сравнении с референтным препаратом. В ходе работы был подобран оригинальный компонентный состав, предложена технологическая схема получения геля, проведена оценка его технологических свойств, а также на доклинической модели *in vivo* доказано благоприятное влияние нового средства на течение остеоартроза.

Ключевые слова: *остеоартроз, альгинат натрия, мелоксикам, мягкие лекарственные формы, фармацевтическая разработка, доклинические исследования.*

Воспаление является симптомом, которое сопровождает течение большого числа заболеваний, в том числе и остеоартроза (ОА). В России, согласно данным официальной статистики, за последние 20 лет число больных ОА увеличилось на 260 %, они составляют четвертую часть всех пациентов с болезнями костно-мышечной системы. В докладе Всемирной организации здравоохранения с отсылкой на данные Организации Объединенных Наций прогнозируется, что к 2050 году 130 млн человек во всем мире будет страдать от ОА, из них 40 млн потеряют трудоспособность [1, 2]. Многие клиницисты считают ОА болезнью «износа», и, как следствие, патологией, при которой модификация болезни невозможна [3].

Современные подходы к терапии ОА направлены на облегчение боли и улучшение опорно-двигательной функции. В зависимости от клинической картины наиболее часто назначаемыми группами лекарственных препаратов являются анальгетики, нестероидные противовоспалительные средства (пероральные, трансдермальные формы), глюкокортикостероиды, а также препараты замедленного действия – хондроитин, глюкозамин, гиалуроновая кислота [4].

Сегодня важной задачей фармацевтической технологии является разработка новых лекарственных препаратов (ЛП), а также совершенствование имеющихся составов. Создание комбинаций активных фармацевтических субстанций (АФС) может способствовать большей эффективности ЛП за счёт влияния на разные звенья патогенеза.

Целью настоящего исследования стала фармацевтическая разработка состава и технологии противовоспалительного средства с фармакологической оценкой эффективности на доклинической модели остеоартроза.

Во время работы решались следующие **задачи:**

1. Подбор компонентного состава гелевой основы;
2. Изучение свойств действующих веществ и способов их введения в мягкую лекарственную форму (МЛФ);
3. Разработка технологии получения геля для наружного применения и оценка его качества;
4. Оценка противовоспалительной активности МЛФ на доклинической модели остеоартроза.

Методология проведения НИР основана на научно-обоснованных технологиях и методах, системном анализе информационных источников, составлении плана НИР и выполнении отдельных экспериментальных работ.

Материалы и методы

В состав комбинации действующих веществ было включено три компонента:

1. нестероидное противовоспалительное средство – мелоксикам (АО Активный компонент, Россия);
2. вещество, обладающее иммуномодулирующими свойствами;
3. производное пурина, которое по данным исследований и прогнозу *in silico* в программе PASS показало способность воздействовать на внеклеточные рецепторы, ингибировать функциональную активность нейтрофилов и высвобождение активных форм кислорода.

Для получения МЛФ использовали ряд вспомогательных веществ: альгинат натрия (Protanal PH 1033, Ирландия), твин-80 (Tween® 80, Merck, Германия), пропиленгликоль (АО «Экос-1», Россия), глицерин (АО «Экос-1», Россия), кремофор (Kolliphor® RH 40, Merck, Германия).

Исследовательская работа была проведена на базе и с использованием оборудования GMP тренинг-центра Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета. Для отвешивания АФС и реактивов использовали весы OHAUS PA-214, США, для приготовления гелевых составов променяли мешалку с верхним приводом Heidolph RZR 2000, Германия, оценку кислотности проводили на pH-метре Аквилон-410, Россия, реологические свойства (динамическую вязкость) оценивали на ротационном вискозиметре Anton Paar DV-2P, Австрия.

Оценку эффективности разработанной рецептуры проводили *in vivo* на доклинической модели остеоартроза по сравнению с референтным препаратом Амелотекс® (гель для наружного применения 1%, ЗАО «ФармФирма Сотекс», Россия).

ОА был смоделирован с помощью сочетанного введения в полость скакательного (заплюсневого) сустава крыс-самцов 0,1 мл смеси полного адъюванта Фрейда с 10% суспензией талька в изотоническом растворе натрия хлорида в соотношении 1:10.

Критериями оценки эффективности МЛФ служили размер повреждённого сустава, толерантность к физической нагрузке и гистологическая картина в сравнении с контрольными животными.

Гелевые составы наносились животным ежедневно по 0,1 мл 1 раз в день накожно. Для предотвращения слизывания животными нанесённых на кожу испытуемых препаратов, образцы наносились путем втирания до полного впитывания. На протяжении эксперимента еженедельно проводился клинический осмотр. На 28 день эксперимента была проведена оценка толерантности к физической нагрузке на беговой дорожке (Treadmill System for rats, TSE, Германия), а на 29-й день – эвтаназия углекислым газом в CO_2-боксе модели THF3481-V01 (производитель BIOSCAPE (EHRET), Германия) и выделение пораженного сустава для передачи на гистологическое исследование. В отношении всех количественных данных применялись методы описательной статистики: подсчитывались средние выборочные значения (M) и стандартные отклонения (SD).

Результаты и обсуждение

Согласно современным практическим рекомендациям дерматологические лекарственные должны соответствовать pH = 5,5-7,0, обладать хорошими окклюзионными свойствами, распределяемостью, высокой тиксотропией. Ключевым этапом разработки МЛФ является выбор основы. В ходе экспериментов *in vitro* было решено разработать гель на основе альгината натрия. Состав обладал приятной консистенцией, оптимальным значением pH, легко и быстро впитывался, не оставляя чувства липкости и сухости после нанесения.

В таблице 1 представлена характеристика вспомогательных веществ, которые вошли в состав оригинальной рецептуры топического лекарственного средства, обладающего противовоспалительной активностью.

Таблица 1 – Компонентный состав гелевой основы и роль выбранных вспомогательных веществ

Наименование компонента	Описание	Назначение
Альгинат натрия	Мелкодисперсный порошок белого цвета, не имеющий вкуса и запаха.	Альгинаты при добавлении в воду обладают уникальными гелеобразующими свойствами, их вязкость остаётся постоянной при температуре от 20 до 80°С. Гели альгинатов физически безвредны, относительно кислотоустойчивы, обладают антибактериальным действием, что позволяет отказаться от введения консервантов, а также смягчающим и увлажняющим действием при нанесении на кожу.

Наименование компонента	Описание	Назначение
Твин 80	Вязкая маслянистая жидкость от светло-жёлтого до янтарного оттенка, имеет очень слабый характерный запах, растворяется в масле и воде.	Неионогенный ПАВ, является хорошим эмульгатором с высоким значением ГЛБ (15-16), используется как эмульгатор и стабилизатор.
Кремофор	Вязкое пастообразное вещество белого или бледно-желтого цвета.	Солюбилизатор и сорастворитель, улучшает структуру МЛФ, обеспечивает более длительное хранение, переводит в растворимую форму эфирные и базовые масла.
Пропиленгликоль	Бесцветная вязкая жидкость со слабым характерным запахом, обладающая гигроскопическими свойствами, смешивается с водой и спиртом этиловым. Рекомендуемая концентрация – до 6 %.	Пропиленгликоль обеспечивает повышение микровязкости ядер мицелл и используется как регулятор вязкости, пролонгатор, солюбилизатор, растворитель и усилитель пенетрации.

Для определения оптимального способа введения действующих веществ в основу, согласно методике, предложенной Государственной Фармакопеей 14 издания, было проведено изучение растворимости компонентов.

Оказалось, что производное пурина и иммуномодулятор М гидрофильны, следовательно, их можно растворять в альгинатной основе. Мелоксикам относится к малорастворимым веществам, однако размер его частиц после измельчения в присутствии пропиленгликоля при просмотре под цифровым микроскопом оказался меньше 100 мкм, поэтому было принято решение вводить его суспензионно.

В результате исследования была разработана следующая технология получения геля [5]:

1. Компоненты смеси отвешивали в соответствии с составом.
2. В термостойком стакане нагревали воду очищенную (примерно 2/3 от рассчитанного количества) до температуры (50 – 60)°С.
3. Емкость с нагретой водой очищенной устанавливали на мешалку с верхним приводом на скорости вращения 300 об/мин. При перемешивании вносили в воду расчетное количество альгината натрия, дожидались полного набухания и растворения гелеобразователя.
4. К полученному раствору гелеобразователя добавляли кремофор и твин 80.
5. В отдельной емкости готовили суспензию мелоксикама в пропиленгликоле, которую вносили в емкость с раствором гелеобразователя.
6. В сухую чистую ступку помещали рассчитанное количество производного пурина и иммуномодулятора М, компоненты растирали пестиком и вносили в раствор гелеобразователя при постоянном перемешивании.
7. К гелю добавляли оставшееся количество воды очищенной и снова перемешивали до однородности.
8. Полученный гель помещали в банку с навинчивающейся крышкой и в дальнейшем использовали для фармакологических исследований.

На рисунке представлена технологическая схема получения противовоспалительного геля на основе альгината натрия в лабораторных условиях.

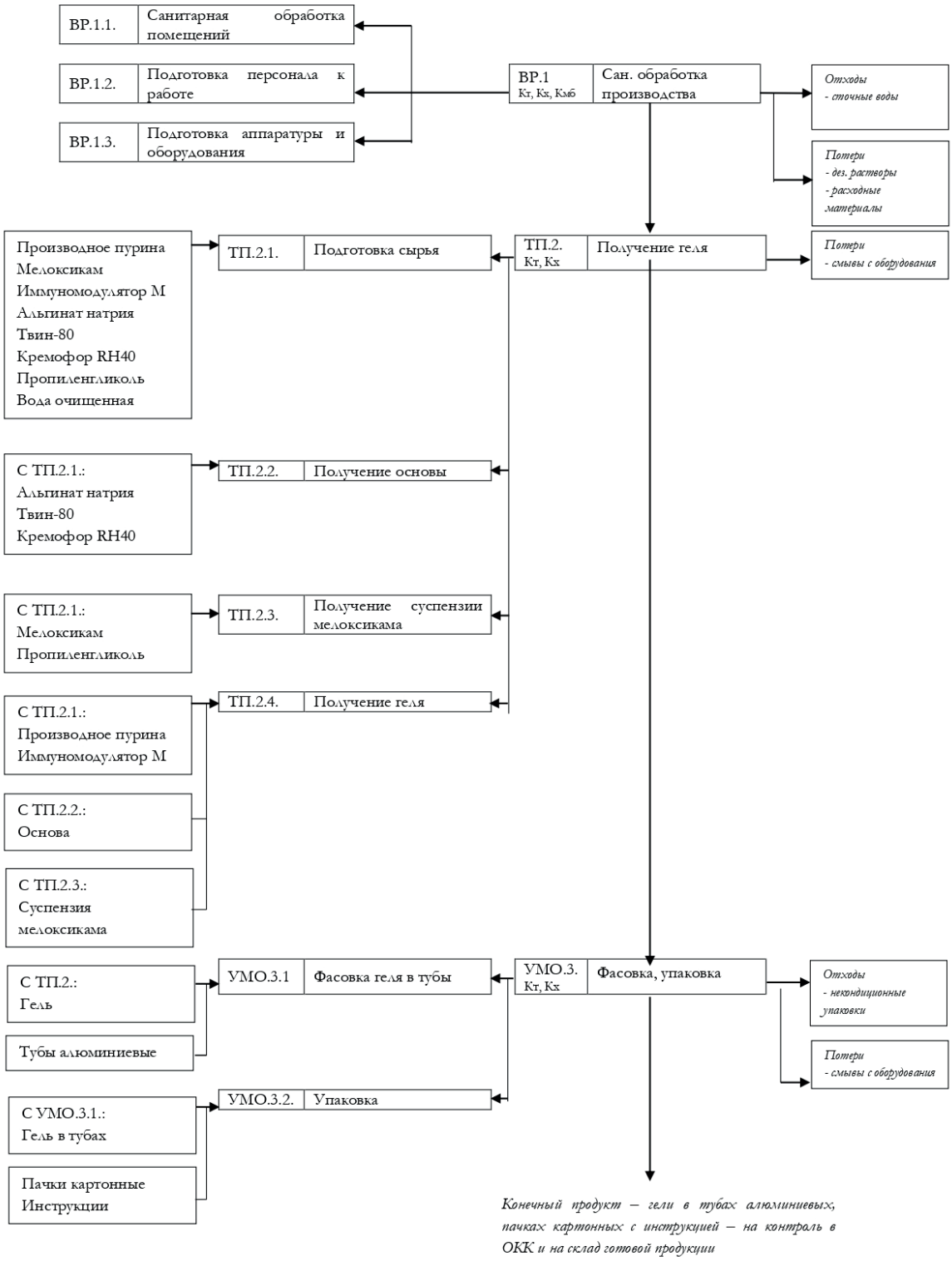


Рисунок. Технологическая схема получения геля, обладающего противовоспалительным действием [5]

На следующем этапе исследования была проведена оценка физико-химических и технологических свойств разработанного состава по сравнению с референтным средством, представляющим собой гидрофильный гель на основе карбомера, содержащий мелоксикам в 1 % концентрации (таблица 2). Оба лекарственных препарата обладали приятными органолептическими свойствами и удовлетворительным значением pH, однако у разработанного состава реологические характеристики свидетельствовали о более мягкой структуре, что может способствовать быстрому и лёгкому распределению на коже при намазывании.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика технологических свойств разработанного геля и референтного препарата

№ п/п	Показатель	Разработанный состав	Референтный препарат
1	**Описание**	Однородный, непрозрачный гель светло-жёлтого цвета с зеленоватым оттенком, со слабым специфическим запахом.	Прозрачный или почти прозрачный гель, желтого или желтого с зеленоватым оттенком цвета, со специфическим запахом.
2	**Дисперсологическая характеристика**	Комбинированная система: мазь-раствор производного пурина и иммуномодулятора М и мазь-суспензия мелоксикама на гидрофильной альгинатной основе.	Гомогенная система, представляющая собой мазь-раствор мелоксикама на гидрофильной карбомерной основе.
3	**pH**	5,8	7,0
4	**Динамическая вязкость**	*Вязкость, mPa*c*	*Вязкость, mPa*c*
	Скорость, c-1		
	30	11135	14029
	20	12332	18296
	10	14008	29728
	4	16653	67969
	2,5	16756	75989
	0,5	19552	259264
5	**Период полурелаксации**	11 секунд	17 секунд

При фармацевтической разработке новых лекарственных препаратов важно оценивать их эффективность *in vivo*. В связи с этим были проведены исследования на доклинической модели остеоартроза. В эксперимент было включено 3 группы по 5 животных в каждой. Первая группа получала разработанный препарат, вторая – референтный препарат Амелотекс®, третья (контрольная группа) – гелевую основу без действующих веществ. В таблице 3 представлены сводные данные по оценке двигательной активности, изменению размера лапы, а также по балльной гистологической картине.

Таблица 3 – Сравнительная характеристика фармакологических показателей разработанного геля и референтного препарата

Показатель		Разработанный состав	Референтный препарат	Гелевая основа без АФС
Двигательная активность	Длина дистанции в метрах	202 ± 15 м	116,8 ± 17 м	61,5 ± 14 м
Размер лапы	Измерен с помощью штангенциркуля	Во всех группах в течение 28 дней эксперимента наблюдалось постепенно уменьшение отёка, в контрольной группе, получавшей гелевую основу, этот процесс проходил медленнее, однако значимых различий в изменении размера лап выявлено не было.		
Гистологическая картина (балльная оценка)	Выраженность альтеративной фазы воспаления (некроза)	0	0	0
	Выраженность экссудативной фазы воспаления (воспалительной инфильтрации)	4	6	11
	Выраженность гигантоклеточной реакции	3	4	17
	Выраженность продуктивной фазы воспаления (организации)	6	8	12
	Сумма баллов	**13**	**18**	**40**

По совокупности факторов было определено, что разработанный состав обладает эффективностью, сопоставимой с референтным средством, а по влиянию на улучшение гистологической картины воспаления и двигательную активность даже превышает её.

Важно отметить, что в состав референтного средства мелоксикам входил в 1 % концентрации, в то время как его содержание в разработанном составе оказалось равным 0,5 % при аналогичной эффективности. Учитывая широкий спектр побочных эффектов НПВС, важно сказать, что снижение их дозировки имеет значение с точки зрения повышения безопасности терапии остеоартроза.

Заключение

1. В результате проведённого исследования подобран оригинальный состав мягкой лекарственной формы: гелеобразователь, растворители, солюбилизаторы и стабилизаторы.

2. После изучения растворимости АФС было решено вводить производное пурина и иммуномодулятор М в виде раствора, а мелоксикам – суспензионно.

3. Предложена технология изготовления топического средства, последовательность которой отражена на представленной технологической схеме.

4. Результаты доклинических исследований разработанного средства по сравнению с референтным препаратом свидетельствуют об его эффективности по влиянию на гистологическую картину воспаления и двигательную активность.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Кабалык М.А. Распространенность остеоартрита в России: региональные аспекты динамики статистических показателей за 2011–2016 гг. // Научно-практическая ревматология. 2018. Т. 56. N 4. С. 416–422. https://doi.org/10.14412/1995-4484-2018-416-422

2. Лабораторно-инструментальное исследование коленных суставов пациентов с гонартрозом ранних стадий: поиск взаимосвязей / В.И. Клементьева [и др.] // Медицинский академический журнал. 2020. Т. 20. N 3. С. 99–106. https://doi.org/10.17816/MAJ43455

3. Vincent T.L., Watt F.E. Osteoarthritis // Medicine. 2022. Vol. 50(2). P. 116-124. doi:10.1016/j.mpmed.2021.11.009

4. Вакуленко О.Ю., Жиляев Е.В. Остеоартроз: современные подходы к лечению // РМЖ. 2016. N 22. С. 1494-1498.

5. Разработка состава и технологии комбинированного геля для терапии остеоартроза с фармакологическим обоснованием содержания компонентов / У.В. Ногаева [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10. N 4. С. 69-78. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-69-78

SUMMARY

DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION AND TECHNOLOGY OF A SOFT DOSAGE FORM WITH ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY

Nogaeva U.V., 2st year postgraduate student, **Yakimov K.D.**, 4st year student
Scientific supervisors: **Flisyuk E.V.**, Doctor of Pharmacy, professor
Ivkin D.Yu., Candidate of Biological Sciences, associate professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: uljana.nogaeva@pharminnotech.com

The aim of the study was the pharmaceutical development of a combined anti-inflammatory drug with a preclinical evaluation of its effectiveness in comparison with the reference drug. As a result, the original component composition was substantiated, a technological scheme for obtaining the gel was proposed, its technological properties were evaluated, and the beneficial effect of the new agent on the clinical picture of osteoarthritis was proved in an in vivo experiment.

Keywords: *osteoarthritis, sodium alginate, meloxicam, soft dosage forms, pharmaceutical development, preclinical studies.*

REFERENCES

1. Kabalyk M.A. Prevalence of osteoarthritis in Russia: regional aspects of trends in statistical parameters during 2011-2016 // Rheumatology science and practice. 2018. Vol. 56(4). P. 416-422. (In Russian) https://doi.org/10.14412/1995-4484-2018-416-422.

2. Laboratory and instrumental study of knee joints in patients with early gonarthrosis: Search for relationship / V.I. Klementeva [et al.] // Medical Academic Journal. 2020. Vol. 20(3). P. 99-106. https://doi.org/10.17816/MAJ43455 (in Russian)

3 Vincent T.L., Watt F.E. Osteoarthritis // Medicine. 2022. Vol. 50(2). P. 116-124. doi:10.1016/j.mpmed.2021.11.009

4. Vakulenko O.Yu., Zhilyaev E.V. Modern treatment approaches to osteoarthrosis // RMJ. 2016. N 22. P. 1494–1498. (In Russian)

5. Development of the composition and technology of a combined gel for the treatment of osteoarthritis with a pharmacological rationale for the content of components / U.V. Nogaeva [et al.] // Drug development & registration. 2021. Vol. 10(4). P. 69-78. (In Russian) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-69-78

УДК 63:663.1

ПОЛУЧЕНИЕ ВОДЫ ОЧИЩЕННОЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ

Одинцов В.С., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Топкова О.В.**, к.б.н., доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: odincov.vitalij@pharminnotech.com

В результате выполнения работы была выбрана технологическая схема получения воды очищенной для производства рекомбинантного интерлейкина и приведены требования к последующему хранению и распределению полученной воды. Исходя из потребностей производства в воде, подобрано соответствующее оборудование. Проведен анализ рисков полученной системы водоподготовки для выявления потенциальных отказов и принятия соответствующих предупреждающих действий.

Ключевые слова: *водоподготовка, вода очищенная, анализ рисков, идентификация рисков, диаграмма Исикавы, FMEA.*

Актуальность данной работы заключается в том, что вода очищенная относится к ключевым элементам, которые обеспечивают безопасность изготовляемых лекарственных средств. Она применяется почти на всех стадиях производственного цикла лекарств. В связи с этим необходимо обеспечить получение воды необходимого качества и в заданном объеме для нормального функционирования фармацевтического предприятия.

Целью данной работы является выбор системы водоподготовки для получения воды очищенной в необходимом количестве для проектируемого производства рекомбинантного интерлейкина.

Задачи работы:

• Выбрать технологическую схему получения воды очищенной;
• Привести требования к хранению и распределению воды очищенной;
• Определить необходимое количество воды для производства;
• Подобрать оборудование согласно выбранной схеме;
• Провести анализ рисков системы водоподготовки.

Качество воды очищенной регламентируется Фармакопейной статьей (ФС) ФС.2.2.0020.18 «Вода очищенная».

Вода очищенная используется для [1]:

• производства и изготовления лекарственных средств;
• получение воды для инъекций;
• проведение испытаний лекарственных средств;
• ополаскивания посуды и оборудования (за исключением финишного ополаскивания).

Согласно ФС.2.2.0020.18 воду очищенную можно получить дистилляцией, ионным обменом, обратным осмосом, комбинацией этих методов, или другим способом.

Вода очищенная должна отвечать требованиям по ионной, органической, химической и микробиологической чистоте.

Требования к воде очищенной [1]:

• Визуальные и органолептические тесты (внешний вид, хлориды, сульфаты)
• Химические тесты (нитраты, тяжёлые металлы, алюминий)
• Электропроводность (<4,3 мкСм/см при 20°С)
• Количество микроорганизмов (≤100 КОЕ/мл). Не допускается наличие *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomona s aeruginosa* в 100 мл.
• Бактериальные эндотоксины (<0,25 ЕЭ/мл) (если вода используется для приготовления растворов для диализа)

Поскольку воду очищенную получают из воды питьевой, источником которой является природная вода, важно освободить ее от присутствующих примесей.

Исходная вода может содержать различные примеси:

• механические частицы;
• растворенные вещества;
• микроорганизмы;
• бактериальные эндотоксины;
• остаточные дезинфицирующие вещества.

Выбор технологической схемы получения воды обусловлен:

• качеством исходной воды;
• выбором конечной стадии получения воды;
• требованиями, предъявляемыми к воде Фармакопейными статьями;
• требованиями к качеству исходной воды, предъявляемыми определенными стадиями (например, обратным осмосом).

Высокое качество воды обеспечивается за счет каскадного принципа построения системы очистки воды и использования самых передовых методов обработки. Современные системы получения очищенной воды для фармацевтики предусматривают многостадийный процесс, обеспечивающий максимальное качество получаемой воды.

Для получения воды очищенной на практике применяют три схемы [2]:

Схема №1 включает следующие процессы:

• Грубая фильтрация
• Умягчение
• Фильтрация через угольный фильтр
• Дистилляция

Для осуществления этой схемы требуются большие капитальные затраты, расход энергоносителей в данном методе больше, чем в других методах. Однако этот метод обеспечивает высокое качество воды очищенной.

Схема №2 включает следующие процессы:

• Грубая фильтрация
• Умягчение
• Фильтрация через угольный фильтр
• Деионизация

Эта схема сопровождается меньшими капитальными затратами и относительно небольшими расходами энергоносителей. Однако в эксплуатации часто возникают трудности в связи с необходимостью регенерации ионообменников кислотами и щелочью.

Схема №3 включает следующие процессы:

• Подогрев и термостатирование
• Грубая фильтрация
• Умягчение
• Фильтрация через угольный фильтр
• Обратный осмос

Является наиболее оптимальной схемой, так как капитальные расходы не велики, оборудование не требует частой регенерации и эксплуатационные расходы не высоки.

После получения воды она может использоваться непосредственно или направляться в резервуар для хранения для последующего распределения. Устройство системы хранения и распределения воды должно обеспечивать предотвращение размножения и распространения микроорганизмов. Эффективность такой системы должна подвергаться комбинированному мониторингу с использованием встроенного в систему оборудования и внешнего лабораторного оборудования. [3]

Хранение осуществляется в емкости, защищенной дыхательным фильтром от бактерий и пыли, которые могут проникнуть в воду из атмосферного воздуха. Конструкция емкости должна предусматривать полный слив воды для проведения регламентных процедур по санитарной обработке.

Основной задачей при проектировании системы хранения и распределения воды является обеспечение постоянного движения воды в трубопроводе, отсутствии застойных зон, которые способствуют росту микроорганизмов и образованию биопленок на поверхностях. Системы хранения и распределения подразумевают под собой рециркуляционную систему с однонаправленным движением потока и возможностью полного удаления воды из трубопровода.

Движение воды в трубопроводе должно быть турбулентным со скоростью от 1,5 до 3 м/с. При этом ни одна часть трубопровода не должна находиться в горизонтальном положении, а под небольшим наклоном. Точки отбора воды должны быть оборудованы мембранными вентилями санитарного исполнения.

При выборе материалов, контактирующих с водой необходимо учитывать следующее:

1) совместимость и пригодность материалов должны быть приемлемыми во всем диапазоне рабочих температур и для всех видов потенциальных химических веществ, которые будут контактировать с системой получения воды во время ее бездействия, при ее функционировании и проведении санитарной обработки;

2) все материалы, контактирующие с водой, не должны разрушаться при эксплуатации в диапазоне рабочих температур и температур санитарной обработки.

В качестве материала для изготовления систем получения воды очищенной пригодны пластмассы, соответствующие санитарным требованиям, такие как поливинилиденфторид (*PVDF*) или натуральный полипропилен и нержавеющая сталь. Должна использоваться нержавеющая сталь как минимум марки AISI 316.

Внутренние поверхности системы получения воды для фармацевтического применения должны быть гладкими. Трещины и шероховатости могут являться источником контаминации из-за возможного размножения микроорганизмов.

В соответствии с ФС «Вода очищенная» хранение воды не должно превышать 3 суток.

В ходе выполнения работы была рассчитана потребность в воде очищенной для производства терапевтических белков на разных стадиях технологического процесса:

• Для стадии приготовления питательной среды необходимо 48,5 л;
• Для стадии ферментации – 6,7 л;
• Для стадии концентрирования биомассы – 44,3 л;
• Для стадии получения лизата клеток – 28,5 л.

Также вода очищенная используется для промывки оборудования в количестве 940 л.

Общий объем воды, необходимый для всего цикла ферментации составляет:

$$V_{\text{воды}} = 48{,}5 + 6{,}7 + 44{,}3 + 28{,}5 + 940 = 1068{,}0 \text{ л}$$

Один цикл ферментации длится 24 часа, значит в сутки нужно 1068,0 л воды.

$$V_{\text{воды сут.в час}} = \frac{1068{,}0}{24} = 44{,}5 \text{ л/ч}$$

Исходя из производительности было подобрано следующее оборудование:

✓ Фильтр грубой очистки NatureWater PF-1 с характеристиками:
• Производительность 7,9 м^3/час
• Рабочая температура +5…+49°C
• Рабочее давление до 6,1 бар
• Высота 400 мм
• Ширина 126 мм
• Глубина 106 мм
• Количество 1 шт.

✓ Умягчитель непрерывного действия Ecovita EVS 08 FM Twin с характеристиками:
• Производительность 0,7 м^3/час
• Рабочая температура +2…+37°C
• Рабочее давление 2,5-7,0 бар
• Высота 1311 мм
• Ширина 414 мм
• Глубина 207 мм
• Количество 1 шт.

✓ Фильтр с активированным углем Cintropur NW 25 TE CTN с характеристиками:
• Производительность 0,5 м^3/час
• Рабочая температура +20…+50°C
• Рабочее давление до 10 бар
• Высота 355 мм
• Ширина 124 мм
• Глубина 270 мм
• Количество 1 шт.

✓ Система обратного осмоса Ecosoft MO 6500 с характеристиками:
• Производительность 0,25 м^3/час
• Рабочая температура +4…+25°C
• Рабочее давление до 6,0 бар
• Высота 1450 мм
• Ширина 405 мм
• Глубина 540 мм
• Накопительный бак есть
• Количество 1 шт.

Для выявления потенциальных событий, которые могут привести к неблагоприятным последствиям, необходимо проводить анализ рисков. С помощью инструментов анализа рисков была проанализирована проблема получения воды очищенной несоответствующего качества.

Для идентификации рисков удобно использовать диаграмму Исикавы. Преимущество данного метода заключается в том, что с его помощью можно выявить и систематизировать факторы, влияющие на определенный результат процесса, вызывающий какую-либо проблему при его реализации, выявить взаимосвязи между проблемой и причинами ее возникновения, визуализировать причинно-следственные связи [4].

Диаграмма представлена на рисунке.

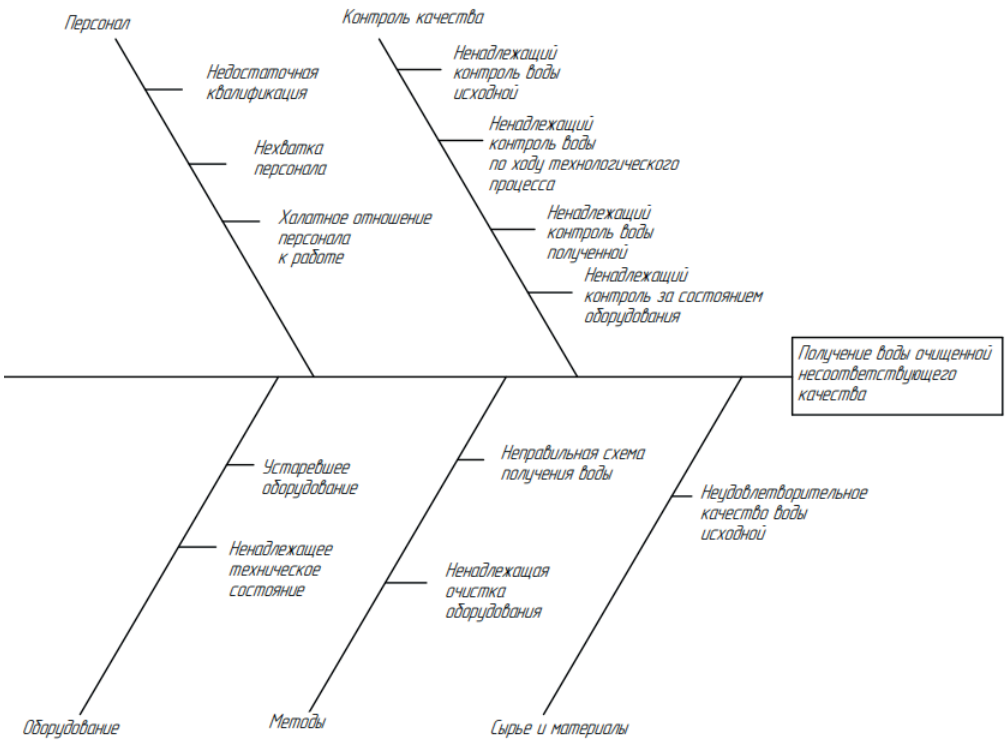


Рисунок. Диаграмма Исикавы

Наличие хорошей визуализации метода сопровождается очевидным недостатком. Диаграмма Исикавы не использует числовой анализ, и поэтому нельзя получить точную картину проблематики, для этого требуется исследование причин возникновения какой-либо проблемы в других инструментах качества [5].

С этой целью используется метод анализа видов и последствий отказов (FMEA).

На основе диаграммы Исикавы каждому выявленному и учтенному виду риска присваиваются баллы от 1 до 10 и рассчитывается приоритетное число риска по формуле [6]:

$$ПЧР = S * O * D,$$

где S – значимость потенциального отказа, O – вероятность возникновения отказа, D – вероятность обнаружения отказа.

Применение метода представлено в таблице.

Таблица – Анализ рисков методом FMEA

Вид отказа	Причина отказа	S	O	D	ПЧР
Недостаточная квалификация персонала	Отсутствие обучения на предприятии	6	2	2	24
	Некачественная работа отдела кадров	6	2	2	24
Нехватка персонала	Неудовлетворительная работа отдела кадров	6	2	2	24
Халатное отношение персонала к работе	Неудовлетворенность рабочими условиями	6	3	2	36
Устаревшее оборудование	Несвоевременная замена оборудования	8	3	2	48
Ненадлежащее техническое состояние оборудования	Неправильная эксплуатация оборудования	8	2	2	32
Ненадлежащий контроль исходной воды	Ошибка персонала	5	3	3	45
	Ошибка оборудования	5	2	3	30
Ненадлежащий контроль воды по ходу технологического процесса	Ошибка персонала	5	3	3	45
	Ошибка оборудования	5	2	3	30
Ненадлежащий контроль полученной воды	Ошибка персонала	5	3	3	45
	Ошибка оборудования	5	2	3	30
Ненадлежащий контроль за состоянием оборудования	Ошибка персонала	8	3	3	72
	Ошибка оборудования	8	2	3	48
Неправильная схема получения воды очищенной	Ошибка персонала	6	4	1	24

Вид отказа	Причина отказа	S	O	D	ПЧР
Ненадлежащая очистка оборудования	Неправильно подобранная система мойки	8	3	2	48
	Неудовлетворительная работа моечной системы	8	2	3	48
Неудовлетворительное качество исходной воды	Неудовлетворительная работа системы по получению питьевой воды	7	1	1	7

В результате проведенного анализа рисков были выявлены критические контрольные точки (ККТ), которые являются высокоприоритетными. Наибольшее внимание следует уделить контролю за состоянием оборудования, а также очистке оборудования и его своевременной замене. На основании данного анализа разрабатываются предупреждающие действия, в целях недопущения нежелательных событий в будущем.

Заключение

В ходе выполнения работы была выбрана наиболее оптимальная технологическая схема получения воды очищенной для производства терапевтических белков с использованием установки обратного осмоса, приведены требования для системы хранения и распределения воды. Исходя из потребностей производства в воде, было подобрано по производительности соответствующее оборудование. Затем была проведена оценка данной системы водоподготовки с помощью инструментов анализа рисков для проблемы получения воды очищенной несоответствующего качества.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00 Биотехнология

62.01.84 Энергоснабжение, водоснабжение и теплоснабжение

ЛИТЕРАТУРА

1. Вода очищенная. ФС.2.2.0020.18 // Фармсистемы. [Электронный ресурс] URL: https://www.pharmsystems.ru/library/normative-documents/fs-2-2-0020-18-voda-ochishchennaya/ (дата обращения 05.03.22).

2. Третьяченко Д.К., Гринь Г.И., Кобзев А.В. Подготовка воды для производства фармацевтических препаратов // Науково практичні засади загальноінженерної підготовки фахівців фармації : зб. наук. пр. 1-ї Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 25-26 жовтня 2018. Харків : Петров В. В., 2018. С. 242-245.

3. О Требованиях к воде для фармацевтического применения, используемой для производства лекарственных средств: рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 13 декабря 2017 г. № 31 [Электронный ресурс] URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71734828/ (дата обращения 05.03.22)

4. Демиденко А.А., Омельченко И. Н., Коршунов Д. И. Анализ методов оценки и управления процессом контроля качества на производстве // Организатор производства. 2015. Т. 66 N 3. С. 38-48.

5. Возможности диаграммы Исикавы в качестве инструментария бережливого производства в здравоохранении Российской Федерации / А.А. Курмангулов [и др.] // Забайкальский медицинский вестник. 2018. N 3. С. 37-45.

6. Сеникова Т.В. Анализ рисков методом FMEA на стадии асептического розлива лекарственных средств // Интеллектуальный потенциал XXI века: ступени познания : Сборник материалов XXXIX Молодежной международной научно-практической конференции,. Новосибирск. 15 марта – 12 апреля 2017 года / под ред. С.С. Чернова. Новосибирск: Центр развития научного сотрудничества, 2017. С. 134-138.

SUMMARY

OBTAINING PURIFIED WATER FOR THE PRODUCTION OF THERAPEUTIC PROTEINS

Odintsov V.S., 2nd year master student

Scientific supervisor: **Topkova O.V.**, Candidate of Biological Sciences, associate professor

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: odincov.vitalij@pharminnotech.com

As a result of the work, a technological scheme for obtaining purified water was selected and the requirements for the subsequent storage and distribution of the resulting water were given. Based on the production needs for water, the appropriate equipment was selected. A risk analysis of the resulting water treatment system was also carried out to identify potential failures and take appropriate preventive actions.

Keywords: *water treatment, purified water, risk analysis, risk identification, Ishikawa diagram, FMEA.*

REFERENCES

1. Purified water. FA.2.2.0020.18 [Internet] URL: https://www.pharmsystems.ru/library/normative-documents/fs-2-2-0020-18-voda-ochishchennaya/ (Accessed 05.03.22). (in Russian)

2. Tretyachenko D.K., Grin G.I., Kobzev A.V. Preparation of water for the production of pharmaceutical preparations // Scientific and practical basis of general engineering preparation of pharmacy specialists : book of abstr. of the 1st Intern. sci. and practical conf., October 25-26, 2018. Harkiv : Petrov V.V., 2018. P. 242-245. (in Russian)

3. On Requirements for water for pharmaceutical use used for the production of medicines: recommendation of the Board of the Eurasian Economic Commission No. 31 dated December 13, 2017 [Internet] URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71734828 / (Accessed 05.03.22). (in Russian)

4. Demidenko A.A., Omelchenko I.N., Korshunov D.I. Analysis of methods of evaluation and management of the quality control process in production // Organizer of production. 2015. Vol. 66(3). P. 38-48. (in Russian)

5. The possibility of Ishikawa diagrams as tools of lean manufacturing in healthcare of the Russian Federation / A. Kurmankulov [et al.] // Zabaykalsky medical Herald. 2018. N 3. P. 37-45. (in Russian)

6. Senikova, T.V. FMEA risk analysis at the stage of aseptic filling of medicines // Intellectual potential of the XXI century: stages of cognition : Collection of materials of the XXXX Youth International Scientific and Practical Conference, Novosibirsk, March 15 - April 12, 2017 / ed. S.S. Chernov. Novosibirsk: Center for the Development of Scientific Cooperation, 2017. P. 134-138. (in Russian)

УДК 61.45.36

ТСХ-«ФИНГЕРПРИНТ» И АНАЛИЗ ЭКСТРАКТОВ АРАЛИИ МАНЬЧЖУРСКОЙ *(ARALIA ELATA VAR. MANDSHURICA RUPR. ET MAXIM.) J. WEN* С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРИРОДНЫХ ГЛУБОКИХ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ

Петроченко А.А., аспирант 1 года обучения
Руководитель: **Шиков А.Н.,** докт. фарм. наук, профессор
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: petrochenko.alyona@pharminnotech.com

Природные глубокие эвтектические растворители являются альтернативными экстрагентами токсичным органическим растворителям. С помощью данных растворителей возможно повысить эффективность экстракции из сырья аралии маньчжурской *(Aralia elata var. mandshurica Rupr. Et Maxim.) J. Wen.* Данное растение применяется в качества адаптогенного средства при артериальной гипотензии, повышенной утомляемости, сахарном диабете. Для подтверждения качества лекарственного растительного сырья аралии используют тонкослойную хроматографию. В доступной научной литературе приводятся также и другие методы для более детального изучения состава аралии маньчжурской.

В результате обзора литературы найдены условия проведения анализа аралии методом тонкослойной хроматографии (ТСХ), за исключением параметров хроматограмм (Rf), что требует проведение экспериментального исследования извлечений аралии с применением природных глубоких эвтектических растворителей (Natural deep eutectic solvents – NADES).

Ключевые слова: *природные глубокие эвтектические растворители, аралия маньчжурская, идентификация, тонкослойная хроматография (ТСХ).*

Введение. Загрязнение окружающей среды отчасти связано с отходами производства лекарственных препаратов. Для совершенствования химических процессов были разработаны принципы «зеленой» химии. Одно из них звучит следующим образом: «*Вспомогательные вещества при производстве, такие, как растворители или разделяющие агенты, лучше не использовать совсем, а если это невозможно, их использование должно быть безвредным*» [1]. Для получения растительных экстрактов в технологии часто применяют органические растворители, которые являются токсичными. За последние двадцать лет научное сообщество проявляет большой интерес к так называемым природным глубоким эвтектическим растворителям (Natural deep eutectic solvents – NADES). Такие растворители разработаны с целью снижения отрицательного влияния на окружающую среду, так как они являются биоразлагаемыми, возобновляемыми, нетоксичными, пригодны для экстракции широкого спектра биологически активных веществ [2, 3]. Они состоят из двух и более натуральных компонентов в определенном молярном соотношении, которые после сплавления образуют жидкость при нормальных условиях. Такие жидкости представляют собой полностью организованную молекулярную структуру, контролируемую обширными водородными связями. Компоненты являются первичными метаболитами, присутствующими в живых клетках, такие как сахара, низкомолекулярные органические кислоты или основания, аминокислоты и другие.

В качестве объекта исследования рассматривается растение аралии маньчжурской. Аралия маньчжурская – адаптоген, который оказывает тонизирующее, гипертензивное, гипогликемическое действие. В Российской Федерации зарегистрирована настойка, которую получают с использованием этилового спирта [4]. Это один из органических растворителей, который является легковоспламеняющейся жидкостью. Поэтому предложено использование NADES как альтернативный экстрагент для лекарственного растительного препарата аралии маньчжурской. В государственной фармакопее XIV издания приведена статья на корни аралии маньчжурской [5].

Одним из методов для проведения фитохимического анализа сырья корней является тонкослойная хроматография (ТСХ) [5]. Для определения основных групп веществ данный метод наиболее эффективен.

Цель. Провести обзор литературы, иллюстрирующей анализ состава экстрактов аралии маньчжурской различными методами, в том числе методом ТСХ. Задача исследования – проанализировать научные источники и понять, применим ли метод ТСХ для экстрактов аралии, полученных с использованием NADES, также поиск условий проведения и полученных результатов (параметров Rf).

Материалы и методы. В качестве основных источников литературы были использованы базы данных: elibrary.ru, Scopus, Google scholar. Также нормативные документы: Государственная фармакопея XIV издания, Государственный реестр лекарственных средств и др [4, 5].

При обзоре найдено 132 статьи за 1994-2022 гг., которые посвящены фитохимическому и фармакологическому анализу различных видов аралии. Было отобрано 48 статей, в которых отражена идентификация соединений некоторых видов данного растения. Из них лишь 11 содержат информацию об оценке состава аралии маньчжурской (рис. 1).

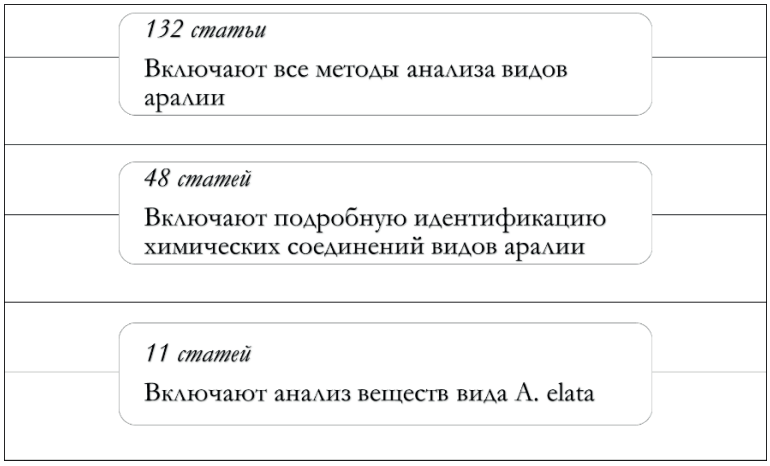


Рисунок 1. Процесс поиска источников для исследования

Таким образом, для определения состава A. elata следующие методы: тонкослойную хроматографию (ТСХ), ультрафиолетовую спектрофотометрию (УФ-СФМ), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) с масс-селективным детектированием, ЯМР-спектроскопию и т. д. [5-8]. Зарубежные источники включают более подробные исследования структуры соединений [10-12], исключая метод ТСХ.

Для более 200 соединений была установлена структура веществ из растений рода Аралия, включая тритерпеновые сапонины, терпеноиды, органические кислоты и их эфиры, флавоноиды, полиацетилены, фенилпропаноиды и др [6]. Наиболее часто для извлечения соединений используют корни, стебли, листья. Большое количество исследований подтверждает, что тритерпеновые сапонины определяют главным образом фармакологическое действие растения [7]. Сапонины аралии можно подразделить на 5 групп: производные олеаноловой кислоты, гедерагенина, эхиноцистовой кислоты, каулофиллогенина и урсоловой кислоты [6, 8, 9, 14, 15] (рис. 2).

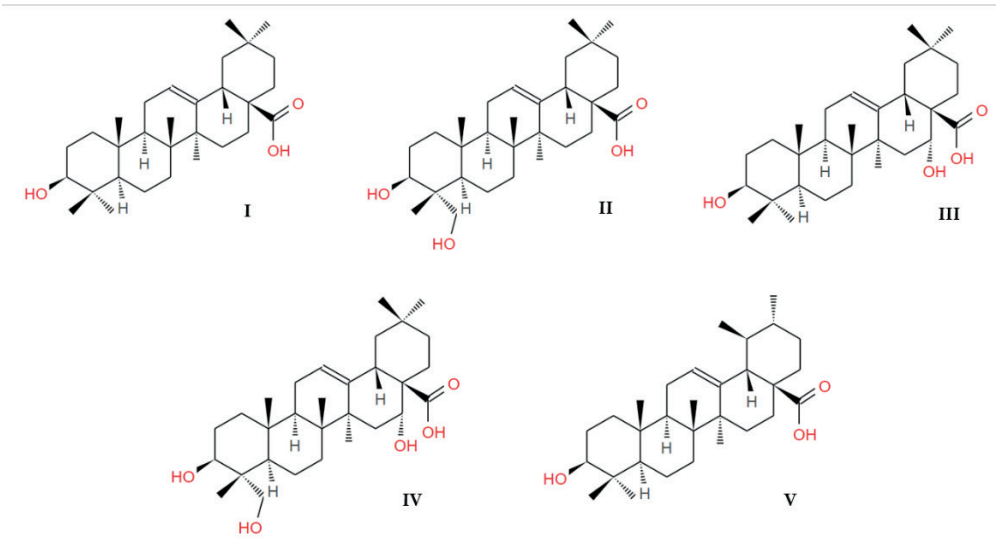


Рисунок 2. Структура тритерпеновых сапонинов аралии маньчжурской (I – производные олеаноловой кислоты, II – производные гедерагенина, III – производные эхиноцистовой кислоты, IV – производные каулофиллогенина, V – производные урсоловой кислоты)

Выводы. Исходя из найденных данных существует методика определения основных групп биологических веществ ТСХ-методом экстракта аралии в государственной фармакопее. Указанный метод включает в себя использование токсичного растворителя – метанола [4]. Также при поиске ТСХ-метода анализа аралии практически не найдено параметров

хроматограмм (Rf). Большинство научных статей включает в себя использование более современных и дорогостоящих методов, таких как ВЭЖХ, ЯМР-спектроскопия. Так как не найдено литературы, включающей в себя получение экстрактов аралии маньчжурской с помощью NADES и их анализа, необходимо проводить дальнейшие исследования в данном направлении.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность
61.45.00 Технология химико-фармацевтических средств
61.45.36 Лекарственные средства из природного сырья

ЛИТЕРАТУРА

1. Anastas P.T., Warner J.C. Green Chemistry: Theory and Practice. New York : Oxford University Press, 1998. 30 p.

2. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology / Y. Dai [et al.] // Analytica Chimica Acta. 2013. N 766. P.61–68. http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.019

3. Fuad F.M., Nadzir M.M., Kamaruddin A.H. Hydrophilic natural deep eutectic solvent: A review on physicochemical properties and extractability of bioactive compounds // Journal of Molecular Liquids. 2021. N 339. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116923

4. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx (дата обращения: 5.03.2022)

5. Государственная фармакопея РФ. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (дата обращения 4.03.2022)

6. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of medicinal genus Aralia: A review / Y. Xu [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. 2022. N 284. https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114671

7. Ent-Pimara-8(14),15-dien-19-oic acid isolated from the roots of Aralia cordata inhibits induction of inflamatory mediators by blocking NF-κB activation and mitogen-activated protein kinase pathways / O.H. Kang [et al.] // European Journal of Pharmacology. 2008. Vol. 601(1/3). P. 179–185. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.10.012

8. Xu S.X., Chen Y.J., Yao X.S. A study on the chemical constituents of Aralia elata (Miq.)Seem // Journal of Shenyang Pharmaceutical University. 1991. N 8. P. 265–268

9. Oleanolic acid saponins from root bark of Aralia elata / Y. Sakai [et al.] // Phytochemistry. 2004. Vol. 35(5). P. 1319–1324. doi: 10.1016/s0031-9422(00)94846-5.

10. Effects of aralosides on sodium chanel current in cultured neonatal rat cardiomyocytes / Y.W. Zhang // Inf. Tradit. Chin. Med. 2012. Vol. 29. P. 8–10. https://doi.org/10.19656/j.cnki.1002-2406.2012.06.004

11. Oleanane-type triterpene saponins from Aralia armata leaves and their cytotoxic activity / H.Y. Pham [et al.] // Nat. Prod. Res. 2020. Vol. 22. P. 1–8. https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1768090

12. Study on the quality standard of root bark of Aralia taibaiensis / W. Yan [et al.] // Lishizhen Med. Mater. Medica Res. 2012. Vol. 25. P. 4–5.

13. Content determination of (Ent)-6-Kaur-16-En-19-Oic acid and 15-dien-19-oic acid in total organic acids from the root of Aralia cordata by HPLC-DAD / K.R. Dang [et al.] // Chin. Pharm. 2018. Vol. 27. P. 16–19.

14. Studies on cytotoxic triterpene saponins from the leaves of Aralia elata / Y. Zhang [et al.] // Food Chemistry. 2013. Vol. 138(1). P. 208-213

15. M.Y. Sinitsyn [et al.] Structural Characterization of Triterpene Saponins from Manchurian Aralia by High Resolution Liquid Chromatography–Mass Spectrometry / M.Y. Sinitsyn [et al.] // Journal of Analytical Chemistry 2019. Vol. 74(11). P. 1113-1121.

SUMMARY

TLC-FINGERPRINT NADES EXTRACTS OF ARALIA ELATA VAR. MANDSHURICA (RUPR. ET MAXIM.)

Petrochenko A.A., 1st year post-graduate student
Scientific supervisor: **Shikov A.N.**, Doctor of pharmacy, Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: petrochenko.alyona@pharminnotech.com

Natural deep eutectic solvents are alternative extractants to toxic organic solvents. These solvents to increase the efficiency of extraction from the raw material of Manchurian aralia. This plant is used as an adaptogen for therapy of arterial hypotension, fatigue, diabetes mellitus. Thin-layer chromatography is used to confirm the quality of aralia properly. The available scientific literature also provides other methods for a more detailed study of the composition of the Manchurian aralia. According to the results of the research, many biologically active substances that determine the activity of the plant have been identified. As a result of the literature review, the conditions for the analysis of aralia by thin layer chromatography (TLC) were found, with the exception of chromatogram parameters (Rf), which requires an experimental study of aralia extracts using natural deep eutectic solvents (NADES).

Keywords: natural deep eutectic solvents, Manchurian aralia, identification, thin layer chromatography (TLC).

REFERENCES

1. Anastas P.T., Warner J.C. Green Chemistry: Theory and Practice. [Internet]. New York : Oxford University Press, 1998. 30 p.
2. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology / Y. Dai [et al.] // Analytica Chimica Acta. 2013. N 766. P.61–68. http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.019
3. Fuad F.M., Nadzir M.M., Kamaruddin A.H. Hydrophilic natural deep eutectic solvent: A review on physicochemical properties and extractability of bioactive compounds // Journal of Molecular Liquids. 2021. N 339. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116923
4. State register of medicines [Internet]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx (Accessed 5.03.2022) (in Russian)
5. State Pharmacopoeia RF. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (Accessed 03/04/2022)
6. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of medicinal genus Aralia: A review / Y. Xu [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. 2022. N 284. https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114671
7. Ent-Pimara-8(14),15-dien-19-oic acid isolated from the roots of Aralia cordata inhibits induction of inflamatory mediators by blocking NF-κB activation and mitogen-activated protein kinase pathways / O.H. Kang [et al.] // European Journal of Pharmacology. 2008. Vol. 601(1/3). P. 179–185. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.10.012
8. Xu S.X., Chen Y.J., Yao X.S. A study on the chemical constituents of Aralia elata (Miq.)Seem // Journal of Shenyang Pharmaceutical University. 1991. N 8. P. 265–268
9. Oleanolic acid saponins from root bark of Aralia elata / Y. Sakai [et al.] // Phytochemistry. 2004. Vol. 35(5). P. 1319–1324. doi: 10.1016/s0031-9422(00)94846-5.
10. Effects of aralosides on sodium chanel current in cultured neonatal rat cardiomyocytes / Y.W. Zhang // Inf. Tradit. Chin. Med. 2012. Vol. 29. P. 8–10. https://doi.org/10.19656/j.cnki.1002-2406.2012.06.004
11. Oleanane-type triterpene saponins from Aralia armata leaves and their cytotoxic activity / H.Y. Pham [et al.] // Nat. Prod. Res. 2020. Vol. 22. P. 1–8. https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1768090
12. Study on the quality standard of root bark of Aralia taibaiensis / W. Yan [et al.] // Lishizhen Med. Mater. Medica Res. 2012. Vol. 25. P. 4–5.
13. Content determination of (Ent)-6-Kaur-16-En-19-Oic acid and 15-dien-19-oic acid in total organic acids from the root of Aralia cordata by HPLC-DAD / K.R. Dang [et al.] // Chin. Pharm. 2018. Vol. 27. P. 16–19.
14. Studies on cytotoxic triterpene saponins from the leaves of Aralia elata / Y. Zhang [et al.] // Food Chemistry. 2013. Vol. 138(1). P. 208-213
15. M.Y. Sinitsyn [et al.] Structural Characterization of Triterpene Saponins from Manchurian Aralia by High Resolution Liquid Chromatography–Mass Spectrometry / M.Y. Sinitsyn [et al.] // Journal of Analytical Chemistry 2019. Vol. 74(11). P. 1113-1121.

УДК 007.52

УСТРОЙСТВО И ОСНОВНЫЕ КИНЕМАТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РОБОТОВ-МАНИПУЛЯТОРОВ

Покатович А.В., студент 1 курса, **Строганова А.А.**, студент 1 курса
Руководитель: **Недосекова Т.С.,** кандидат технических наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anastasiya.pokatovich@spcpu.ru

В наше время всё больше и больше при выполнении основных и вспомогательных технологических операций в процессе фармацевтического производства людей заменяют роботы-манипуляторы. Эти высокотехнологичные установки незаменимы в агрессивных и высоко стерильных средах, а также для повышений функциональности, предотвращение рисков в процессе производства и увеличения производительности выпуска фармацевтических изделий. Главная социальная задача робота – освобождения человека от работ, связанных с опасностями для здоровья или с тяжелым физическим трудом, а также от простых монотонных операций, не требующих высокой квалификации.

Ключевые слова: *робот, робот-манипулятор, производство, промышленность, механизм, система, строение, устройство, структура.*

Цель работы: рассказать об устройстве и основных кинематических характеристиках роботов-манипуляторов, применяемых в промышленности, в том числе фармацевтической.

Согласно ГОСТ 25686, промышленный робот – это автоматическая машина, стационарная или передвижная, состоящая из исполнительного устройства в виде манипулятора, имеющего несколько степеней подвижности, и перепрограммируемого устройства программного управления для выполнения в производственном процессе двигательных и управляющих функций.

Рисунок 1. Упрощенная блок-схема промышленного робота

Манипулятор – управляемое устройство, предназначенное для выполнения двигательных функций при перемещении объектов в пространстве, оснащенное рабочим органом. Он состоит из: несущих конструкций, исполнительного механизма, захватного устройства, рабочего органа, устройство передвижения, управления, привода, а также система управления, перепрограммируемость устройства, информационно-измерительная система и система связи.

Манипулятор промышленного робота по своему функциональному назначению должен обеспечивать движение выходного звена и объект манипулирования в пространстве. Для полного выполнения этого требования основной рычажный механизм должен иметь не менее шести подвижностей. Робот с шестью подвижностями является сложной автоматической системой, эта система непроста как в изготовлении, так и в эксплуатации, из-за этого в реальных конструкциях часто используются механизмы с менее шести подвижностей. Простые манипуляторы имеют три, реже две, подвижности, эти манипуляторы дешевле в изготовлении и эксплуатации, но предъявляют специфические требования к организации рабочей среды.

Рассмотрим для примера структурную и функциональную схемы промышленного робота с трехосевым подвижным манипулятором. Основной механизм руки манипулятора состоит из неподвижного звена 0 и трех подвижных звеньев 1, 2 и 3.

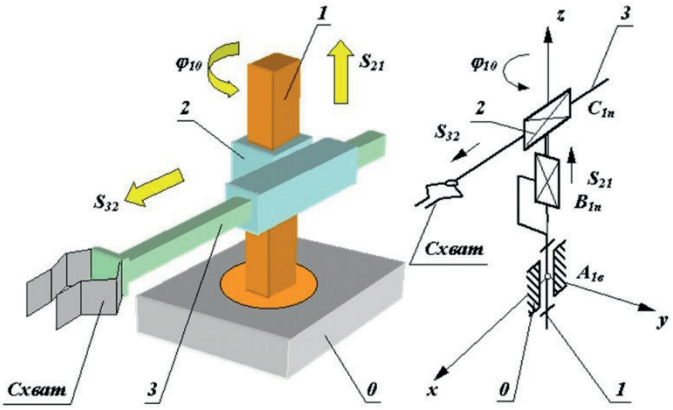


Рисунок 2. Функциональная и структурные схемы промышленного робота

Формула строения – математическая запись структурной схемы манипулятора, содержащая информацию о числе его подвижностей, виде кинематических пар и их ориентации относительно осей базовой системы координат (системы, связанной с неподвижным звеном).

Движения, которые обеспечиваются манипулятором, делятся на:

- глобальные (для роботов с подвижным основанием) – движения стойки манипулятора, которые существенно превышают размеры механизма;

- региональные (транспортные) – движения, обеспечиваемые первыми тремя звеньями манипулятора или его «рукой», величина которых сопоставима с размерами механизма;

- локальные (ориентирующие) – движения, обеспечиваемые звеньями манипулятора, которые образуют его «кисть», величина которых значительно меньше размеров механизма.

В соответствии с этой классификацией движений, в манипуляторе можно выделить два участка кинематической цепи с различными функциями:

механизм руки – часть манипулятора, которая обеспечивает перемещение центра схвата – точки М (региональные движения схвата);

механизм кисти – звенья и пары, которые обеспечивают ориентацию схвата (локальные движения схвата).

Рабочее пространство манипулятора – часть пространства, ограниченная поверхностями, огибающими к множе-

ству возможных положений его звеньев.

Зона обслуживания манипулятора- часть пространства, соответствующая множеству возможных положений центра схвата манипулятора. Она определяется структурой и системой координат руки манипулятора, а также конструктивными ограничениями, наложенными на относительные перемещения звеньев в КП.

Подвижность манипулятора – число независимых обобщенных координат однозначно определяющее положение схвата в пространстве.

Маневренность манипулятора М – подвижность манипулятора при зафиксированном (неподвижном) схвате.

Возможность изменения ориентации схвата при размещении его центра в заданной точке зоны обслуживания характеризуется углом сервиса – телесным углом ψ который может описать последнее звено манипулятора (звено, на котором закреплен схват) при фиксации центра схвата в заданной точке зоны обслуживания.

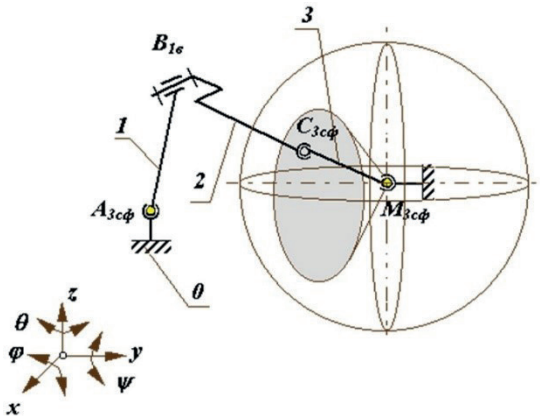


Рисунок 3. Схема пространственных перемещений схвата

Структура кинематической цепи манипулятора должна обеспечивать требуемое перемещение объекта в пространстве с заданной ориентацией. Для этого необходимо, чтобы схват манипулятора имел возможность выполнять движения минимум по шести координатам: трем линейным и трем угловым. Рассмотрим на объекте манипулирования точку М, которая совпадает с центром схвата. Положение объекта в неподвижной (базовой) системе координат $0x_0y_0z_0$ определяется радиусом-вектором точки М и ориентацией единичного вектора с началом в этой точке. В математике положение точки в пространстве задается в одной из трех систем координат:

• прямоугольной декартовой с координатами x_M, y_M, z_M;

• цилиндрической с координатами $r_{sM,\,j\,M}, z_M$;

• сферической с координатами $r_{M,\,j\,M}, q\,M$.

Ориентация объекта в пространстве задается углами α, β и γ, которые вектор ориентации образует с осями базовой системы координат.

При структурном синтезе механизма манипулятора необходимо учитывать следующее:

• кинематические пары манипуляторов снабжаются приводами;

• необходимо обеспечить не только заданную подвижность свата манипулятора, но и ориентацию осей кинематических пар;

• при выборе ориентации кинематических пар необходимо учитывать расположение приводов, а также способ уравновешивания сил веса звеньев.

При выполнении первого условия кинематические пары с несколькими подвижностями заменяют эквивалентными кинематическими соединениями.

По ГОСТ 25685-83 определены 4 вида систем координат для руки манипулятора: прямоугольна(декартова), цилиндрическая, сферическая, угловая (ангулярная).

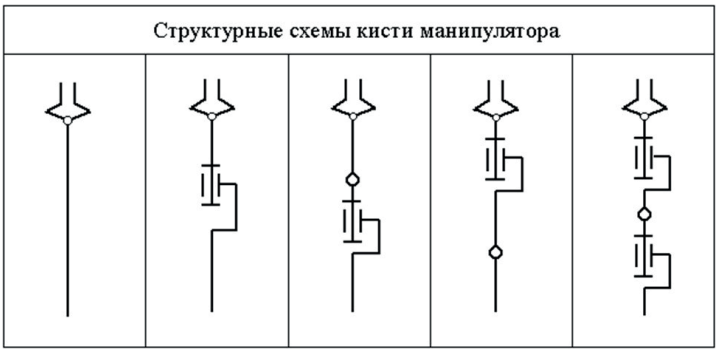


Рисунок 4. Структурные схемы кисти манипулятора

При проектировании роботов приводы звеньев руки, как наиболее мощные и обладающие большей массой, стремятся разместить ближе к основанию робота. Для передачи движения от привода к звену используются дополнительные кинематические цепи.

В рычажном механизме можно выделить кинематическую цепь руки и кинематические цепи приводов. Манипуляторы, использующие принцип размещения приводов – имеют более сложные механизмы, а использующие принципы комбинированного размещения приводов обладают лучшими энергетическими и динамическими характеристиками, а также более высокой точностью.

Особенностью структуры роботов-манипуляторов является изменение структуры механизма в процессе работы, их необходимо учитывать при программировании работы промышленного робота. В соответствии с циклограммой или программой работы робота, в некоторых кинематических парах включаются тормозные устройства. При этом два звена механизма жестко соединяются с друг другом, образуя одно звено. Из структурной схемы механизма исключается одна кинематическая пара и одно звено, число подвижностей схвата механизма уменьшается. Также структура механизма изменяется в процессе выполнения рабочих операций, когда схват с объектом манипулирования соприкасается с окружающими предметами, образуя с ними кинематические пары. В этом случае в цепи могут возникать избыточные связи.

Робототехническое устройство выполнено из нескольких металлических элементов – шарниров, которые обеспечивают возможность вращательного и линейного движения. К основному элементу можно отнести базовую систему манипулятора, которая может выполнять различные функции, например, сверление, регулировку, обхват, поворот, перенос. Среди остальных элементов выделяются приводы, которые бывают пневматическими, гидравлическими и электрическими. Все они отличаются по мощности и производительности.

Рассмотренные схемы и конструкции роботов-манипуляторов могут с успехом применяться в фармацевтическом производстве. К не менее важным комплектующим элементам манипулятора робота относится электронная начинка. Она представляет собой специальный программный продукт, который необходим для автоматизированного управления роботом-манипулятором. Выпуск лекарственных средств всегда связан с повышенными требованиями как к безопасности, так и к системе контроля. Автоматизация фармацевтического производства – одно из основных направлений развития на современном этапе.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

55.30.05 Конструкции и технические характеристики роботов и манипуляторов

ЛИТЕРАТУРА

1. Захарова В.И., Васильева М.П. Промышленные роботы. М., 1992. 286 с.

2. Козырев Ю.Г. Промышленные роботы: Справочник. М.: Машиностроение,1988. 392с.

3. Пол Р. Моделирование, планирование траекторий и управление движением робота – манипулятора. М.: Наука, 2000.

4. Акименко Т.А., Кузнецова Т.Р. Особенности проектирования промышленных роботов // Известия ТулГУ. Технические науки. 2019. N 10. С. 33-38.

5. Выжигин А.Ю., Щипин Ю.К. Методы повышения быстродействия пневматических приводов промышленных роботов: монография М.: Московский гуманитарный университет, 2011. 112 с.

6. Булгаков А.Г., Воробьев В.А. Промышленные роботы: кинематика, динамика, контроль и управление: монография. М.: СОЛОН-Пресс, 2007. 485 с.

7. Устройство промышленных роботов [Электронный ресурс]. URL: http://tmm-umk.bmstu.ru/lectures/lect_19.htm/ (Дата обращения: 05.03.2022)

8. Устройство манипулятора робота: Робот-манипулятор: описание и принцип работы [Электронный ресурс]. URL: https://top3dshop.ru/blog/manipulator-robots-features-and-applications.html (Дата обращения: 05.03.2022 г.)

9. Промышленные роботы, захваты, решения для производств [Электронный ресурс]. URL: https://technored.ru/catalog/avtomatizaciya_proizvodstva/farmacevticheskoj_promyshlennosti.html /(Дата обращения: 05.03.2022 г.)

10. Роботизированные решения для «чистых помещений» [Электронный ресурс]. URL: https://robotec.ru/solutions/17-robotizirovannye-resenia-dla-cistyh-pomesenij

11. Промышленные роботы: виды промышленной робототехники в производстве – примеры применения. [Электронный ресурс]. URL: https://3dtool.ru/stati/promyshlennye-roboty-dlya-proizvodstva/(Дата обращения: 05.03.2022 г.)

12. Как правильно выбрать промышленного робота. производств [Электронный ресурс]. URL: https://guide.directindustry.com/ru/kak-pravilno-vybrat-promyshlennogo-robota/#4 /(Дата обращения: 05.03.2022 г.)

13. Надежность промышленных роботов [Электронный ресурс]. URL:http://rus-robot.com/primeneniya/robot-manipulyator/ (Дата обращения: 05.03.2022 г.)

14. Робототехника в медицине – Yvision.kz [Электронный ресурс]. URL:https://yvision.kz/post/933720 (Дата обращения: 28.02.2022).

15. Автоматизация пищевой промышленности и фармацевтики [Электронный ресурс]. URL: https://sixdof.ru/products/pishhevaya-promyshlennost-i-farmacevtika/ (Дата обращения: 23.02.2022).

SUMMARY

THE DEVICE AND THE MAIN KINEMATIC CHARACTERISTICS OF ROBOT MANIPULATORS

Pokatovich A.V., 1st year student, **Stroganova A.A.**, 1st year student
Scientific supervisor: **Nedosekova T.S.**, Candidate of Technical Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: anastasiya.pokatovich@spcpu.ru

These days, more and more robots are replacing humans in basic and auxiliary process steps in the pharmaceutical production process. These high-tech units are indispensable in aggressive and highly sterile environments, as well as for increasing functionality, preventing risks in the production process and increasing the productivity of pharmaceutical products. The main social task of the robot is to relieve people from the work associated with health hazards or heavy physical labor, as well as simple monotonous operations that do not require high skills.

Keywords: *robot, robot manipulator, production, industry, mechanism, system, structure, device, structure.*

REFERENS

1. Zakharova V.I., Vasilyeva M.P. Industrial robots M.б 1992. 286 p. (in Russian)
2. Kozyrev Yu. G. Industrial robots: Handbook. Moscow: Mashinostroenie,1988. 392 p. (in Russian)
3. Paul R. Modelling, trajectory planning and motion control of robot-manipulator Moscow: Nauka, 2000. (in Russian)
4. Akimenko T.A., Kuznetsova T.R. Features of the design of industrial robots // Proceedings of the Tula State University. Technical sciences. 2019. N 10. P. 33-38 (in Russian)
5. Vyzhigin A.Yu., Shchipin Y.K. Methods of increasing the speed of pneumatic drives of industrial robots: monograph. Moscow: Moscow Humanitarian University, 2011. 112 p. (in Russian)
6. Bulgakov A.G., Vorob'ev V.A. Industrial robots: kinematics, dynamics, control and management: monograph. Moscow : SOLON-Press, 2007. – 485 c. (in Russian)
7. Industrial robots device [Internet]. URL: http://tmm-umk.bmstu.ru/lectures/lect_19.htm / (Accessed: 05.03.2022) (in Russian)
8. Robot manipulator device: Robot manipulator: description and principle of work [Internet]. URL:https://top3dshop.ru/blog/manipulator-robots-features-and-applications.html (Accessed: 05.03.2022) (in Russian)
9. Industrial robots, grippers, solutions for industries [Internet]. URL:https://technored.ru/catalog/avtomatizaciya_proizvodstva/farmacevticheskoj_promyshlennosti.html / (Accessed: 05.03.2022) (in Russian)
10. Robotic solutions for «clean rooms» [Internet]. URL:https://robotec.ru/solutions/17-robotizirovannye-resenia-dla-cistyh-pomesenij (in Russian)
11. Industrial robots: types of industrial robotics in production - examples of applications. [Internet]. URL: https://3dtool.ru/stati/promyshlennye-roboty-dlya-proizvodstva/ (Accessed: 05.03.2022) (in Russian)
12. How to choose the right industrial robot. manufactures [Internet]. URL: https://guide.directindustry.com/ru/kak-pravilno-vybrat-promyshlennogo-robota/#4 / (Accessed: 05.03.2022) (in Russian)
13. Reliability of industrial robots [Internet]. URL:http://rus-robot.com/primeneniya/robot-manipulyator/ (Accessed: 05.03.2022) (in Russian)
14. Robotics in medicine – Yvision.kz [Internet]. URL:https://yvision.kz/post/933720 (Accessed: 28.02.2022). (in Russian)
15. Automation of food industry and pharmaceutics [Internet]. URL: https://sixdof.ru/products/pishhevaya-promyshlennost-i-farmacevtika/ (Accessed: 23.02.2022). (in Russian)

УДК 66-963

МЕХАНОАКТИВАЦИЯ И МЕХАНОАКТИВАТОРЫ В СОВРЕМЕННОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ

Полещук А.А., студ. 2 курса
Руководитель: **Ображей Л.М.**, канд. техн. наук, доцент, зав. кафедрой
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: anastasiya.poleshchuk@spcpu.ru

Были описаны основные аспекты механоактивации – метода, занимающего одно из важнейших мест в современной фармацевтической технологии. Рассмотрены аппараты и механизмы, получившие наиболее широкое распространение и доказавшие свою эффективность при использовании в целях механоактивации. Сделаны выводы

о перспективности механической активации и необходимости разработки применяемых в ее целях механизмов для фармацевтической отрасли.

Ключевые слова: *механоактивация, механоактиваторы, механохимия, мельницы, измельчение, химическая технология.*

Фармацевтическая технология является частью фармацевтической науки, без нее невозможно представить изучение, производство или анализ лекарственных средств и препаратов. В современном мире широкое распространение получили различные прогрессивные методы и способы производства фармацевтической продукции. Одним из таких методов является механоактивация – процесс образования более химически активных веществ, основанный на предварительной механической обработке за счет измельчения в ударном, ударно-истирающем или истирающем режимах и, как следствие, накопления структурных дефектов, фазовых превращениях, увеличения кривизны поверхности и даже аморфизации кристаллов [1].

Целью работы является рассмотрение основных аспектов механоактивации и наиболее распространенных и эффективных в применении аппаратов и механизмов. Существует множество способов применения механоактивации как в фармации (например, в качестве средства солюбилизации малорастворимых лекарственных препаратов), так и далеко за ее пределами. Так или иначе, необходимо чувствовать тонкую грань между такими взаимосвязанными и дополняющими друг друга понятиями как механоактивация, механохимия и трибохимия. Однако, последние два иногда употребляются как синонимы, поскольку между ними прослеживается настолько тесная связь, что различия едва ли можно обнаружить. Механохимия – это наука, решающая важнейшие технологические задачи, изучающая химические превращения в веществах или их смесях в процессе механической обработки и представляющая собой симбиоз химии и механики. Трибохимия является ее разделом, в котором исследуются химические и физико-химические изменения веществ при трении.

Механоактивация – сложный процесс, происходящий при определенных условиях. Так, скорость накопления дефектов должна превышать скорость их исчезновения. В противном случае метод не имеет места быть. 90% энергии запасается именно благодаря образованию дефектов. Увеличение площади поверхности механически обработанного твердого вещества также вносит вклад в модификацию того или иного препарата, в увеличение его химической активности, но в сравнении этот вклад оказывается незначительным.

Развитие фармацевтической промышленности напрямую зависит от используемого оборудования для различных методов. Механическая активация не исключение, поэтому для ее реализации используется специальное измельчающее оборудование – механоактиваторы. Необходимо отметить, что с такими массивными, трудоемкими и энергоемкими операциями, которые подразумевает механоактивация, справляются только аппараты, отвечающие ряду требований, среди которых высокая производительность, механическая надежность, малая энергоемкость и металлоемкость, небольшой вес и габаритные размеры, простота конструкции. Удобство в обслуживании, надежность в работе и заданная производительность также должны обеспечиваться химической аппаратурой [2-6].

Ввиду широкой распространенности и относительной простоты эксперимента наиболее широкое распространение в целях механоактивации получили мельницы. Существует много разновидностей таких агрегатов: барабанные шаровые мельницы, среднеходные (валковые) мельницы, вибрационные и струйные мельницы. Стоит отметить, что, несмотря на технический прогресс, инженерные возможности и достижения, перечисленные выше аппараты все еще обладают нереализованным потенциалом. В этой связи необходимо дальнейшее проведение работ по усовершенствованию мельниц.

Кратко рассмотрим устройство шаровой мельницы. При изучении формы корпуса и конфигурации мелящих тел не возникает затруднений, ведь название говорит само за себя. Рабочий объем мельницы – цилиндр с горизонтальной осью вращения, наполненный мелющими телами, которые изготавливают преимущественно из керамики и оксида алюминия. Измельчение основано на ударах, раздавливании и истирании. При достижении определенной скорости вращения барабана мелющие тела хаотично движутся, поднимаются и падают, тем самым приводя механизм в действие. Эффективность работы напрямую зависит от диаметра шара и материала рабочих частей мельницы. Однозначно можно заявить, что шаровые мельницы находят широкое применение в фармакологии. Однако, существуют и недостатки, одними из которых является постоянный износ мелющих тел, сильный шум и низкая производительность [7].

Преемниками шаровых мельниц стали вибрационные. При их использовании увеличивается эффективность процесса: увеличение тонины помола и однородности готового продукта. Существует много разновидностей таких мельниц, но в общем виде их устройство можно описать так: мелющие тела находятся внутри цилиндрической рабочей камеры, через которую проходит эксцентриковый вал, приводящийся в движение электродвигателем. При вращении вала вибрация передается на рабочую камеру, что вызывает движение мелющих тел. Производительность вибрационных мельниц зависит от многих факторов, но определяющими являются амплитуда вибраций и частота вибраций при постоянной амплитуде [8, 9].

Пусть в фармацевтической технологии на данный момент перечень применяемого оборудования в целях механической активации не так широк, но стоит изъявить надежду на постепенное и последовательное его расширение. Так, необходимо отметить существование технологического комплекса УДА, что расшифровывается как универсальный дезинтегратор-активатор. В настоящее время данный комплекс применяют для увеличения прочности бетона при изготовлении цемента. Изучение характеристик аппарата позволило сделать предположение о возможности его модифицирования под цели фармацевтического производства. Действительно, уже сейчас УДА хорошо зарекомендовал себя

в более широком комплексе отраслей, чем цементная промышленность. Например, обработка фосфоритной муки для растений, приготовление специальных тампонажных смесей для закрепления стенок глубоких буровых скважин при добыче нефти и газа, подготовка стекольной смеси и шихты для производства огнеупоров, предварительная обработка железной руды, крахмалосодержащего сырья для спиртового производства, переработка отходов резины, стеклопластиков и стекловолокна. Это лишь неполный список уже проведенных исследований, в каждом из которых отмечается значительная эффективность по сравнению с традиционными методами переработки. Объяснением этому может служить повышенные число и скорость ударов, влекущие более высокую активность. Устройство УДА включает корпус, станину, электродвигатель, вращающийся рабочий орган (встречно вращающиеся с одинаковой скоростью диски, зазор между которыми регулируется с помощью шайб) и системы управления параметрами помола [10].

Уже были рассмотрены механоактиваторы, формирующие диспергирующее усилие механически. Существуют и аппараты, выполняющие эту функцию аэродинамическим способом. К таким устройствам относят струйные мельницы. Струей газа они разгоняют измельчаемое вещество, которое интенсивно разрушается в результате многочисленных взаимодействий путем столкновений либо друг с другом, либо с отбойной плитой. Отсутствие мелющих тел, высокая эффективность измельчения и малые габариты установок являются несомненными преимуществами струйных мельниц. Эти устройства уже широко распространены в фармацевтическом производстве [11].

Кроме того, существуют электромагнитные механоактиваторы (ЭММА), работа которых направлена на сбалансированное и управляемое энергетическое воздействие на частицы продукта, подвергающегося диспергированию. Использование действия магнитного поля является отличительной особенностью электромагнитных механоактиваторов. Разработка ЭММА проводится в целях достижения меньшего энергопотребления по сравнению с мельницами на стадиях измельчения и механической активации. До сих пор в абсолютном большинстве машин для измельчения не берутся в учет физические свойства и состояния твердых тел, что влечет за собой падение коэффициента полезного действия таких устройств. Следовательно, экономические показатели механоактивации остаются низкими. Электромагнитные механоактиваторы в этом роде могут стать решением проблемы. Их применение не повсеместно, но имеет потенциал. Действительно, на основании проводимых исследовании можно сделать вывод об однозначной перспективности электромагнитного измельчения [12-15].

Заключение

Таким образом, в статье были рассмотрены некоторые конструкции, позволяющие решать многие технологические задачи и способствующие развитию фармацевтической технологии и различных отраслей промышленности, и возможности их применения. Хоть диспергированные вещества никогда не являются конечным продуктом, эти звенья производства заслуживают особого внимания, как и любые другие, поскольку совершенство каждого продукта гарантирует наилучший результат. Следует отметить перспективность механоактивации. Несомненно, она способна вывести многие сферы производства, в том числе фармацию, на качественно новый уровень. Результаты уже проведенных экспериментов не дают поводов в этом усомниться. Учитывая все преимущества механической активации и проанализировав множество разновидностей механизмов, можно сделать вывод о необходимости разработки и активного применения в производстве механоактиваторов. Данная тема дает большое поле для размышлений, так как весь потенциал механизмов, используемых в целях механической активации, все еще не реализован. Стоит выразить уверенность в том, что свежие идеи и новаторский взгляд в совокупности с высокими компетенциями перспективных разработчиков, приведут их к открытиям абсолютно высокоэффективных устройств, которые громко заявят о себе уже в ближайшем будущем. Вместе с этим не будем умалять объективно положительных свойств известных ныне механизмов, они послужат отличным фундаментом для поиска наиболее рациональных решений с технической точки зрения.

В заключение, хочется привести слова выдающегося советского ученого И.А. Хинта, давшего высокую оценку механоактивации: «Мы вправе говорить о том, что разработан, в основном, четвертый компонент технологии – активация веществ при помощи больших механических энергий. Наряду с тремя существующими технологиями – изменением температуры и давления, диспергацией и катализом – эта технология становится не менее важной и эффективной».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.01.00 Общие вопросы химической технологии и химической промышленности

61.13.23 Механические процессы

ЛИТЕРАТУРА

1. Лякишев Н.П. Энциклопедический словарь по металлургии. М.: Интермет Инжиниринг, 2000.

2. Малик А.А., Закусилов В.В., Рыжков А.А. Исследование влияния частоты механоактивации компонентов шихты на процесс получения пористых материалов самораспространяющимся высокотемпературным синтезом // Энергетика: эффективность, надежность, безопасность: материалы XX Всероссийской научно-технической конференции, 2-4 декабря 2014 г., Томск: в 2 т. Т. 2. Томск: Изд-во ТПУ, 2014. С. 176-179.

3. Ломовский О.И., Болдырев В.В. Механохимия в решении экологических задач: аналит. обзор. Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, 2006. 221 с.

4. Болдырев В.В. Механохимия и механоактивация твердых веществ // Успехи химии. 2006. Т. 75. N 3. С. 203-216.

5. Активация измельчением как способ изменения биологической активности и физико-химических свойств лекарственных субстанций на примере никотинамида / Е.В. Успенская [и др.] // Пульс. 2020. Т. 20. N 2. С. 61-66. http://dx.doi.org/10/26787/nydha-2686-6838-2020-22-2-61-66

6. Авакумов Е.Г. Механические методы активации химических процессов. 2-е изд., перераб. и доп. Новосибирск: Наука, 1986. 305с.

7. Дмитрак Ю.В. Движение мелющей нагрузки в шаровых мельницах // Вектор ГеоНаук. 2021. N 4(1). С. 28-36.

8. Шишканов К.А., Дмитрак А.Ю. Анализ конструкций и основных характеристик вибрационных мельниц // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). 2011. С. 324-329.

9. Абдулова С.Р. Вибрационные мельницы: аспекты классификации // Вестник Иркутского государственного технического университета. 2015. N 3. С. 30-34.

10. Ольховский Э.В. Механоактиватор цемента и способ измельчения и механической активации цемента с его использованием: пат. 2371403 РФ. Правообладатель: общество с ограниченной ответственностью «Монолит». [Электронный ресурс]. URL: https://findpatent.ru/patent/237/2371403.html

11. Постникова И.В., Блиничев В.Н., Кравчик Я. Струйные мельницы // Современные наукоемкие технологии. Региональное приложение. 2015. N 2(42). С. 144-151.

12. Беззубцева М.М. Методические подходы к разработке электромагнитных маханоактиваторов // Научно-методический журнал Омского ГАУ. 2017. N 2(9).

13. Беззубцева М.М., Волков В.С. Исследование селективности процесса измельчения в электромагнитных механоактиваторах: монография. СПб.: СПбГАУ, 2017. 248 с.

14. Беззубцева М.М., Волков В.С. Механоактиваторы агропромышленного комплекса. Анализ, инновации, изобретения: монография. СПб.: СПбГАУ, 2013. 170 с.

15. Еникеев К.Б., Беззубцева М.М. Классификация механоактиваторов АПК // Материалы VI Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум» [Электронный ресурс]. URL: https://scienceforum.ru/2014/article/2014003033 (дата обращения: 28.02.2022).

SUMMARY

MECHANOACTIVATION AND MECHANOACTIVATORS IN MODERN PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY

Poleshchuk A.A., 2nd year student
Scientific supervisor: **Obrazhey L.M.**, Candidate of Technical Sciences, senior lecturer, Head of Department
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: anastasiya.poleshchuk@spcpu.ru

The main aspects of mechanoactivation – a method that takes one of the most important places in a modern pharmaceutical technology, have been described. The most widespread and proven effective items of equipment and machines have been represented. Conclusions on the prospects of chemical activation and the necessity of development of supporting mechanisms for pharmaceutical industry have been made.

Keywords: *mechanoactivation, mechanoactivators, mechanochemistry, grinding machine, disintegration, chemical technology.*

REFERENCES

1. Ljakishev N.P. Jenciklopedicheskij slovar' po metallurgii. Moscow: Intermet Inzhiniring. 2000. (in Russian)

2. Malik A.A., Zakusilov V.V., Ryzhkov A.A. Issledovanie vlijanija chastoty mehanoaktivacii komponentov shihty na process poluchenija poristyh materialov samorasprostranjajushhimsja vysokotemperaturnym sintezom. // Jenergetika: jeffektivnost', nadezhnost', bezopasnost': materialy XX Vserossijskoj nauchno-tehnicheskoj konferencii, 2-4 dekabrja 2014 g. Tomsk: v 2 t. Vol. 2. Tomsk: Izd-vo TPU, 2014. P. 176-179. (in Russian)

3. Lomovskij O.I., Boldyrev V.V.; Mechanochemistry for Solving Environmental Problems: analit. obzor. Novosibirsk: GPNTB SO RAN, 2006. Vol. 79. 221 p. (in Russian)

4. Boldyrew V.V. Mechanochemistry and mechanical activation of solids // Uspehi himii. 2006. Vol. 75(3). P. 203-216. (in Russian)

5. Grinding activation as a way to change the biological activity and physical-chemical properties of drugs using nicotinamide as an example / E.V. Uspenskaya [et al.] // Pul's. 2020. Vol. 20(2) P. 61-66. http://dx.doi.org/10/26787/nydha-2686-6838-2020-22-2-61-66. (in Russian)

6. Avakumov E.G. Mehanicheskie metody aktivacii himicheskih processov: 2-e izd., pererab. i dop. Novosibirsk: Nauka, 1986. 305 p. (in Russian)

7. Dmitrak Ju.V. Dvizhenie meljushhej nagruzki v sharovyh mel'nicah // Vektor GeoNauk. 2021. N 4(1) P. 28-36. (in Russian)

8. Shishkanov K.A., Dmitrak A.Ju. Analiz konstrukcij i osnovnyh harakteristik vibracionnyh mel'nic // Gornyj informacionno-analiticheskij bjulleten' (nauchno-tehnicheskij zhurnal). 2011. P. 324-329. (in Russian)

9. Abdulova S.R. Vibracionnye mel'nicy: aspekty klassifikacii // Vestnik Irkutskogo gosudarstvennogo tehnicheskogo universiteta. 2015. N 3. P. 30-34. (in Russian)

10. Ol'hovskij Je.V. Mehanoaktivator cementa i sposob izmel'chenija i mehanicheskoj aktivacii cementa s ego ispol'zovaniem: pat. 2371403 Ros. Federacija. Pravoobladatel': obshhestvo s ogranichennoj otvetstvennost'ju «Monolit». [Internet]. URL: https://findpatent.ru/patent/237/2371403.html

11. Postnikova I.V., Blinichev V.N., Kravchik Ja. Strujnye mel'nicy // Sovremennye naukoemkie tehnologii. Regional'noe prilozhenie. 2015. N 2(42) P. 144-151. (in Russian)

12. Bezzubceva M.M. Metodicheskie podhody k razrabotke jelektromagnitnyh mahanoaktivatorov // Nauchno-metodicheskij zhurnal Omskogo GAU. 2017. N 2(9). (in Russian)

13. Bezzubceva M.M., Volkov V.S. Issledovanie selektivnosti processa izmel'chenija v jelektromagnitnyh mehanoaktivatorah: monografija. SPb.: SPbGAU, 2017. 248 p. (in Russian)

14. Bezzubceva M.M., Volkov V.S. Mehanoaktivatory agropromyshlennogo kompleksa. Analiz, innovacii, izobretenija: monografija. SPb.: SPbGAU, 2013. 170 p. (in Russian)

15. Enikeev K.B., Bezzubceva M.M. Klassifikacija Mehanoaktivatorov APK // Materialy VI Mezhdunarodnoj studencheskoj nauchnoj konferencii «Studencheskij nauchnyj forum» [Internet]. URL: https://scienceforum.ru/2014/article/2014003033 https://scienceforum.ru/2014/article/2014003033 (Accessed: 28.02.2022). (in Russian)

УДК 615:4

ВЫБОР И ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА С АНАЛЬГЕЗИРУЮЩИМ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ДЕЙСТВИЕМ В ВИДЕ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ

Поляков А.Д., студ. 4 курса (ORCID: 0000-0001-8333-0248)
Руководители: **Куваева Е.В.**, доц., к. фарм. н. (ORCID: 0000-0002-1894-884X)
Басевич А.В., доц., к. фарм. н. (ORCID: 0000-0002-6864-6794)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: andrej.polyakov@spcpu.ru

Статья посвящена изучению актуальности использования лекарственного средства с анальгезирующим и противовоспалительным действием в виде мягкой лекарственной формы, а также выбор компонентов и обоснованию состава мягкой лекарственной формы анальгезирующего и противовоспалительного средства.

Ключевые слова: *мягкие лекарственные формы, выбор компонентов основы, вспомогательные вещества, фармацевтический рынок России, анальгезирующее и противовоспалительное действие.*

Лекарственные средства с обезболивающим и противовоспалительным действием являются постоянным востребованным объектом фармацевтического рынка лекарств. За последние годы наметилась тенденция на фармацевтическом рынке России к увеличению доли данных средств, а именно в виде мягких лекарственных форм: мазей и гелей.

Данный факт связан с тем, что мягкая лекарственная форма, предназначенная для наружного применения, имеет меньше побочных действий и воздействует местно, в зоне болевого очага, таким образом, действующее вещество попадает в системный кровоток в меньших количествах, чем в виде других лекарственных форм. Также немаловажен тот факт, что потребителю психологически комфортнее использование мягких лекарственных форм. Необходимо отметить удобство применения, не требующее никаких дополнительных средств и/или приспособлений, а также возможность использования в удобном месте сразу при появлении симптоматики.

Совокупность данных факторов привела к увеличению доли рынка и интересу производителей в разработке подобных лекарственных препаратов. Ранее нами был обоснован выбор лекарственной формы для нового анальгезирующего средства на основе анализа тенденций развития фармацевтического рынка России [1], была доказана перспективность направления работы по созданию мази или геля и обосновано с позиции распределения долей рынка, согласно данным Справочника лекарств РЛС и Государственного реестра лекарственных средств (ГРЛС).

Таким образом, считаем актуальной цель данной работы: выбор компонентов и обоснование состава мягкой лекарственной формы (МЛФ) для лекарственного средства, обладающего анальгезирующим и противовоспалительным действием. Для реализации данной цели были поставлены следующие задачи: изучить требования к составу МЛФ, осуществить выбор компонентов и обоснование состава МЛФ.

Материалы и методы

В ходе выполнения работы использовались такие методы исследования, как: анализ, сравнение, ранжирование.

Результаты и обсуждение

На первом этапе данного исследования был выполнен сравнительный анализ часто используемых компонентов состава основы в МЛФ [2], результаты которого представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Зависимость использования компонентов основ в их классификации по отношению к воде

Классификация основы	Лекарственные формы	Вспомогательные вещества, компоненты основы:	Назначение вещества
1	2	3	4
Смешанные	мазь суспензионно-эмульсионная	полисорбат 60 стеариновая кислота	Эмульгатор
		метилпарагидроксибензоат	Консервант
		глицерол пропиленгликоль цетиловый спирт диметикон	Увлажняющий компонент, эмолент
		парафин жидкий	Липофильный компонент
		триглицериды среднецепочечные макрогола стеарат	Гидрофильный компонент
	крем	сорбитол пропилпарагидроксибензоат сорбитана стеариновая кислота стеарат цетомакрогол 1000	Эмульгатор
		метилпарагидроксибензоат	Консервант
		цетиловый спирт изопропилпальмитат	Увлажняющий компонент, эмолент
		парафин жидкий	Липофильный компонент
Гидрофильные	крем	макрогола глицерилгидроксистеарат	Солюбилизатор
		карбомер 974 Р (карбоксиполиметилен)	Гелеобразователь
		натрия гидроксид	Щелочной агент, регулятор pH
	гель	Ксилитол сорбитол натрия сахаринат	Вкусовой компонент для стомотологических гелей
		пропиленгликоль полисорбат-20	Гидрофильный компонент
		динатрия эдетат	Консервант
		карбомер	Гелеобразователь
		натрия гидроксид	Щелочной агент, регулятор pH
		левоментол	Отдушка
Гидрофобные	-	ланолин	Липофильный компонент
	-	вазелин	

На основании данных, представленных в таблице 1 можно сделать вывод о том, что современные мягкие лекарственные формы чаще всего выпускаются в виде кремов или гелей, мягкие лекарственные формы на классической гидрофобной основе за последние пять лет в ГРЛС не зарегистрированы.

На втором этапе была изучена зависимость выбора компонентов основы в новых лекарственных препаратах для местного анальгезирующего действия от физико-химических свойств субстанции [3]. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Зависимость выбора компонентов основы в новых МЛФ для местного анальгезирующего действия от физико-химических свойств субстанции

Торговое название МЛФ	Состав основы	Названия АФС	Растворимость действующего вещества	Вид мази	Место действия
Ауробин Мазь для местного и наружного применения в тубе. (Венгрия)	полисорбат 60 триклозан метилпарагидроксибензоат цетиловый спирт глицерол пропиленгликоль макрогола стеарат парафин жидкий диметикон триглицериды среднецепочечные стеариновая кислота.	Активные вещества лидокаин декспантенол преднизолон	Лидокаин преднизолон незначительно растворимы в воде, в отличие от декспантенола	Мазь эмульсионносуспензионная	Компоненты способствуют быстрому проникновению молекул действующих веществ в ткани-мишени.

Торговое название МЛФ	Состав основы	Названия АФС	Растворимость действующего вещества	Вид мази	Место действия
Прокто-Гливенол (лидокаин+трибенозид) Крем ректальный, в тубе. (Швейцария)	цетомакрогол 1000 цетиловый спирт изопропилпальмитат парафин жидкий метилпарагидроксибензоат пропилпарагидроксибензоат сорбитана стеарат сорбитол стеариновая кислота	Активные вещества трибенозид лидокаина гидрохлорид	Лидокаина гидрохлорид Легкорастворимы в воде, трибенозид незначительно	Крем	Ректально на слизистые оболочки.
Эмла (лидокаин+прилокаин) Крем для местного и наружного применения в тубе. (Великобритания)	макрогола глицерилгидроксистеарат карбомер 974 Р (карбоксиполиметилен) натрия гидроксид – 5,2 мг для доведения pH до 8,7–9,7	Активные вещества лидокаин прилокаин	Легкорастворимы в воде	Крем для местного и наружного применения	Местное и наружное применения.
Дентинокс (лидокаин+полидоканол+ромашки экстракт) Гель стоматологический в тубе. (Германия)	Ксилитол сорбитол пропиленгликоль динатрия эдетат карбомер натрия гидроксид полисорбат- натрия сахаринат левоментол	Активные вещества Ромашки аптечной цветков настойка лидокаина гидрохлорид лауромакрогол	Легкорастворимы в воде	Гель стоматологический.	На десну в месте прорезывания зуба.

В ходе анализа новых лекарственных препаратов (таблица 2) в виде мягких лекарственных форм, было установлено, что смешанные мази характеризуются наличием липофильного компонента состава основы, что является следствием растворимости активных фармацевтических субстанций.

Заключение

Проведенное нами исследование свидетельствует о том, что большое значение в технологии готовых лекарственных средств имеют физико-химические свойства субстанций. Это стало основанием для проведения анализа компонентов состава основ лекарственных препаратов, обладающих анальгезирующим и противовоспалительным действиями, появившихся на рынке в последние 5 лет. Были выявлены закономерности физико-химических свойств, а именно растворимости в воде активных фармацевтических субстанций. Поскольку 5-бутил-1,2-дифенил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия легкорастворим в воде, дающей щелочную реакцию, имеет смысл использование карбополов, в связи с их соответствием реакции среды.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Обоснование выбора лекарственной формы для нового анальгезирующего препарата на основе анализа фармацевтического рынка России / А.Д. Поляков [и др.] // Сборник материалов международной научно-практической конференции «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы. Ташкент, 29 октября 2021. Ташкент, 2021. С. 547-549.

2. Местные анестетики. 3.1.5. // Регистр лекарственных средств России. РЛС Пациент 2003. М.: Регистр Лекарственных Средств России, 2002. [Электронный ресурс]. URL: https://www.rlsnet.ru/library/books/rls-pacient-2003/chast-3.-mir-lekarstv/glava-3.1.-sredstva-vliyayushhie-na-centralnuyu-nervnuyu-sistemu/3.1.5.-mestnye-anestetiki (Дата обращения 05.03.2022).

3. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. URL: grls.rosminzdrav.ru (Дата обращения 05.03.2022).

SUMMARY

SELECTION AND VERIFICATION OF A COMPOSITION OF A MEDICINE WITH ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY IN A SEMISOLID DOSAGE FORM

Polyakov A.D., 4th year student (ORCID: 0000-0001-8333-0248)
Scientific supervisors: **Kuvaeva E.V.**, Associate Professor, Candidate of Pharm. Science (ORCID: 0000-0002-1894-884X)
Basevich A.V., Associate Professor, Candidate of Pharm. Science (ORCID: 0000-0002-6864-6794)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: andrej.polyakov@spcpu.ru

The article is devoted to the study of the relevance of the use of a medicine with analgesic and anti-inflammatory activity in the form of a semisolid dosage form, as well as the selection of components and verification of the composition of a semisolid dosage form with analgesic and anti-inflammatory activity.

Keywords: *Semisolid dosage forms, choice of components basis, excipients, pharmaceutical market of Russia, analgesic and anti-inflammatory effect.*

REFERENCES

1. Obosnovanie vybora lekarstvennoj formy dlja novogo anal'gezirujushhego preparata na osnove analiza farmacevticheskogo rynka Rossii / A.D. Poljakov [et al.] // Sbornik materialov mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Sovremennoe sostojanie farmacevticheskoj otrasli: problemy i perspektivy. Tashkent, 29 oktjabrja 2021. Tashkent, 2021. P. 547-549. (in Russian)
2. 3.1.5. Mestnye anestetiki // Registr lekarstvennyh sredstv Rossii. RLS Pacient 2003. M.: Registr Lekarstvennyh Sredstv Rossii, 2002. [Internet]. URL: https://www.rlsnet.ru/library/books/rls-pacient-2003/chast-3.-mir-lekarstv/glava-3.1.-sredstva-vliyayushhie-na-centralnuyu-nervnuyu-sistemu/3.1.5.-mestnye-anestetiki (Accessed 05.03.2022). (in Russian)
3. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennyh sredstv [Internet]. URL: grls.rosminzdrav.ru (Accessed 05.03.2022). (in Russian)

УДК 615:454.1:615.014

СТАБИЛЬНОСТЬ РАСТВОРА ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ ДИФЕНГИДРАМИНА ГИДРОХЛОРИДА В УСЛОВИЯХ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР

Радченко А.Ю., курсант 4 года обучения
Руководитель: **Ватанская О.А.,** канд. фарм. наук, преподаватель кафедры фармации
Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ
194044, Санкт-Петербург, улица Академика Лебедева, д. 6, лит. Ж, Российская Федерация
E-mail: Iscander12580@mail.ru

На основании сбора, систематизации и анализа современных данных научной литературы по проблеме стабильности лекарственных средств в зависимости от различных факторов, проведено исследование стабильности лекарственного препарата дифенгидрамина гидрохлорида в условиях низких температур, а также в циклах «замерзание-размораживание».

По результатам исследований установлено, что лекарственный препарат раствор для инъекций 1% дифенгидрамина гидрохлорид при неоднократном замораживании и размораживании не изменяется по параметрам качества.

Ключевые слова: *дифенгидрамина гидрохлорид, раствор для инъекций, стабильность, низкие температуры, цикл «замерзание-размораживание», спектрофотомерия.*

Среди научных исследований в направлении подтверждения качества лекарственных средств (ЛС) выделяются те, которые связаны с исследованием стабильности ЛС, в зависимости от климатической зоны, в которой будет происходить их распределение и реализация [1, 3, 4]. Северные территории и зона Арктики являются объектом интереса России, тем более что более 70% страны находится в северных широтах. Критериями стабильности ЛС являются определенные характеристики, соответствие которым свидетельствует о необходимом уровне качества лекарственных препаратов (ЛП). Актуальность темы исследования состоит в том, что гарантия качества ЛС по уровню социальной значимости является одной из важнейших задач государства в области охраны здоровья населения. Даже качественные ЛП под действием внешних условий могут прийти в негодность, потерять эффективность и стать небезопасными. С учетом разнообразия природно-климатических условий крайне важно чтобы ЛС при их использовании, хранении и транспортировке не теряли свои фармакологически значимые свойства.

Целью нашего исследования является изучение стабильности ЛП при воздействии на него низких температур. Актуальность исследований влияния низких температур на свойства лекарственных препаратов обусловлена активным

развитием Арктического региона Российской Федерацией. Для выполнения поставленной цели, были сформированы следующие задачи:

1. Выбор объекта исследования.
2. Описание его фармакологических свойств и процессов деструкции в процессе хранения.
3. Выбор метода количественного определения и составление метрологической характеристики метода анализа.
4. Определение критичность изменений, происходящих с выбранным лекарственным препаратом в условиях низких температур и изучение вопроса влияния процессов замораживания – размораживания на стабильность лекарственного препарата.

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования использовали лекарственный препарат Димедрола раствор для инъекций 1%, 1 мл, производства ООО «Велфарм». Исследования изменений происходящих при хранении проводили с помощью методов анализа описанных в Государственной Фармакопеи (ГФ) XIV: ОФС.1.4.1.0007.15 Лекарственные формы для парентерального применения ГФ XIV, том 2. Проводили следующие испытания: «описание», «pH» (испытание проводили в соответствии с требованиями ОФС «Ионометрия» и требованиями, указанными в нормативной документации), «видимые механические включения». Согласно требованиям, раствор для инъекций дополнительно контролировали по показателям: «Прозрачность», «Цветность» в соответствии с требованиями ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей», ОФС «Степень окраски жидкостей». Количественное определение действующего вещества проводили согласно ОФС.1.2.1.1.0002.15. «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» выполнялась в соответствии с требованиями с ГФ XIV, том 1. В экспериментальной части исследования было использовано следующее оборудование и приборы: климатическая камера КТХ-80/-70.150, спектрофотометр ПЭ 5400УФ, pH-метр А4100.

Результаты и обсуждения

Для выбора объекта нашего исследования были проанализирован состав комплектов медицинского имущества, стоящих на вооружении ВС РФ, на примере аптечки первой помощи индивидуальной (АППИ), аптечки первой помощи групповой (АППГ), сумки первой помощи (СПП), сумки фельдшерской войсковой (СФВ) и сумки врача войсковой (СВВ).

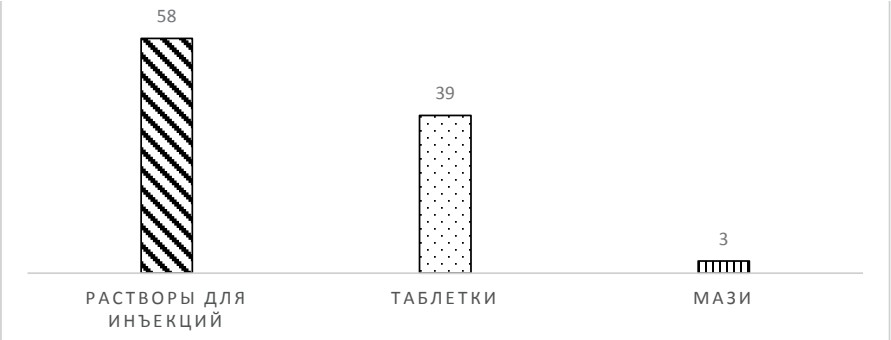


Рисунок 1. Анализ комплектов медицинского имущества

В связи с тем, что доля лекарственных форм «раствор для инъекций» составляют большую часть (58 %) всех ЛП, входящих в комплекты медицинского имущества, представляло интерес начать изучение стабильности в низких температурных режимах именно с этой группы. В качестве объекта исследования был выбран препарат, входящий в список жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП) – раствор дифенгидрамина гидрохлорида 1% в ампулах.

Дифенгидрамина гидрохлорид (димедрол) относится к препаратам-блокаторам гистаминовых H1-рецепторов (рис. 2). Обладает противоаллергической активностью, оказывает местноанестезирующее, спазмолитическое и умеренное ганглиоблокирующее действие. Применяется при аллергических реакциях немедленного типа в патогенезе которых гистамину принадлежит решающая роль (крапивница, аллергический ринит и другие). Механизм действия данного препарата заключается в блокаде H1-гистаминовых рецепторов, приводящей к снижению тонуса бронхов, кишечника и матки, понижению проницаемости сосудов, что способствует спаданию отеков, купированию боли и зуда за счет активации H2-гистаминовых рецепторов. Антагонизм с гистамином проявляется в большей степени по отношению к местным сосудистым реакциям при воспалении и аллергии, чем к системным, то есть снижению артериального давления. При парентеральном введении пациентам с дефицитом объема циркулирующей крови может способствовать снижению артериального давления и усилению имеющейся гипотензии. Так же у данного препарата имеются немало важные побочные эффекты. Блокада H3-гистаминовых и М-холинорецепторов вызывает седативный и снотворный эффект, оказывает умеренное противорвотное действие, а также обладает центральной холинолитической активностью. И хотя в повседневной жизни седативный и снотворный эффект негативно влияют на трудоспособность человека, но в боевых действиях наличие данного побочного эффекта можно рассматривать как положительный фактор при оказании первой помощи пострадавшим в чрезвычайных и неотложных ситуациях. Димедрол представлен раствором для парентерального применения, данная особенность позволяет вводить его внутривенно, что увеличивает скорость наступления и силу фармакологического эффекта. Все выше перечисленные фармакологические свойства и эффекты данного ЛП доказывают необходимость его использования ВС РФ. Хранить препарат требуется в защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С.

Дифенгидрамина гидрохлорид представляет собой растворимую в воде соль дифенгидрамина и хлористоводородной кислоты. При его длительном хранении или воздействии факторов окружающей среды (свет, воздуха, температура) дифенгидрамина гидрохлорид в растворе подвергается гидролизу с образование исходных веществ [5]. Схема гидролиза представлена на рисунке 2. Разрушение действующего вещества ЛП приводит к потере его фармакологической активности и появлению нежелательных побочных эффектов. Поэтому важно знать, как именно температурные перепады скажутся на стабильности и качестве лекарственного препарата.

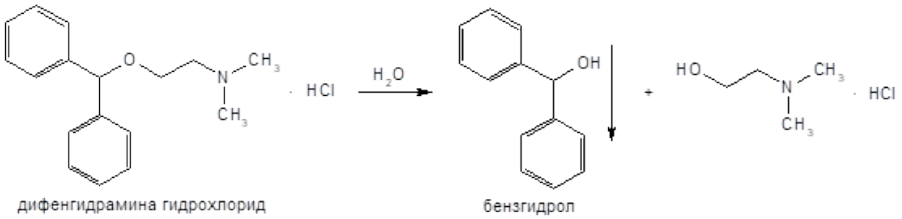


Рисунок 2. Схема гидролиза дифенгидрамина гидрохлорида

В ходе исследования использован разработанный ранее алгоритм проверки стабильности ЛП, попадающих в экстремальные природно-климатические условия. Алгоритм содержит раздел проверки на долгосрочные и ускоренные испытания стабильности при влиянии стрессовых факторов. Оценивалось влияние фактора резкого перепада температуры, а также его продолжительность, так как качество ЛП может зависеть от степени их замораживания при транспортировании и хранении. Одновременно изучался вопрос влияния количества актов замораживания – размораживания на стабильность препарата.

У испытуемых образцов предварительно было установлено соответствие упаковки, маркировки и срока годности требованиям нормативных документов. После вскрытия упаковки ампулы с раствором проверялись на наличие механических включений. Перед помещением образца в климатическую камеру были проверены показатели: описание, прозрачность и цветность раствора в сравнении с растворителем, pH раствора.

Исследования проводили в климатической камере КТХ-80/-70.150. Замораживание образцов происходило при температуре -25 ºС, препараты термостатировались во вторичной упаковке при одной фиксированной температуре, и не подвергались реальному для данной климатической зоны действию холодовой нагрузки. Оттаивание замерзших образцов проводили в отапливаемых помещениях при комнатной температуре +23–25 ºС, в течение 3-5 часов, после чего производилось перемешивание и встряхивание препарата для гомогенизации раствора. Повторно цикл «замораживание – оттаивание» был проведен с изменением температуры до -30 ºС.

Следующей задачей нашего научного исследования являлось выбор метода количественного определения димедрола в растворе. На основании поиска по патентным и научно-техническим источникам информации установлено, что существует достаточно много титрометрических методов количественного определения дифенгидрамина гидрохлорида. [2] Учитывая, что ЛП относится к производным эфиров, то под действием света, кислорода воздуха активная фармацевтическая субстанция разлагается до бензгидрола и диметиламиноэтанола (рис. 2). При этом дифенгидрамин теряет свою фармакологическую активность. Недостатком неводного титрометрического способа является низкая специфичность метода в присутствии продуктов разложения препарата (диметиламиноэтанол), который также обладает основными свойствами и титруется хлорной кислотой наряду с неразложившейся субстанцией.

Известен экстракционно-фотометрический метод количественного определения димедрола [патент №2240537 от 10.05.2004 г] [5]. В качестве реагента применяют салицилатный комплекс меди (II) с последующей экстракцией полученного окрашенного соединения хлороформом и фотометрированием экстракта. Недостатком метода является использование в качестве экстрагента хлороформа – токсичного органического растворителя.

Для анализа лекарственной формы «Раствор для инъекций» нами использован метод спектрофотометрия в УФ-области, который характеризуется воспроизводимостью и быстротой выполнения. Спектрофотометрический метод анализа позволяет оценить количественное содержание ЛВ, но не содержание и изменение концентрации примесей. Идентификацию активной фармацевтической субстанции проводили путем сравнения максимума оптической плотности на УФ-спектре испытуемых растворов с максимумом на УФ-спектре раствора сравнения. В результате анализа были получены УФ-спектры в диапазоне 235-270 нм, представленные на рисунке 3. Установлен максимум при длине волны 258±2 нм в водной среде.

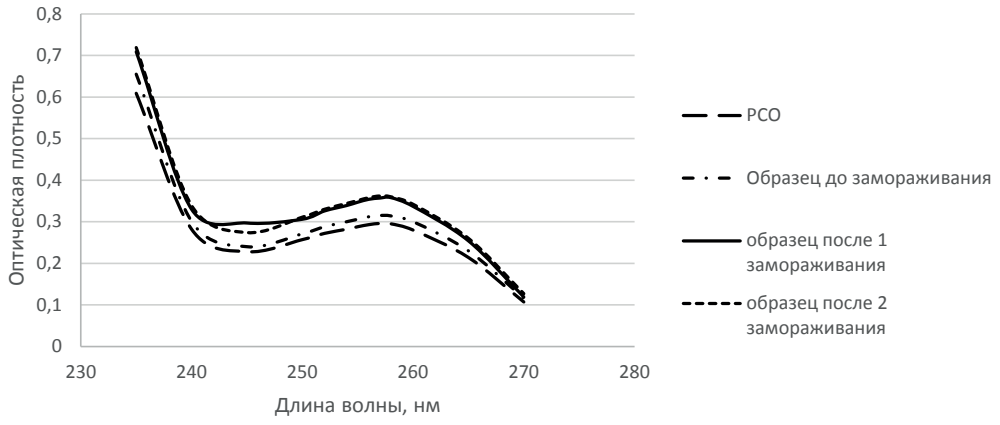


Рисунок 3. Измерения раствора испытуемого образца

Изучение стабильности инъекционных растворов димедрола производилось путем анализа растворов сравнения и испытуемых растворов препарата [2]. В качестве стандартного образца (СО) использовалась субстанция дифенилгидрамина гидрохлорида. Оптическую плотность испытуемого раствора и раствора сравнения измеряли в максимуме при длине волны 258 нм, используя в качестве контрольного раствора воду очищенную. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Методика количественного определения: 2,5 мл исследуемого раствора препарата дифенгидрамина гидрохлорида 1% переносили в мерную колбу на 100 мл, доводили водой до метки, перемешивали и измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 258 нм; толщина слоя в кювете 10 мм.

Параллельно в тех же условиях измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца (СО) дифенгидрамина гидрохлорида. Содержание дифенгидрамина гидрохлорида в лекарственной форме рассчитывали по формуле:

$$C,\% = \frac{A_x \times 100 \times 50 \times 2{,}5 \times P}{A_{pco} \times a \times 25 \times 50 \times 100} \times 100\% ,$$

где A_x – оптическая плотность раствора испытуемого образца;
A_{pco} – оптическая плотность раствора СО;
а – навеска СО, мл;
Р – объем лекарственной формы, мл.

Приготовление раствора СО дифенгидрамина гидрохлорида. Точную навеску 0,05 субстанции дифенгидрамина гидрохлорида, помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили водой до метки (раствор А). Затем 25 мл раствора А доводили водой до метки в мерной колбе вместимостью 50 мл.1 мл раствора РСО содержит 0,00025 г дифенгидрамина гидрохлорида.

Для получения достоверных результатов спектрофотометрическая методика количественного определения димедрола была подвергнута метрологической оценке в соответствии с требованиями ГФ XIV по показателям: точность, воспроизводимость. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Метрологические характеристики количественного определения дифенгидрамина гидрохлорида

μ	f	X	s^2	s	P	t (P, f) (табл.)	Δx	ε	δ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0,0100	2	0,0103	0,00000016	0,0004	0,95	2,73	0,00008	7,8%	2,9%

Образцы препарата димедрола до и после замораживания соответствовали требованиям «описание», «механические включения», «pH», «прозрачность», «цветность». «количественное содержание». По показателю «Количественное определение» статистически значимых различий выявлено не было (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты испытаний раствора дифенилгидрамина гидрохлорида 1%

Образец	Описание	pH	Видимые механические включения	Прозрачность, цветность	Количественное определение
Исходный ЛП	Прозрачная бесцветная жидкость	5,8	Отсутствуют	Бесцветный Прозрачный	0,99%
Однократный цикл «замораживание-размораживание»	Прозрачная бесцветная жидкость	5,9	Отсутствуют	Бесцветный Прозрачный	1,10%

Образец	Описание	pH	Видимые механические включения	Прозрачность, цветность	Количественное определение
Двукратный цикл «замораживание-размораживание»	Прозрачная бесцветная жидкость	6,0	Отсутствуют	Бесцветный прозрачный	1,08%

Не отмечены заметные изменения в устойчивости дифенгидрамина гидрохлорида в стрессовых условиях низких температур. Выявлено, что холод и замораживание, а также периодическое оттаивание образцов не оказывает влияние на параметры качества препарата раствора дифенгидрамина гидрохлорида 1%, что свидетельствует о стабильности препарата в изучаемых условиях.

Заключение

1. Установлено, что растворы для инъекций составляют большую часть (58%) всех ЛП, входящих в комплекты медицинского имущества, стоящих на вооружении ВС РФ. Выбран объект для изучения стабильности ЛП – раствора дифенгидрамина гидрохлорида 1% в ампулах (димедрол).

2. На основании анализа современных данных научной литературы по проблеме стабильности лекарственных средств в зависимости от различных факторов, установлены продукты разложения дифенгидрамина гидрохлорида, которые могут повлиять на снижение фармакологической активности препарата и/или увеличение его побочных эффектов.

3. Выбран метод количественного определения дифенгидрамина гидрохлорида -спектрометрия в ультрафиолетовой области. Проведена его метрологическая оценка по критериям точности и воспроизводимости. Показано, что она может быть использована в лабораторных условиях при изучении стабильности препаратов димедрола.

4. Экспериментальное исследование показало, что низкие температуры не оказывают значительного влияния на качество препарата раствора дифенгидрамина гидрохлорида (димедрол) 1% в ампулах. Неоднократное замораживание и последующее оттаивание исследуемых образцов не повлияло на качество лекарственного препарата.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р 52249-2009 Правила производства и контроля качества лекарственных средств [Электронный ресурс] URL: https://docs.cntd.ru/document/1200071754 (дата обращения: 29.03.2021).

2. ГОСТ Р 57129-2016. Лекарственные средства для медицинского применения. Часть 1. Изучение стабильности новых фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов. Общие положения. [Электронный ресурс] URL: http://vsegost.com/Catalog/63/63541.shtml (дата обращения: 29.03.2021).

3. Стабильность и сроки годности лекарственных средств ОФС.1.1.0009.18. // Государственная фармакопея Российской Федерации. Т.1. XIV изе. 2018 с. 208-260. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/207/ (дата обращения: 29.03.2021).

4. Об утверждении Требований к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций: Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 10 мая 2018 г. N 69 (ред. от 30.06.2020) [Электронный ресурс] URL: https:// www.garant.ru/products/ipo/prime/ doc/71842348/ (дата обращения: 29.03.2021).

5. Калмакова Л.С. Изучение кинетики разложения дифенгидрамина гидрохлорида в различных лекарственных формах: автореферат диссертация кандидата фармацевтических наук:15.00.02. Тюмень, 2005. 20 с.

SUMMARY

Radchrnko A.U., 4st year cadet
Scientific supervisor: **Vatanskaya O.A.,** Cand. of pharm. sciences, Teacher of the department of pharmacy
S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation,
6, Ac. Lebedeva,St. Petersburg, 194044, Russian Federation
E-mail: Iscander12580@mail.ru

Based on the collection, systematization and analysis of modern scientific literature data on the problem of drug stability depending on various factors, a study was made of the stability of the drug diphenhydramine hydrochloride at low temperatures, as well as in freeze-thaw cycles.

According to the results of the studies, it have found that the drug solution for injection of 1% diphenhydramine hydrochloride does not change in terms of quality parameters during repeated freezing and thawing.

Keywords: *diphenhydramine hydrochloride, injection, stability, low temperatures, freeze-thaw cycle, spectrophotometry.*

REFERENCES

1. GOST R 52249-2009 Good manufacturing practice for medicinal products (GMP) [Internet] URL: https://docs.cntd.ru/document/1200071754 (Accessed 29.03.2021). (in Russian)

2. GOST R 57129-2016 Medicines for medical application. Part 1. Stability testing of new drug substances and products. General [Internet] URL: http://vsegost.com/Catalog/63/63541.shtml (Accessed 29.03.2021). (in Russian)

3. Stability and shelf life of medicines. 1.1.0009.18. // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Vol. 1. XIV ed. 2018. P. 208-260 [Internet] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/207/ (Accessed 29.03.2021). (in Russian)

4. About approval of Requirements to research of stability of medicines and pharmaceutical substances: Eurasian economic commission resolution N 69 of 10 may, 2018 [Internet] URL: https:// www.garant.ru/products/ipo/prime/ doc/71842348/ (Accessed 29.03.2021). (in Russian)

5. Kalmakova L. Study of the kinetics of decomposition of diphenhydramine hydrochloride in various dosage forms: abstract dissertation of the candidate of pharmaceutical sciences:15.00.02. Tyumen, 2005. P. 20.

УДК 004.94

ПРИНЦИП СОЗДАНИЯ МОДЕЛИ СБОРКИ В СИСТЕМЕ ТРЕХМЕРНОГО ТВЕРДОТЕЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ КОМПАС-3D

Речкалов Г.В., студ. 1 курса
Руководитель: **Недосекова Т.С.**, кандидат технических наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: georgij.rechkalov@spcpu.ru

В данной работе рассмотрены приемы создания трехмерных моделей, выделены основные требования к эскизу для получения детали вращения в системе трехмерного твердотельного моделирования КОМПАС-3D. В качестве иллюстрации была создана сборка из двух деталей, соединенных с помощью резьбового соединения. Выявлены преимущества данного метода создания сборочных чертежей, автоматически получен чертеж из модели сборки, даны рекомендации по составлению технической документации.

Ключевые слова: *системы автоматизированного проектирования, трехмерная модель, сборочный чертеж, твердотельное моделирование, операция вращения, технологическое оборудование, техническая документация.*

В современном мире идет быстрое развитие систем автоматизированного проектирования (САПР) в абсолютно различных отраслях промышленности, таких как фармацевтическая отрасль, тяжелое машиностроение, строительство и многих других. С помощью САПР разрабатываются чертежи различных элементов технологического оборудования для фармацевтических предприятий, производится трехмерное моделирование аппаратов и их узлов, составляется сопроводительная и техническая документация [1].

Одним из лидеров на рынке является компания АСКОН с разработанной САПР: КОМПАС-3D. Использование САПР компании АСКОН существенно упрощает работу с технической документацией и различными чертежами технологического оборудования, использующегося на фармацевтических производствах. Поэтому все большее и большее количество работодателей в фармацевтической отрасли выдвигают к работника требования, содержащие пункт о необходимости умения работать в САПР, в частности в КОМПАС-3D.

Целью работы являлось выделение принципов работы в САПР КОМПАС-3D на примере создания модели сборки двух деталей путем резьбового соединения и автоматическое составление технической документации к данной модели.

Компания АСКОН является лидером на российском рынке разработчиков систем автоматизированного проектирования и составляет достойную конкуренцию зарубежным программам. К преимуществам программы КОМПАС-3D можно отнести:

1. Легкость освоения программы даже людьми, не имевшими опыт работы с 3D-редакторами.
2. Удобство выполнения чертежей и технической документации в соответствии со стандартами.
3. Наличие библиотек элементов, стандартизированных по ГОСТ, удобных инструментов для проектирования трубопроводов, сварных швов, валов и механических передач.
4. Наличие встроенной системы обучения и бесплатной учебной версии.
5. Относительно невысокая стоимость [2].

Все эти преимущества позволяют с легкостью выполнять моделирования различных деталей и элементов аппаратов фармацевтических производств, в частности сборок двух деталей путем резьбового соединения.

В качестве иллюстрации было выбрано соединения двух деталей, модель этого соединения была создана по заданным размерам деталей А и Б.

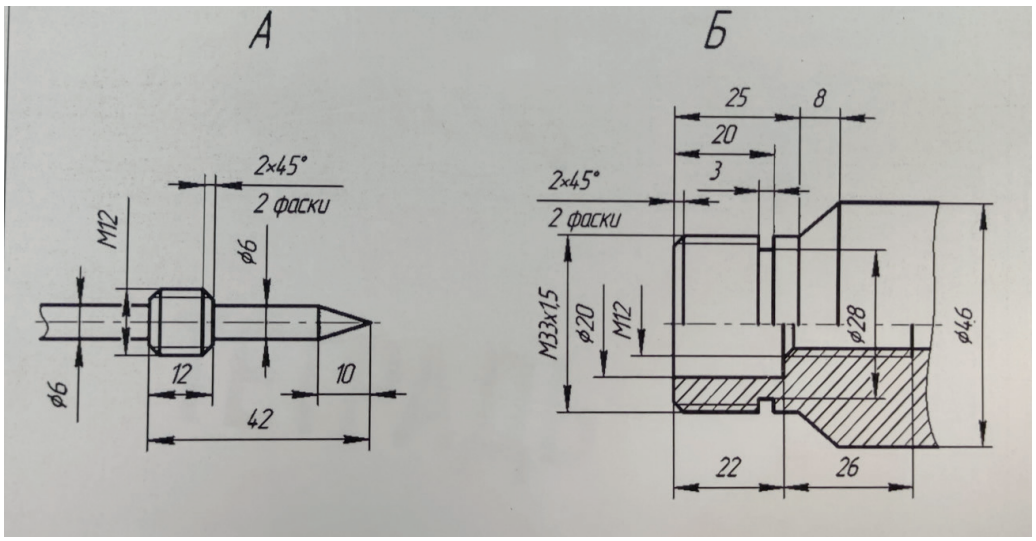


Рисунок 1. Исходные размеры деталей для моделирования

На данном рисунке представлены две детали вращения, соединяемые друг с другом в сборку путем с помощью резьбового соединения. По размерам деталей составляются эскизы для создания трехмерных деталей вращения. Данная операция широко распространена при проектировании различных устройств, в том числе аппаратов фармацевтических производств, поэтому носит практический характер [4].

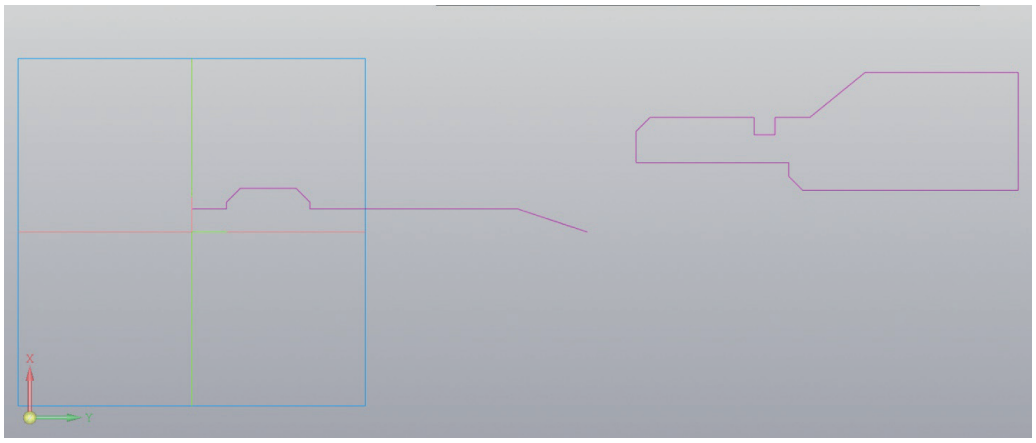


Рисунок 2. Эскизы деталей вращения

Любая формообразующая операция базируется на эскизе. Эскиз представляет собой полусечение детали, которое построено вокруг оси вращения детали. К эскизу есть определенные требования, которые зависят от типа операции. Для операции вращения справедливо:

1. Объекты, которые должны участвовать в операции, должны быть выполнены основной и осевой линиями. Контур выполняется основной линией, осевая линия обозначает ось вращения. Все вспомогательные линии выполняются любым другим стилем, в том числе и утолщенной линией.

2. Если эскиз содержит ось, то она не должна пересекать контур. Крайние точки контура могут лежать на оси, либо её продолжении.

3. Один замкнутый контур может быть вложен в другой замкнутый контур, степень вложенности любая.

Далее эти эскизы с помощью элемента выдавливания вращением (операция КОМПАС) становятся объемными телами вращения, на них задаются условные резьбы. Данные эскизы имеют размеры идентичные тем, что изображены на заданном чертеже, что обеспечивает максимальную точность моделирования сборки [5].

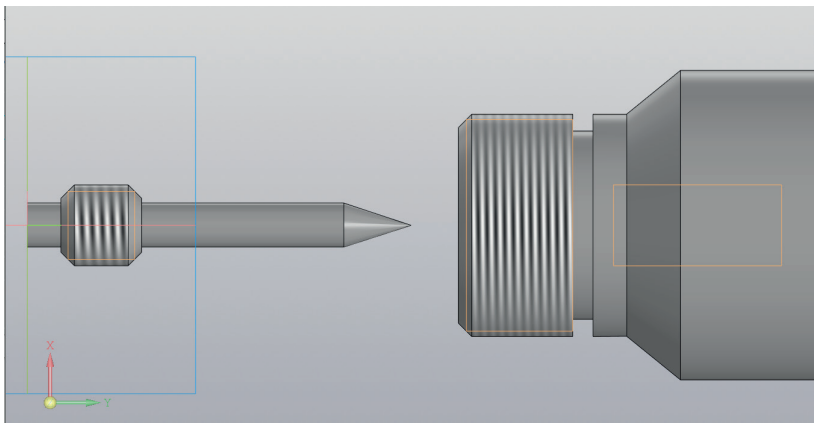


Рисунок 3. Смоделированная в 3D сборка

После окончания вышеописанных операций мы имеем смоделированную сборку деталей, соединяемых с помощью резьбы. Данные модели имеют размеры полностью идентичные заданным на рабочем чертеже, в полной мере передают реальные пропорции деталей.

Благодаря внутреннему функционалу САПР КОМПАС-3D можно выполнить различные вариации соединений деталей сборки: совпадение, соосность, параллельность, перпендикулярность и другие.

Теперь по построенной модели сборки можно составить чертеж, а также лист спецификации. Они формируются автоматически и отвечают требованиям ГОСТ 2.602-95 и ГОСТ 2.108-68.

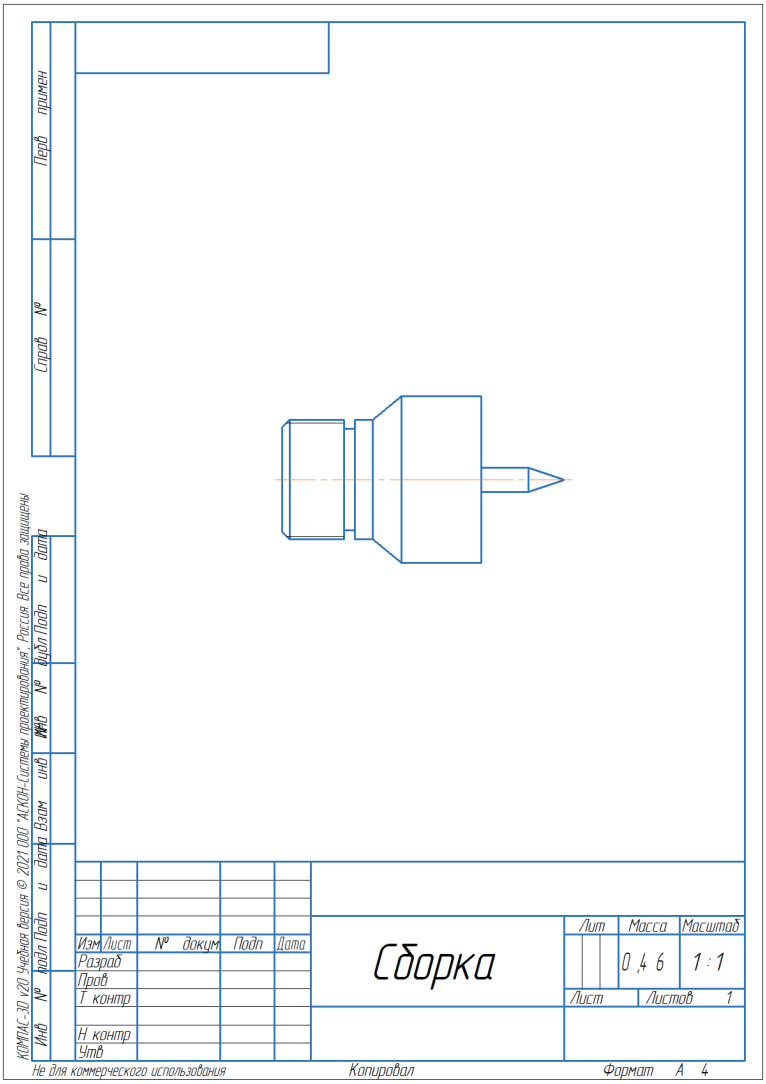


Рисунок 4. Чертеж сборки

На этом сборочном чертеже можно показать с помощью специальных команд КОМПАС разрезы, сечения, дополнительные виды для показа внутреннего строения согласно ГОСТ, номера позиций деталей, проставить нужные размеры и др. [6].

Лист спецификации отражает количество деталей в сборке, материал из которого они выполнены, а также их обозначение на чертежах. Наличие тех или иных разделов определяется составом изделия, для которого создается спецификация.

Формат	Зона	Поз	Обозначение	Наименование	Кол	Приме-чание
				Детали		
		1		Шпиндель	1	
		2		Втулка	1	

Рисунок 5. Фрагмент спецификации

Таким образом, в системе автоматизированного проектирования КОМПАС-3D по заданному чертежу была построена трехмерная модель сборки, сформированы автоматически сборочный чертеж и спецификация, а также показаны удобные возможности дальнейшей доработки технической документации с помощью встроенных операций в соответствии с ГОСТ.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

81.14.13 Методы проектирования и конструирования

ЛИТЕРАТУРА

1. Молодцова М.Ю. Использование САПР «Компас-3D» в преподавании дисциплины «Инженерная графика» // Инновационное развитие профессионального образования. 2018. N 4(20). С. 28-34.

2. Преимущества КОМПАС-3D в САПР обзор возможностей [Электронный ресурс]. URL: https://texdizain.net/proektirovanie/37-preimuschestva-kompas-3d-v-sapr-nebolshoy-obzor.html (Дата обращения: 04.03.2022 г.)

3. Берлинер Э. Актуальность применения САПР в машиностроении // САПР и графика. 2000. N 9.

4. Ганин Н.Б. Трехмерное проектирование в КОМПАС-3D. М.: ДМК-Пресс, 2012. 784 с.

5. Большаков В.П., Бочкарев А.П., Сергеев А.А. 3D- моделирование в AutoCAD, КОМПАС-3D, SolidWorks, Inventor, T-Flex: Учебный курс (+DVD). СПб.: Питер, 2011. 336 с.

6. Матиенко Л.В., Татарникова С.Р. 3D-Моделирование в инженерной графике // сборник статей международной научно-практической конференции. Пенза, 2014. С 56 -59.

7. Талалай П.Г. Компьютерный курс начертательной геометрии на базе КОМПАС-3D. СПб.: БХВ-Петербург, 2010. 608 с.

8. Операция вращения // Компас-уроки [Электронный ресурс]. URL: https://kompas-uroki.ru/kompas-3d/operatsiya-vrashheniya (Дата обращения: 04.03.2022 г.)

9. Николаева И. «Аскон» представляет новую версию КОМПАС-3D // САПР и графика. 2000. N 10.

10. Кидрук М. КОМПАС-3D V10 на 100 %. СПб.: Питер, 2009. 560 с.

11. Урок 9. Сборка в Компас 3d // Черчение для всех [Электронный ресурс]. URL: https://veselowa.ru/urok-9-sborka-v-kompas-3d/ (Дата обращения: 04.03.2022 г.)

12. Урок №7. Построение сборочных чертежей // Справочник проектировщика [Электронный ресурс]. URL: https://seniga.ru/uchmat/55-kompas/181-unit7.html (Дата обращения: 04.03.2022 г.)

13. Система проектирования спецификаций. Руководство пользователя. М.: Аскон, 2010. 244 с.

14. Информационный портал Vertex [Электронный ресурс]. URL: https://autocad-lessons.ru/specification-in-kompas-3d/ (Дата обращения: 04.03.2022 г.)

15. Информационный портал Персональный сайт преподавателя Гончарова О. Г. КГБПОУ «Каменский агротехнический техникум» [Электронный ресурс]. URL: http://k-a-t.ru/ing_grafika/ing_grafika_sborka2/index.shtml (Дата обращения: 04.03.2022 г.)

SUMMARY

THE PRINCIPLE OF CREATING AN ASSEMBLY MODEL IN THE KOMPAS-3D THREE-DIMENSIONAL SOLID-STATE MODELING SYSTEM

Rechkalov G.V., student 1st year
Scientific supervisor: **T.S. Nedosekova**, Candidate of Technical Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: georgij.rechkalov@spcpu.ru

In this paper, techniques for creating three-dimensional models are considered, the basic requirements for a sketch for obtaining a rotation detail in the KOMPAS-3D three-dimensional solid-state modeling system are highlighted. As an illustration was created 3D model of assembling from two parts connected by a threaded connection. The advantages of this method of drawing up assembly drawings are revealed, a drawing from the assembly model is automatically obtained, recommendations for drawing up technical documentation are given.

Keywords: *computer-aided design systems, three-dimensional model, assembly drawing, solid-state modeling, rotation operation, technological equipment, technical documentation.*

REFERENCES

1. Molodtsova M.Y. The use of CAD «Compass-3D» in teaching the discipline «Engineering graphics" // Innovative development of vocational education. 2018. N 4(20). P. 28-34. (in Russian).
2. Advantages of COMPASS-3D in CAD review capabilities [Internet]. URL: https://texdizain.net/proektirovanie/37-preimuschestva-kompas-3d-v-sapr-nebolshoy-obzor.html (Accessed: 03.04.2022) (in Russian).
3. Berliner E. Relevance of CAD application in mechanical engineering // CAD and graphics. 2000. N 9. (in Russian).
4. Ganin N.B. Three-dimensional design in COMPASS-3D. Moscow: DMK-Press, 2012. 784 p. (in Russian).
5. Bolshakov V.P., Bochkarev A.P., Sergeev A.A. 3D modeling in AutoCAD, KOMPAS-3D, SolidWorks, Inventor, T-Flex Training (+DVD). St. Petersburg: Piter, 2011. 336 p. (in Russian).
6. Matienko L.V., Tatarnikova S.R. 3D Modeling in engineering graphics // collection of articles of international scientific-practical conference, Penza, 2014. P. 56 -59. (in Russian).
7. Talalay P.G. Computer course in descriptive geometry on the basis of KOMPAS-3D. St. Petersburg: Bkhv-Peterburg, 2010. 608 p. (in Russian).
8. Rotation operation // Compass lessons [Internet]. URL: https://kompas-uroki.ru/kompas-3d/operatsiya-vrashheniya (Accessed: 03.04.2022) (in Russian).
9. Nikolaeva I. «Askon» presents a new version of COMPASS-3D // CAD and graphics. 2000. N 10. (in Russian).
10. Kidruk M. COMPASS-3D V10 100%. St. Petersburg: Peter, 2009. 560 p. (in Russian).
11. Lesson 9. Assembly in Compass 3d // Drawing for All [Internet]. URL: https://veselowa.ru/urok-9-sborka-v-kompas-3d / (Accessed: 03.04.2022) (in Russian).
12. Lesson 7. Construction of Assembly Drawings // Designer Manual [Internet]. URL: https://seniga.ru/uchmat/55-kompas/181-unit7.html (Accessed: 03.04.2022) (in Russian).
13. Specification design system. User's Guide. Moscow: Askon, 2010. 244 p. (in Russian).
14. Vertex Information Portal [Internet]. URL: https://autocad-lessons.ru/specification-in-kompas-3d / (Accessed: 03/04/2022) (in Russian).
15. Information portal Personal website of the teacher Goncharov O. G. KGBPOU «Kamensky agrotechnical college» [Internet]. URL: http://k-a-t.ru/ing_grafika/ing_grafika_sborka2/index.shtml (Accessed: 03/04/2022) (in Russian).

УДК 541.49.183:546.562.723:547.854.5.

КРИОГЕЛИ НА ОСНОВЕ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА (БСА): СИНТЕЗ, СВОЙСТВА, ПРИМЕНЕНИЕ

Романенко М.С.[1], студ. 3 курса, **Рудомётова М.О.**[2], **Сучкова К.М.**[2],
Капранова Е.Д.[2], студ. 2 курса, **Шерстнев В.В.** [3], магистр 1 года обучения
Руководитель: **Чухно А.С.**[2], к.х.н., доцент
[1]Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава России
Пискаревский пр-т., 47, пав.26. г. Санкт-Петербург, 195067 Россия
[2]Санкт-Петербургский Государственный химико-фармацевтический университет
ул. Профессора Попова, 14, г. Санкт-Петербург, 197376, Россия
[3]Университет ИТМО. Институт холода и биотехнологий
ул. Ломоносова, 9 г. Санкт-Петербург, 921002 Россия
E-mail: friend-rus77@yandex.ru

В работе рассматривается как используя тепловую и индуцированную агрегацию модельного белка (бычьего сывороточного альбумина), можно получить белковый пористый материал, методом криотропного гелеобразования. В данной работе был применен ацетилцистеин, с целью разорвать дисульфидные связи в макромолекулах исходного белка и вызывать его деполимеризацию. Карбамид (мочевина), в синтезе был взят в качестве денатурирующего агента, для того, чтобы разворачивать белковые структуры путем разрушения химических связей внутри молекулы. Кроме этого, такие криогели имеют гетерофазную макропористую структуру. Широкая доступность сывороточного альбумина делает его удобным объектом для синтеза на его основе бионосителей для различных лекарственных веществ, белков и др., а также, его использование в качестве биосорбента.

Ключевые слова: *гелеобразование белков, биодеградируемая матрица, субстрат для цитологических культур.*

Разработка биосовместимых нетоксичных полимеров, обеспечивающих направленный, пролонгированный транспорт лекарственных веществ с их выделением непосредственно в очаге поражения, минуя желудочно-кишечный тракт и печень (где они могут частично инактивироваться и оказывают токсическое действие), остается актуальной задачей, не менее важной, чем разработка и синтез самого действующего лекарственного вещества.

Основной белок сыворотки крови, – альбумин (в частности, бычий сывороточный альбумин, или БСА), может служить удобным объектом для получения на его основе гелей, имеющих макропористую структуру, в том числе и медицинского назначения. Ведь известно, что аминокислотная последовательность в БСА на 76% гомологична последовательности сывороточного альбумина человека. В процессе циклов замораживания-оттаивания протекают сложные физико-химические процессы, способные вызвать процесс денатурации и последующую агрегацию белковых молекул. Агрегацию белков вызывают те же факторы, действующие и при денатурации белков. Ковалентно связанные между собой агрегаты могут формироваться посредством дисульфидных связей, образуемых свободными тиоловыми группами или с помощью недисульфидных сшивок, например, путем образования дитирозинов между молекулами белка. Ковалентные дисульфидные связи обеспечивают образование поперечных сшивок, которые значительно прочнее, по сравнению с водородными связями и гидрофобными взаимодействиями, которые осуществляют первоначальное скручивание в глобулы молекул белка. Расположение пептидных цепей, первоначально образованных за счет более слабых связывающих сил, фиксирует дисульфидная поперечная сшивка. Биохимический смысл этой дисульфидной связи определяется уникальностью природы системы тиол-дисульфид, в которой связь может, как образовываться, так и разрываться посредством дисульфидного обмена.

Как было установлено с помощью метода динамического светорассеяния (DLS): при тепловой агрегации БСА высокореакционноспособная развернутая форма белка полностью переходит в агрегированное состояние на момент завершения денатурации. Полученные агрегаты называются первичными агрегатами. При температуре 65 градусов Цельсия часть низкореакционноспособной развернутой формы белка может принять участие в агрегации, путем присоединения к агрегатам большего размера. Предполагается, что низкореакционноспособная форма присоединяется к первичным агрегатам и этот процесс завершается формированием вторичных агрегатов после полного исчезновения низкореакционноспособной формы. Такое формирование вторичных агрегатов является гетерогенной нуклеацией – здесь ядро формируется на поверхности первичного агрегата, а дальнейший рост агрегата продолжается путем присоединения развернутых мономеров к гетерогенному ядру [2]. Образование нескольких форм развернутого БСА в процессе нагревания может происходить путем перестройки дисульфидных связей в молекуле БСА в процессе разворачивания глобул белка.

Денатурирующие агенты, например, мочевина, способны разворачивать белковые структуры путем разрушения химических связей внутри молекулы.

Аминокислотная последовательность БСА включает 35 остатков Цистеина, 34 из которых формируют 17 дисульфидных связей, стабилизирующих глобулу; и один остаток Цистеина, несущий свободную тиольную группу. В процессе исследования было сделано предположение, что можно создать нетоксичный белковый полимер, если сначала развернуть все глобулы исходного белка (БСА), используя такие известные, безопасные и доступные вещества, как ацетилцистеин (АЦЦ) и мочевину (карбамид); кроме того, прогреть полученную реакционную смесь на водяной бане, – это еще больше «развернет» глобулы БСА, и сделает реакционную смесь более концентрированной вследствие выпаривания

воды, и увеличит вязкость раствора. По мере продолжения нагревания денатурация БСА вызовет экспонирование слишком большого количества гидрофобных участков белка, а взаимодействия открытых гидрофобных участков, которые нестабильны в водной среде, приведет к агрегации белковых молекул с образованием геля.

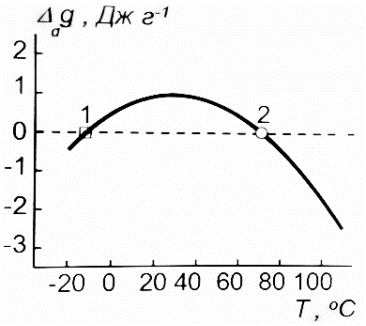


Рисунок 1. Температурная зависимость свободной энергии денатурации БСА при pH 7.4 (20 мМ имидазольный буфер, 0.15 М NaCl): точка 1 – точка холодовой денатурации (T1 = -12 °C); точка 2 – точка тепловой денатурации (T2 = 71°C) [3]

На рис. 1 приводятся термодинамические параметры тепловой денатурации альбумина. Расчёты были выполнены д.х.н. В.Я. Гринбергом. Они наглядно демонстрируют температурную зависимость свободной энергии денатурации белка в широком интервале температур при pH = 7.4. На представленной кривой с пиком в интервале максимальной стабильности альбумина, точка 1 (T1) – точка холодовой денатурации (T1 = -12 °C); точка 2 (T2) – точка тепловой денатурации (T2 = 71 °C). В литературе приводятся сведения что, при температуре 65, 70 и 75 °C мономер и димер еще присутствует в растворе, но уже начинают формироваться более крупные агрегаты диаметром 15, 17 и 22 нм, соответственно [4]. При температуре 80 °C димер полностью перестает существовать, а мономер еще присутствует, при этом средний диаметр агрегатов составляет около 28 нм. При повышении концентрации белка увеличивается и размер агрегатов, при этом образуется белковый гель.

Последующее погружение реакционной смеси в камеру криостата, – ее замораживание, – должно привести к усилению взаимодействия между отдельными частицами и в результате должен образоваться белковый гель: за счет сил когезии и за счет образования между молекулами БСА дисульфидных химических связей (-S-S-) за счет присутствия в реакционной смеси ацетилцистеина, обладающего сильными восстановительными свойствами. Вещество ацетилцистеин (АЦЦ) способно разрывать дисульфидные связи в макромолекулах бычьего сывороточного альбумина, что должно привести к более полному разворачиванию полипептидных цепей, а также присутствие в системе денатурирующего агента мочевины, также будет способствовать разворачиванию макромолекул бычьего сывороточного альбумина. Таким образом, диффузия ацетилцистеина к внутримолекулярным SS связям внутри глобулы бычьего сывороточного альбумина должна проходить легче.

Кроме того, карбамид, помимо денатурации, будет при гидролизе создавать в реакционной смеси среду с pH = 5.5. Этот показатель близок к изоэлектрической точке БСА (pH = 4.7), что будет способствовать устойчивости геля во внешних условиях.

Обработка водных растворов альбумина и ацетилцистеина, в присутствии мочевины, в криокамере криостата приводит к образованию криогелей, пространственная структура которых стабилизирована с помощью гидрофобных взаимодействий. Индуцированная мочевиной денатурация глобулы БСА сама по себе не является достаточным условием для формирования стабильных межцепочечных гидрофобных контактов, так как, цикл замораживания-оттаивания при тех же условиях водных растворов такого белка, в частности БСА, не вызывает образования криогеля.

Повышение концентрации мочевины и ацетилцистеина в исходных водных растворах БСА, – в растворе при упаривании его на водяной бане, сам по себе тоже не приводит к формированию устойчивого во внешних условиях геля. Таким образом, можно сделать вывод: что для формирования устойчивого геля необходимо совместное действие денатурирующего агента (мочевины), восстановителя (ацетилцистеина), концентрирование раствора во время прогрева реакционной смеси на водяной бане, и, последующая обработка смеси в криокамере криостата.

В результате такого комбинированного воздействия должна произойти межмолекулярная сшивка: должны формироваться узлы полимерной структуры криогеля включающие внутримолекулярные SS-связи, встроенные в участки микросреды, более гидрофобной относительно других сегментов сольватированных в водной среде полипептидных цепей. Нативная структура молекул БСА подвергается денатурации под действием химических веществ, а затем, молекулы белка заново «сворачиваются» под действием температурного фактора и прочно фиксируются между собой с помощью межмолекулярных ковалентных сшивок, под действием сильного восстановителя, – ацетилцистеина. Поликристаллы замерзшего растворителя воды, выполняют в криогеле роль порогена имеет место геотропизм. Другими словами, замерзание воды в реакционной смеси, помещенной в хладагент в камере криостата, происходит сверху вниз, в результате, внутри образовавшегося геля формируются поры (полости), связанные между собой, и имеющие вертикальное направление.

Целью настоящего исследования является изучение специфики механизма образования белково-пористой матрицы, полученной на основе бычьего сывороточного альбумина, а также сам синтез белково-пористой матрицы на основе бычьего сывороточного альбумина, как подтверждение теоретических данных.

Задачами, решаемыми в ходе исследования, являются:

➢ Определить состав и соотношение компонентов реакционной смеси, необходимой для синтеза белково-пористой матрицы.

➢ Установить и описать специфику механизма образования белково-пористой матрицы, полученной на основе бычьего сывороточного альбумина, с учетом необходимых условий ее устойчивости во внешней среде (pH среды, температура образования и время выдержки реакционной смеси в хладагенте камеры криостата; определить размеры белковых глобул).

➢ Описать строение и свойства новой белково-пористой матрицы – полученного образца геля БСА, полученного методом криотропного гелеобразования.

Были использованы: бычий сывороточный альбумин (БСА), (BSA – Product number A2153, Fraction V, *Sigma – Aldrich Company Ltd, Gillingham*, *UK*). Растворы БСА 10 г/л получали медленным растворением лиофилизированного белка в дистиллированной воде. Мочевина (≥ 99.5%), ацетилцистеин (≥ 99.5%), дистиллированная вода.

Применялись методы pH-метрии, кондуктометрии, световой микроскопии; термометрия с использованием хромель-копелевой термопары.

Известно, что средняя молярная масса нативного БСА при комнатной температуре составляет 6.6×10^4 г/моль, гидродинамический диаметр молекулы равен примерно 7 нм.

Чтобы рассчитать компоненты реакционной смеси следует исходить из состава молекулы БСА. Мольная концентрация БСА в его растворе с концентрацией 100 мг/мл составляет 1.44 ммоль/л, а общая концентрация остатков цистеина в нем составляет около 50.4 ммоль/л. Таким образом, концентрация SS-связей составляет в нем 25.2 ммоль/л, а количество свободных SH-групп составляет примерно 1.44 ммоль/л, соответственно.

Следовательно, для приготовления исходного раствора для синтеза БСА-криогеля, мольное соотношение свободных SH-групп и растворенного ацетилцистеина должно быть близко к эквимолярному, но не более, иначе получится не гель, а более твердая структура криоструктурат.

Ацетилцистеин (*N*-ацетил-*L*-цистеин, NAC) – $C_5H_9NO_3S$, Молярная масса 163.19 г/моль. Для полного насыщения S-S связей свободных SH-групп в водном растворе БСА потребуется не более 1.44 ммоль ацетилцистеина, или 163.19·0.0144 = 2.35 г. В данном случае, было взято 1.2 г АЦЦ, то есть ацетилцистеин был взят в недостатке (50%). Карбамид (мочевина) – $(NH_2)_2CO$ молярная масса 60.07 г/моль, необходим в качестве денатурирующего агента, его присутствие необходимо, но концентрированные растворы карбамида хуже замерзают, ввиду криоскопического эффекта, и ухудшают механические свойства полученного криогеля. Карбамида брали 6 г, то есть 0.1 моль. Кроме того, карбамид, помимо денатурации, будет при гидролизе создавать в реакционной смеси среду с pH = 5.5. Этот показатель близок к изоэлектрической точке БСА (pH = 4.7) [5,6], что будет способствовать устойчивости геля во внешних условиях. Зная эти свойства, была использована именно эта концентрация, найденная опытным путем.

Материалы и методы

Две навески сухого БСА массой 500 мг растворяли в двух стаканчиках по 50 мл дистиллированной воды в каждом. Это было сделано потому, что лиофилизированный бычий сывороточный альбумин относится к белкам крови, является глобулярным белком, и, сам по себе, очень плохо растворяется в воде (хорошо растворяется в разбавленных растворах солей). Предварительно сухой БСА измельчался в ступке с помощью пестика для облегчения дальнейшего растворения. А далее, используя лабораторную магнитную мешалку и периодический подогрев на водяной бане, добивались полного растворения БСА. Использование лабораторной ультразвуковой мешалки недопустимо, так как ультразвук повреждает структуру белка. Затем, в каждый стаканчик, к полученному раствору, добавляли по 600 мг ацетилцистеина, перемешивали с использованием магнитной мешалки до полного растворения ацетилцистеина. Полученные растворы сливали в одну фарфоровую чашку прогревали и упаривали на водяной бане на 50 % по объему.

К упаренному раствору добавляли водный раствор мочевины, содержащего 6 г карбамида в 20 мл дистиллированной воды.

Раствор перемешивали стеклянной палочкой и повторно упаривали на водяной бане до 10 мл. Приготовленную таким образом реакционную систему порциями по 5 мл набирали в два 5-миллилитровых пластиковых шприца, которые герметизировали колпачками, охлаждали в водной среде, при температуре +4 °С, а затем помещали в хладагент камеры жидкостного криостата (96% спирт), с температурой (от -20 до -25 °С), где выдерживали в течение 20-24 часов в строго вертикальном положении. Этиловый спирт 96% был взят в качестве теплоемкой жидкости, незамерзающей до низкой температуры в несколько десятков градусов. После этого шприцы оттаивали при комнатной температуре, разбирали, а затем извлекали из шприца [3]. Полученный образец представлял собой вязкопластическую массу, устойчивую во внешних условиях, как показано на рис. 2.

Рисунок 2. Разбор шприцов с полученным криогелем

Результаты и их обсуждение

В процессе проведенных исследований было сделано предположение, что можно создать нетоксичный белковый полимер, если сначала развернуть все глобулы исходного белка (БСА), используя такие известные, безопасные и доступные вещества, как ацетил-цистеин (АЦЦ) и мочевину (карбамид); кроме того, прогреть полученную реакционную смесь на водяной бане. Это еще больше «развернет» глобулы БСА, и сделает реакционную смесь более концентрированной вследствие выпаривания воды, и увеличит вязкость раствора. По мере продолжения нагревания денатурация БСА вызовет экспонирование слишком большого количества гидрофобных участков белка, а взаимодействия открытых гидрофобных участков, которые нестабильны в водной среде, приведет к агрегации белковых молекул с образованием геля.

Полученный образец криогеля БСА устойчив во внешних условиях: сохраняет форму, эластичный и липкий на ощупь (обладает прекрасной адгезией).

При изучении под световым микроскопом полученного образца было видно, что микроструктура полученного альбуминового геля (ув. 16х100), – состоит из массы мелких шариков, между которыми имеется свободное пространство, то есть полученный гель имеет глобулярную пористую структуру.

Согласно глобулярной модели структур аморфных полимеров структура таких полимеров состоит из большого числа различных по размерам частиц сферической формы (клубков), называемых глобулами, которые связаны проходными цепями. Глобулярная структура формируется при условии достаточной гибкости макромолекул полимера, причем взаимное расположение отдельных участков макромолекулярной цепи внутри глобулы обычно беспорядочное.

Межмолекулярная сшивка в криогеле БСА произошла в результате комбинированного воздействия: химические реагенты «развернули» глобулы молекул альбумина, а затем, в результате воздействия температуры в интервале от +65 до +90 °С из цепей отдельных мономеров начали формироваться агрегаты. Также, нагревание способствовало повышению концентрации реакционной смеси вследствие выпаривания воды, в результате раствор стал более вязким, что также способствовало началу агрегации белковых молекул необходимого в дальнейшем для образования геля. Дальнейшая обработка реакционной смеси в криостате, – ее замораживание, – за счет сил когезии усилила взаимодействие между образовавшимися агрегатами, а действие восстановителя, – ацетилцистеина, – инициировало образование между молекулами БСА дисульфидных химических связей (-S-S-), которые встраивались в участки микросреды, более гидрофобной относительно других сегментов сольватированных в водной среде. Таким образом, нативная структура молекул БСА подвергается денатурации под действием химических веществ, а затем, молекулы белка заново «сворачиваются» под действием температурного фактора и прочно фиксируются между собой с помощью межмолекулярных ковалентных сшивок, под действием сильного восстановителя, – ацетилцистеина. В результате образуется белковый гель, состоящий только из молекул бычьего сывороточного альбумина. Так как ни мочевина, ни ацетилцистеин не включаются в состав белковых молекул, а лишь присутствуют в водной среде между глобулами, и, в случае необходимости, могут быть удалены.

Таким образом, специфика механизма образования матрицы белково-пористой системы на основе БСА заключается в последовательном комбинированном воздействии на молекулы белка всех факторов, – химических реагентов, обработкой при повышенной и пониженной температуре, а также необходимой экспозицией (24 часа) в камере криостата при определенной температуре. Несоблюдение хотя бы одного из условий не приводит к образованию геля, устойчивого при нормальных условиях.

Заключение

В результате проведенных исследований было установлено:

1. Разработана технология получения нового криогеля на основе бычьего сывороточного альбумина.

2. Определено, что для синтеза белково-пористого геля необходимо, оптимальное соотношение реагентов: количество молей ацетилцистеина не должно превышать количество молей бычьего сывороточного альбумина.

3. Установлено, что только используя специфичный метод (метод криотропного гелеобразования) – зная состав, строение и свойства исходного белка (бычьего сывороточного альбумина (БСА)) – можно получить криогель на основе БСА, при температуре хладагента от -20 до -25 °С, в течение 20-24 часов. Установлено, что полученный образец криогеля

состоит из массы мелких шариков-глобул, связанных между собой, между которыми есть свободное пространство, – имеет глобулярную широкопористую структуру (диаметр макропор от 50 до 200 мкм). Прогревание реакционной смеси на водяной бане с упариванием раствора способствует не только его концентрированию, но и дает начало процессу агрегации молекул белка.

4. Выявлено, что устойчивость белково-пористой матрицы на основе бычьего сывороточного альбумина (БСА) достигается при pH = 5.5 – слабокислом значении, близком к показателю изоэлектрической точки БСА, которое, в свою очередь, достигается в результате гидролиза мочевины, входящей в состав реакционной смеси.

5. Для формирования устойчивого геля бычьего сывороточного альбумина необходимо совместное действие денатурирующего агента (мочевины), восстановителя (ацетилцистеина), концентрирование раствора во время прогрева, и, сам прогрев реакционной смеси на водяной бане, а также последующая обработка полученной смеси в криокамере криостата.

6. Пористое строение полимерных гелей бычьего сывороточного альбумина, полученных с использованием метода криотропного гелеобразования, а также отсутствие в их составе токсичных веществ (ранее применялись токсичные альдегиды) открывает возможность их использования в качестве носителя различных биологически активных веществ, в качестве мазевой основы биодеградируемых депо-форм для различных антибактериальных препаратов (антибиотиков), для химиотерапии инфицированных ран и язв, или в качестве матрицы для выращивания культур клеток, с возможностью дальнейшей трансплантации в живой организм. Создание таких материалов является актуальной и перспективной задачей на сегодняшний день.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Романенко М.С., Шерстнев В.В. Кинетика гелеобразования белков (на модельной системе – бычий сывороточный альбумин) // Мечниковские чтения-2020. Материалы 93-й Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием. Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова. 2020. С. 81.

2. Лозинский В.И. Новое семейство макропористых и сверхмакропористых материалов биотехнологического назначения – полимерные криогели // Известия Академии Наук. Серия: химическая. 2008. Т.5. С.996-1014.

3. Родионов И.А. Криогели на основе сывороточного альбумина: синтез, свойства, структура и возможности биомедицинского применения: Дис. на соиск. уч. степени кандидата химических наук. Москва. 2017. 156с.

4. Композиция для формирования макропористого носителя, используемого при трехмерном культивировании клеток животных или человека, и способ получения указанного носителя / Лозинский В.И. [и др.]: Пат. РФ № 2594427 C1, 2015. 28 С. Бюл. № 23 от 20.08.2016 г.

5. Изучение взаимодействия белков с биологически активными азотсодержащими гетероциклическими соединениями при различных значениях pH / А.С. Чухно [и др.] // Бутлеровские сообщения. 2013. Т. 34. N 5. С. 91-99. ROI: jbc-01/13-34-5-91

6. Чухно А.С., Дмитриева И.Б., Мартынов Д.В. Изоэлектрическая точка белков в водных растворах азолов // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 4: Физика. химия. 2011. N 2. С.124-133.

SUMMARY

CRYOGELS BASED ON BOVINE SERUM ALBUMIN (BSA): SYNTHESIS, PROPERTIES, APPLICATION

Romanenko M.S.[1], student. 3 courses, **Rudometova M.O.**[2], **Suchkova K.M.**[2],
Kapranova E.D.[2], student. 2nd year, **Sherstnev V.V.** [3], Master of 1 year of study
Scientific supervisor: **Chukhno A.S.**[2], PhD, Associate Professor, Associate Professor
[1]The I.I. Mechnikov Northwestern State Medical University of the Ministry of Health of Russia
Piskarevsky Ave., 47, pav.26. St. Petersburg, 195067 Russia
[2]St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
Professor Popov str., 14, St. Petersburg, 197376, Russia
[3]ITMO University. Institute of Refrigeration and Biotechnology
Lomonosov str., 9 St. Petersburg, 921002 Russia
E-mail: friend-rus77@yandex.ru

The article considers how, on the basis of thermal and induced aggregation of a model protein (bovine serum albumin), a protein porous material can be obtained by cryotropic gelation by freezing. Acetylcysteine was used in the experiment in order to break disulfide bonds in the macromolecules of the original bovine serum albumin and cause its depolymerization. Carbamide (urea), in the synthesis, was taken as a denaturing agent in order to unfold protein structures by breaking chemical bonds within the molecule. The wide availability of serum albumin, makes this protein a convenient object for the synthesis of biological carriers based on it for various drugs, proteins, etc., as well as its use as a biosorbent.

Keywords: *gelation of proteins, biodegradable matrix, substrate for cytological cultures.*

REFERENCES

1. Romanenko M.S., Sherstnev V.V. Kinetics of protein gelation (on the model system – bovine serum albumin) // Mechnikov readings-2020. Materials of the 93rd All-Russian Scientific and Practical Student Conference with international participation. Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education, I.I. Mechnikov Northwestern State Medical University. 2020. 81 p. (in Russian)

2. Lozinsky V.I. A new family of macroporous and supermacroporous materials for biotechnological purposes - polymer cryogels // Proceedings of the Academy of Sciences. Chemical series. 2008. Vol. 5. P. 996-1014. (in Russian)

3. Rodionov I.A. Cryogels based on serum albumin: synthesis, properties, structure and possibilities of biomedical application: Dis. for the degree of Candidate of Chemical Sciences. Moscow. 2017. 156 p. (in Russian)

4. Composition for the formation of a macroporous carrier used in three-dimensional cultivation of animal or human cells, and a method for obtaining this carrier / V.I. Lozinsky [et al.]: Pat. RF No. 2594427 C1, 2015. 28 P. Byul. N. 23 dated 20.08.2016. (in Russian)

5. Studying the interaction of proteins with biologically active nitrogen-containing heterocyclic compounds at different pH values / A.S. Chukhno [et al.] // Butler's messages. 2013. Vol. 34(5). P. 91-99. ROI: jbc-01/13-34-5-91. (in Russian)

6. Chukhno A.S., Dmitrieva I.B., Martynov D.V. Isoelectric point of proteins in aqueous solutions of azoles // Bulletin of St. Petersburg University. Physics and chemistry. 2011. N 2. P. 124-133. (in Russian)

УДК 615.262.1

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОТИВООЖОГОВЫХ ФИТОПЛЕНОК

Салаева М.Х., студ. 4 курса
Руководитель: **Кизатова М.Ж.**, профессор кафедры фармацевтической технологии (ORCID: 0000-0002-6481-7410)
Казахский Национальный Медицинский Университет им. С.Д. Асфендиярова
050012, Алматы, Толе би 94, Казахстан
E-mail: salaeva.minara60@mail.ru

Термические ожоги занимают третье место в мире среди прочих травм. Актуальность проблемы термических ожогов обусловлена частотой встречаемости данной травмы у людей всех возрастных групп и тяжестью лечения поражений и их последствий.

Доступен широкий ассортимент высокоэффективных лекарственных средств, однако до конца не решена проблема целенаправленности их доставки в заданный орган. В этом плане трансдермальные системы представляют наибольший интерес, вследствие их прямой доставки веществ в орган-мишень. Среди активных противоожоговых веществ особо популярно масло льняное, однако среди трансдермальных систем его использование не распространено.

В работе были рассмотрены основные свойства представленных ингредиентов для лечения ожогов и перспективы создания противоожоговых фитопленок с использованием растительных масел. Разработан и представлен состав и технология получения фитопленок.

Ключевые слова: *трансдермальные системы, фитопленки, термический ожог, льняное масло, сок подорожника, облепиховое масло.*

У людей ожоги являются одними из самых распространенных травм, которые возникают в результате воздействия тепла, электричества, молнии, едких химических соединений, радиации, трения или чрезмерного холода. Зачастую они часто затрагивают кожу и классифицируются в зависимости от степени и глубины повреждения тканей. Глубокие или распространенные ожоговые травмы приводят к многочисленным физическим нарушениям и последующим психологическим и психосоциальным проблемы. Инфекции также являются очень распространенными осложнениями, которые могут поразить любую ожоговую травму, независимо от ее глубины.

Заживление ожогов - очень сложный процесс. Антимикробные кремы и другие перевязочные средства, используемые при травматических ранах, не приносят успеха при глубоких ожогах. Растет интерес к потенциальному влиянию растений и/или их экстрактов на восстановление ожоговых ран путем усиления/модуляции медиаторов воспаления [1].

В научной литературе описан ряд терапевтических эффектов масла семян льна *(oleum Linum usitatissimum)*. Его компоненты продемонстрировали антиоксидантные, противовирусные, антибактериальные, противогрибковые, противовоспалительные и противоатеросклерозные свойства. Наряду с такими характеристиками ранее были изучены противоожоговые и регенеративные свойства льняного масла на кроликах и доказана высокая эффективность.

Цель работы заключается в разработке технологии дермальных пленок с использованием льняного масла и фитокомплекса против ожогов.

Задачи исследования включают:

Разработать оптимальный состав и технологию фитопленок для лечения термических ожогов с использованием натуральных масел.

Заживление ран – это идеально организованный и сложный биологический процесс на клеточном и молекулярном уровнях, который происходит сразу после нарушения целостности кожи. Его основная цель – восстановить кожу как можно ближе к ее нормальному анатомическому и физиологическому состоянию.

Он зависит от репаративных возможностей тканей, типа и степени повреждения, а также от общего состояния здоровья. Этот процесс состоит из гемостаза и воспаления, неоваскуляризации, грануляции, фиброгенеза, сокращения раны, реэпителизации и ремоделирования ткани. Воспаление, макрофагия, фиброплазия и коллагенообразование являются тесно взаимосвязанными фазами; следовательно, вмешательство в любую из них с помощью лекарств может глубоко улучшить или ухудшить один, или все этапы процесса заживления. Фактически, противовоспалительные, антиоксидантные и противомикробные свойства являются основными необходимыми свойствами средств, ускоряющих заживление ран.

Linum usitatissimum (лен) - это однолетнее растение. Растение льна в основном произрастает в районах Средиземноморья. Традиционно льняное семя выращивают для получения масла. Льняное семя и его производные являются богатыми источниками незаменимой α-линоленовой жирной кислоты (57%).

Льняное масло является источником разнообразных биологически активных соединений, которые действуют на одной или нескольких фазах восстановления ран. Богатое содержание флавоноидов может способствовать жизнеспособности коллагеновых фибрилл, что приводит к увеличению прочности коллагеновых волокон и уменьшению повреждения клеток за счет улучшения синтеза ДНК. В сочетании с некоторыми полисахаридами, содержащимися в семенах льна, флавоноиды также стимулируют пролиферацию клеток фибробластов, а также их дифференциацию в специализированные миофибробласты в грануляционной ткани, что приводит к сокращению и закрытию раны [2]. Фибробласты вырабатывают коллаген и фибронектин для формирования нового внеклеточного матрикса, необходимого для адгезии и миграции эндотелиальных и эпителиальных клеток к раневому ложу (неоваскуляризация и эпителизация). Флавоноиды снижают перекисное окисление липидов, предотвращая или замедляя наступление некроза клеток и улучшая ангиогенез, что способствует доставке жизненно важных питательных веществ для регенерации тканей за счет улучшения кровотока в процессе заживления ран. Ряд биологически активных терпеноидов также в изобилии содержится в семенах льна, и так же, как флавоноиды и танины, они способствуют процессу заживления ран, главным образом, за счет своей вяжущей активности, ответственной за сокращение ран и увеличение скорости эпителизации. Жирные кислоты и триглицериды в льне способны повышать гидратацию кожи за счет снижения трансэпидермальной потери влаги. Льняное масло содержит около 73% полиненасыщенных жирных кислот, среди которых Ω-3 полиненасыщенные жирные кислоты увеличивают выработку провоспалительных цитокинов в местах ранения и, соответственно, способствуют заживлению кожных ран [3].

Кроме того, семена льна богаты такими жирными кислотами, как α-линоленовая кислота (основная 39-60%), олеиновая, линолевая, пальмитиновая и стеариновая кислоты. Олеиновая, линолевая и α-линоленовая кислоты снабжают клетки липидами, необходимыми для восстановления их мембран и дыхания. β-Ситостерол составляет более 50% от общего количества стеринов льна. Белки льна являются богатыми источниками глутаминовой кислоты, глутамина, аргинина, аминокислот с разветвленной цепью (валин и лейцин) и ароматических аминокислот (тирозин и фенилаланин). Аргинин и комбинации разветвленных аминокислот и глютамина важны для восстановления синтеза белка коллагена дермы и улучшения заживления ран. Кроме того, смеси биоактивных пептидов из семян льна с высоким содержанием аминокислот с разветвленной цепью и низким содержанием ароматических аминокислот показали антиоксидантную активность, необходимую для сохранения и восстановления мембран клеток [4]. Наличие в семенах льна токоферолов (витамин Е), β-каротина, фенольных соединений (таких как лигнаны, флавоноиды, фенольные кислоты, танины и фенилпропаноиды) ответственно за его высокую антиоксидантную активность.

Эти компоненты предотвращают и защищают клетки от окислительного повреждения свободными радикалами и стимулируют естественный процесс очищения ран макрофагами. Кроме того, токоферол усиливает синтез белка, пролиферацию и миграцию клеток в раневой ткани. Он также обладает противовоспалительным действием, снижая выработку провоспалительных цитокинов и хемокинов [5]. Кроме того, льняное семя содержит большое количество магния (Mg) и кальция (Ca), а также марганец (Mn) и медь (Cu), но в меньших количествах. Известно, что Ca регулирует инфильтрацию воспалительных клеток, размножение фибробластов и пролиферацию, дифференциацию и миграцию кератиноцитов. Повышенный уровень кальция также улучшает заживление благодаря повышению свертываемости крови и агрегации тромбоцитов на месте раны во время гемостатической фазы заживления раны.

Наконец, противомикробные и противогрибковые свойства многих компонентов льняного семени делают его эффективным против многих бактерий, грибков и дрожжей, таких как Escherichia coli, Salmonella paratyphii, Lactobacillus spp, Staphylococcus aureus, Proteus vulgaris, Klebsiella pneumoniae и Saccharomyces cerevisiae [6], которые могут инфицировать рану и замедлить ее восстановление. Это дополнительные свойства, которые могут объяснить ускоренное восстановление и регенерацию ожоговых ран, обработанных льняным маслом.

Материалы исследований

Материалами исследований в качестве основных веществ явились: масло льняное (*oleum Linum usitatissimum*), сок подорожника (*succus Plantaginis*), облепиховое масло (oleum Hippophaes). Цвет льняного масла светло-желтый с буроватым оттенком, запах характерный, вкус приятный. Кислотное число составило 5. Сок подорожника представляет собой прозрачный раствор 1:5 на 40% этиловом спирте темно-бурого цвета, со специфическим запахом, кисловатого вкуса. Обладает противовоспалительным, антисептическим, обезболивающим, ранозаживляющим свойствами. Облепиховое масло – маслянистая жидкость красновато-оранжевого цвета со специфическим запахом и вкусом. Применение: ранозаживляющее, цитопротекторное средство. Обладает бактерицидным действием, способствует восстановлению и нормализует защитные возможности эпидермиса.

В качестве пленкообразователей использовали натрий – карбоксиметилцеллулоза (Na-КМЦ), который представляет собой белый или слегка желтоватый порошкообразный или волокнистый продукт без запаха с насыпной массой

100-800 кг/м^3, плотностью 1,59 г/см^3, степень полимеризации 200-500, водопоглащение при 25 ^{0}С и 50% относительной влажности -38%.

Глицерин (Glycerinum**)** – густая, прозрачная бесцветная жидкость, без запаха или лишь слегка своеобразным запахом, сладковатого вкуса, нейтральной реакции. Глицерин гигроскопичен, смешивается во всех соотношениях с водой и этанолом, почти не растворим в эфире, не растворим в жирных маслах.

Желатин (Gelatina medicinalis) – это продукт частичного гидролиза коллагена. Представляет собой бесцветные или слегка желтоватые просвечивающие или гибкие листочки, или мелкие пластинки без запаха. Практически не растворим в холодной воде, но набухает и размягчается, постепенно поглощая воду от 6 до 10 частей от собственного веса, растворим после набухания в горячей воде, уксусной кислоте и горячей смеси глицерина, и воды. Применение: как пластификатор и эмульгатор, а также используют для изготовления мазей, суппозиториев, желатиновых капсул.

Результаты и обсуждение

Получение пленок вначале проводилось с образованием пленочного раствора из пленкообразователя с последующим добавлением смеси активных веществ. Были проведены девять моделей с различным содержанием пленкообразователя и активных ингредиентов, самым оптимальным явился образец со следующим составом:

Пленкообразователь – 7%

Пластификатор – 3%

Масло льняное – 6%

Масло облепиховое – 5%

Сок подорожника – 5%

Вода очищенная – довести до 100%

Приготовление раствора полимера**:** исходные компоненты (пленкообразователь, вода очищенная) отвешивалась на весах, полимер обрабатывали очищенной водой, нагретой до 50-60°С, и раствор оставляли набухать в течение 40 минут. После чего в полученный раствор были добавлены в раствор полимера пластификатор (глицерин), масло льняное 6%, облепиховое масло 5% и сок подорожника в количестве 5%.

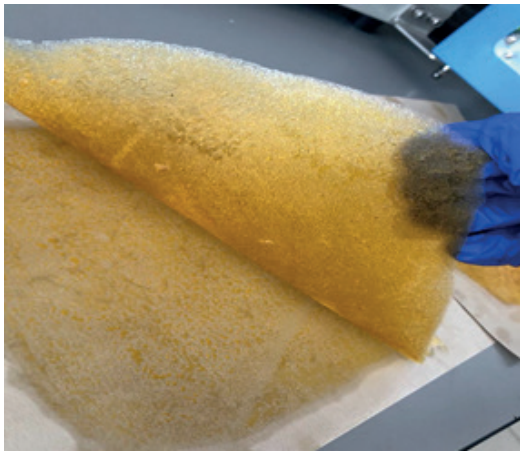


Рисунок 1. Фото фитопленки

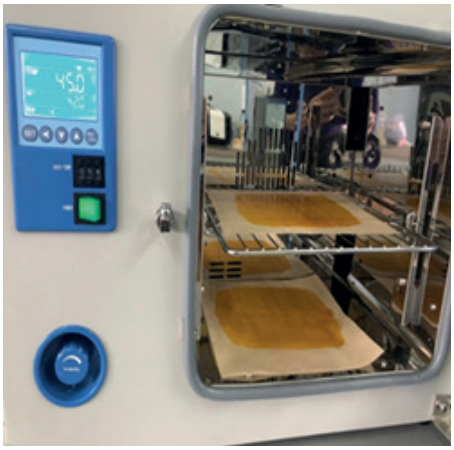


Рисунок 2. Сушка в термошкафу

Смесь перемешивается до полной гомогенизации на гомогенизаторе и фильтруется. Далее поливочный раствор выливается на ровную поверхность тонким слоем 0.2 мм и высушивается. Сушка продукта проводилась в термошкафу при температуре 40-50°С в течение 2-3 часов. Полученные пленки разрезали на ровные пластины. В последующем будет проверяться стабильноть разработанных фитопленок.

Заключение

Новым этапом в лечении термических ожогов является использование лекарственных фитопленок на основе биорастворимых полимеров медицинского назначения с включенными в них субстанциями природного происхождения, которые позволяют ускорить процесс заживления и препятствовать воспалительным процессам в местах ожога.

Для лечения термических ожогов наибольший терапевтический эффект наблюдается при местном применении лекарственного препарата, но применяемые в настоящее время различные растворы, мази, пасты, гели и т.д., недостаточно эффективны, поэтому разработка состава и технологии фитопленок для лечения термических ожогов является актуальной проблемой.

Разработан состав фитопленки на основе натуральных масел, сока подорожника и натрий-карбоксиметилцеллюлозы, которая представляет собой прочную, эластичную, однородную, без разрывов пленку светло-желтого цвета, со специфическим запахом, кислую на вкус, площадью 49 см^2 и толщиной 0,2 мм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Murphy P.S., Evans G.R.D. Advances in Wound Healing: A Review of Current Wound Healing Products // Plastic Surgery International. 2012. Vol. 2012. P. 1–8. doi: 10.1155/2012/190436

2..Hinz B. The myofibroblast: Paradigm for a mechanically active cell // Journal of Biomechanics. 2010. Vol. 43(1). P. 146–155. doi: 10.1016/j.jbiomech.2009.09.020.

3. Omega-3 fatty acids effect on wound healing / J.C.McDaniel [et al.] // Wound Repair Regen. 2008. Vol. 16(3). P. 337–345. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00388.x.

4. Importance of amino acid composition to improve skin collagen protein synthesis rates in UV-irradiated mice / H. Murakami [et al.] // Amino Acids. 2012. Vol. 42(6). P. 2481–2489. doi: 10.1007/s00726-011-1059-z.

5. α-Tocopherol (vitamin E) stimulates cyclic AMP production in human peripheral mononuclear cells and alters immune function / S. Salinthone [et al.] // Molecular Immunology. 2013. Vol. 53(3). P. 173–178. doi: 10.1016/j.molimm.2012.08.005.

6. Evaluation of crude flaxseed (Linum usitatissimum L.) oil in burn wound healing in new zealand rabbits / K. Beroual [et al.] // Ajtcam. 2017. Vol. 14(3). P. 280–286. doi: 10.21010/ajtcam.v14i3.29.

SUMMARY
DEVELOPMENT OF THE TECHNOLOGY OF ANTI-BURN PHYTOFILMS

Salaeva M.H., 4 year student
Supervisor: **Kizatova M.Zh**., professor (ORCID: 0000-0002-6481-7410)
Asfendiyarov Kazakh National Medical University
050012, Almati, Tole bi 94, Kazakhstan
E-mail: salaeva.minara60@mail.ru

Thermal burns rank third in the world among other injuries. The urgency of the problem of thermal burns is due to the frequency of occurrence of this injury in people of all age groups and the severity of the treatment of lesions and their consequences.

A wide range of highly effective drugs is available, but the problem of targeting their delivery to a given organ has not been fully resolved. In this regard, transdermal systems are of the greatest interest due to their direct delivery of substances to the target organ. Linseed oil is especially popular among active anti-burn agents, but its use is not common among transdermal systems.

The paper examined the main properties of the presented ingredients for the treatment of burns and the prospects for creating anti-burn phytofilms using linseed oil. The composition and technology of obtaining phytofilms has been developed and presented.

Keywords: *transdermal systems, phytofilms, thermal burn, linseed oil, plantain juice, sea buckthorn oil.*

REFERENCES

1. Murphy P.S., Evans G.R.D. Advances in Wound Healing: A Review of Current Wound Healing Products // Plastic Surgery International. 2012. Vol. 2012. P. 1–8. doi: 10.1155/2012/190436

2..Hinz B. The myofibroblast: Paradigm for a mechanically active cell // Journal of Biomechanics. 2010. Vol. 43(1). P. 146–155. doi: 10.1016/j.jbiomech.2009.09.020.

3. Omega-3 fatty acids effect on wound healing / J.C.McDaniel [et al.] // Wound Repair Regen. 2008. Vol. 16(3). P. 337–345. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00388.x.

4. Importance of amino acid composition to improve skin collagen protein synthesis rates in UV-irradiated mice / H. Murakami [et al.] // Amino Acids. 2012. Vol. 42(6). P. 2481–2489. doi: 10.1007/s00726-011-1059-z.

5. α-Tocopherol (vitamin E) stimulates cyclic AMP production in human peripheral mononuclear cells and alters immune function / S. Salinthone [et al.] // Molecular Immunology. 2013. Vol. 53(3). P. 173–178. doi: 10.1016/j.molimm.2012.08.005.

6. Evaluation of crude flaxseed (Linum usitatissimum L.) oil in burn wound healing in new zealand rabbits / K. Beroual [et al.] // Ajtcam. 2017. Vol. 14(3). P. 280–286. doi: 10.21010/ajtcam.v14i3.29.

УДК 615.014.581.2

К ВОПРОСУ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ АНТИЭМЕТИЧЕСКИХ ТАБЛЕТОК

Самединова Д.Н., базовый докторант (PhD) 2 года обучения (ORCID: 0000-0002-1706-7055)
Руководитель: **Юнусова Х.М.**, докт. фарм. наук, проф.
Ташкентский фармацевтический институт
100015, Ташкент, ул. Айбека, д.45, Республика Узбекистан
E-mail: lady_d_1206@mail.ru

Ниже приведены результаты исследований по разработке таблеток на основе метоклопрамида, первого сырья, обладающего противорвотным действием. В ходе исследования выявлены технологические свойства сырья и вспомогательных веществ, а также важные факторы при выборе вспомогательных веществ. В результате исследования были выбраны конкретное содержание и оптимальная технология.

Ключевые слова: *таблетки, вспомогательные вещества, фракционный состав, технологические параметры, влажное гранулирование.*

Противорвотные средства – это терапевтические средства, которые эффективны против тошноты и рвоты. Тошнота и рвота – это симптомы нескольких заболеваний, таких как укачивание, головокружение, беременность, эмоциональный стресс и пищевое отравление. Эти препараты часто используются для лечения побочных эффектов других лекарств, включая опиоидные анальгетики, химиотерапию и общие анестетики. Ожидается, что глобальный рынок противорвотных средств будет расти со здоровыми среднегодовыми темпами роста в течение прогнозируемого периода из-за увеличения числа пациентов, страдающих онкологическими заболеваниями, и увеличения количества операций [1].

Противорвотные средства используются для лечения рвоты, вызванной несколькими заболеваниями, включая химиотерапию, укачивание, гастроэнтерит, общие анестетики, опиоидные анальгетики, головокружение, беременность, пищевое отравление, эмоциональный стресс и другие. Химиотерапия лидирует в сегменте применения, поскольку число больных раком увеличивается день ото дня [2].

В связи с вышесказанным разработка и изучение эффективности различных фармакологических препаратов, оказывающих влияние на моторную функцию желудочно-кишечного тракта, являются актуальным [3].

Метоклопрамид используется для лечения симптомов медленного опорожнения желудка (гастропареза) у пациентов с диабетом. Он работает за счет увеличения движений или сокращений желудка и кишечника. Он снимает такие симптомы, как тошнота, рвота, изжога, чувство сытости после еды и потеря аппетита. Метоклопрамид также используется для лечения изжоги у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ). ГЭРБ – это раздражение пищевода из-за обратного потока желудочной кислоты в пищевод [4].

В настоящем исследовании приводим результаты исследований по разработке состава и способа получения таблеток на основе субстанции метоклопрамида.

Целью настоящих исследований посвящались изучением физико-химических и технологических характеристик активных субстанций и вспомогательных веществ с целью усовершенствование состава и разработки технологии противорвотного препарата в форме таблеток на основе метоклопрамида.

Метоклопрамид – белый, кристаллический порошок. Метоклопрамид по своей химической структуре относится к подтипу бензамидов с несколькими прокинетическими механизмами: агонизм 5-гидрокситриптамин (HT) 4-рецепторам, антагонизм по отношению к центральным и периферическим допамин (D) рецепторам 2-го типа, а также прямая стимуляция сокращений гладкой мускулатуры пищеварительной трубки [5].

На первом этапе эксперимета, для определения фракционного состава использовали специальный комплект из 5 сит, расположенных одно над другим, с диаметром отверстий 2, 1, 0,5, 0,25, мм. Точную навеску 100 г субстанции помещали на верхнее сито с диметром отверстий 2 мм. Встряхивали на вибраторе в течение 5 мин. После этого снимали ситу поочередно и взвешивали их содержимое, находя процентное содержание каждой фракции. Данные фракционного и микроскопического анализа исследуемых субстанций приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты определения фракционного состава и среднемассовых размеров частиц субстанции метоклопрамида

Фракционный состав, мкм	Средние размеры частиц фракции, мкм	Содержание частиц данной фракции, %
+2000	3000	10,88
-2000 +1000	1500	21,10
-1000 +500	750	27,09
-500 +250	375	26,94
-250	125	22,99
Среднемассовый размер частиц субстанции, мкм	657,81	

Изучение формы и размера частиц действующих и вспомогательных веществ проводили с помощью микроскопа МБИ-15 при увеличении в 400 раз, что дает возможность охарактеризовать форму и поверхность частиц, а также средний линейный размер доминирующих фракций.

Результаты исследования фракционного состава субстанций совпадают с данными микроскопического исследования. Так, большая часть субстанции метоклопрамида распределена во фракциях: -1000+500 мкм – 27,09%, 500+250 мкм – 26,94% и –250 мкм – 22,99%.

Таблица 2 – Результаты изучения технологических свойств субстанции метоклопрамида

Показатель	Единица измерения	Значения показателя
Внешний вид		белый кристаллический порошок, без запаха
Форма частиц		полидисперсный кристаллический порошок с частицами анизодиаметрической формы.
Сыпучесть	10^{-3} кг/с	2,00
Угол естественного откоса	градус	55,7
Насыпная плотность	кг/м^3	221,44
Прессуемость	Н	22,7

Показатель	Единица измерения	Значения показателя
Коэффициент прессуемости		1,09
Коэффициент уплотняемости		7,2
Остаточная влажность	%	5,14
Пористость	%	65,67

Для определения прессуемости, навеску массой 0,3 г прессовали в таблетку диаметром 9 мм на гидравлическом прессе при давлении 120 МПа и затем определяли прочность полученной таблетки на приборе типа «Эрвека» (Германия).

С целью выбора оптимального метода получения таблеток нами изучены физико-химические и технологические свойства субстанций и вспомогательных веществ.

Было установлено, что изученные субстанции являются слаботекучими материалами и обладают различной прессуемостью, т.е. практически не могут быть использованы в технологии прямого прессования. Полученные данные приведены в таблицах 2.

Результаты проведенных исследований показывают, что форма и размер частиц определяют их технологические характеристики, каждую из которых необходимо учитывать при разработке состава и технологии лекарственного препарата.

Определение пористости проводили по рекомендованному методу С.М.Махкамова. Для этого навеску прессуемого материала в количестве 0,3 г прессовали в матрице диаметром отверстий 9 мм при давлении прессования 680 МПа. По разнице объема порошка до прессования, который вычисляли исходя из показателей насыпной плотности, и объема таблеток после прессования вычисляли процентное содержание пористости материала. Пористость субстанции составила 65,67 %.

Влажность как субстанции, так и прессуемых масс имеет большое значение в изготовления таблеток. Для определения остаточной влажности в порошке и грануляте использовали влагомер фирмы «Кетт», а также определяли по методу высушивания до постоянной массы по ГФ XI.

Результаты проведенных исследований имеют прогнозирующее значение для сушки таблеточных масс при их приготовлении методом влажного гранулирования.

В результате проведенных исследований установлено, что субстанция метоклопрамида представляет собой белый полидисперсными кристаллическими порошками с частицами анизодиаметрической формы, без запаха. В исследованиях определено, что форма порошков метоклопрамида мелкие прямоугольники, размером частиц до 17 мкм, сыпучесть 2,0±0,01г/с и прессуемостью 22,7±0,2Н.

Результаты изучения фракционного состава свидетельствуют о том, что основная масса частиц имеет размер -1000+500 мкм (27,09%), характеризуется неудовлетворительными значениями сыпучести ($2,00*10^{-3}$ кг/с), небольшой насыпной плотностью (221,44 кг/м^3), высоким коэффициентом уплотнения, углом естественного откоса (55,7 градус), повышенными значениями пористости (81,74%).

Из полученных результатов можно заключить, по неудовлетворительным результатам исследованных технологических параметров субстанция метоклопрамида необходимость использования вспомогательных веществ. Поэтому, в исследованиях в качестве вспомогательных веществ использовали лактозу М-80, лактозу М-200, микрокристаллическую целлюлозу (МКЦ), крахмал картофельный и кальция стеарат.

МКЦ имеет удлиненную форму частиц (волокна) с размером основной фракции 100-250 мкм, обладает средней сыпучестью и хорошей прессуемостью (181 Н). Поэтому МКЦ была выбрана нами в качестве вспомогательного вещества, которое значительно улучшает физико-химические и технологические свойства действующих субстанций, а именно – стойкость к раздавливанию и истираемость таблеток [6]. Технологические характеристики лактозы М-80 и лактозы М-200 позволили включить их в состав разрабатываемой формы как дополнение к МКЦ. Также в качестве наполнителя был рассмотрен крахмал картофельный как вспомогательное вещество, улучшающее смачиваемость и водопроницаемость лекарственной формы. Кроме этого, в качестве вспомогательных антифрикционных веществ использовали кислоту стеариновую и кальция стеарат. В результате проведенных исследований был выбран кальция стеарат (в количестве 1 %). Следует отметить, что кальция стеарат способствует снятию электрического заряда с частиц порошка, что также улучшает их сыпучесть.

Проведенные исследования по изучению физико-химических и технологических свойств субстанций метоклопрамида и вспомогательных веществ дают возможность дальнейшей работы по разработке таблетированной формы противорвотного действия.

Таким образом, изучены формы и размеры частиц действующих и вспомогательных веществ, которые будут использованы для усовершенствования таблетированной формы метоклопрамида, экспериментально определены технологические характеристики порошкообразной системы, такие как сыпучесть и прессуемость, с целью дальнейшей разработки технологии таблетирования, рассмотрены и коротко сформулированы основные критерии подхода к разработке состава и технологии таблеток, выбор которых обусловлен характеристиками действующего вещества и вспомогательных веществ.

В технологии существует несколько приемов расширения возможностей использования прямого прессования. Одним из них, наиболее широко распространенным, является способ, который заключается в улучшении технологических свойств таблетируемой порошкообразной субстанции или смеси субстанций путем подбора и добавления вспомогательных веществ. Первоначально мы изучали возможность получения таблеток метоклопрамида методом прямого прессования, который, как известно, имеет ряд преимуществ. Но из-за несоответствующих технологических свойств таблетки оказались плохого качества – таблеточная масса прилипала к прессинструменту, таблетки не соответствовали требованиям

по внешнему виду. Таблетки, полученные прямым прессованием, не соответствовали требованиям ГФ XIII. Поэтому для достижения цели использовали метод влажной грануляции. В таблице 3 приведены составы семи прописей таблеток на основе метоклопрамида, которые отличаются между собой как по виду, так и по количеству использованных вспомогательных веществ. Выбор этих количественных наполнителей проводился на основании предыдущих экспериментов.

Таблица 3 – Исследуемые составы для получения таблеток Метоклопрамид, приготовленных методом влажного гранулирования

Ингредиенты	Номер прописи и количество ингредиентов, г						
	1	2	3	4	5	6	7
Метоклопрамид	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Лактоза					0,020		
Сахароза	0,025			0,018		0,025	
Крахмал картофельный	0,012	0,0272	0,012	0,01	0,015	0,035	0,1088
МКЦ	0,0718			0,0808	0,0738	0,0488	
ГМПЦ							
Кальция карбонат		0,0816	0,0968				
Кальция стеарат	0,0012	0,0012	0,0012	0,0012	0,0012	0,0012	0,0012
Средняя масса	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12

Результаты полученных показателей технологических свойств прессуемой массы: прессуемая масса однородные гранулы белого цвета, своеобразного вкуса, без запаха, фракционный состав большая часть 36% распределена в диапазоне от -1000 до +500 мкм, в диапазоне -2000+1000 28%, в диапазоне -500 +250 20% субстанции остается. Примерно одинаковое количество порошка т.е. 9% и 7% остается на ситах с диаметром отверстий +2000 и -250 мкм. Насыпная плотность – 651 кг/м^3; сыпучесть – 6,8*10^{-3} кг/с; угол естественного откоса 35; прессуемость – 41 Н; коэффициент прессуемости – 1,25; коэффициент уплотняемости – 2,7; остаточная влажность – 3,3%; пористость – 49%. Определение вышеуказанных параметров проводили согласно методикам ГФ XIII и соответствующей НТД.

Для получения таблеток метоклопрамида по 0,01г использовали метод влажной грануляции. Измельченные и просеянные через сито (диаметр отверстий – 0,15 мм) и рассчитанное количество субстанции и крахмала смешивали затем увлажняли раствором связующего вещества 5% крахмального клейстера. Влажную массу сушили при температуре 30-40°С до остаточной влажности 3,2 %. Далее высушенную массу протирали через гранулятор с отверстиями 1 мм, опудривали смесью картофельного крахмала и стеарата кальция, массу таблетировали на таблеточной машине ударного типа по 0,12 г диаметром 6 мм[6].

Полученная масса прессовалась хорошо, без прилипания и легко выталкивалась из пресс-формы, а полученные таблетки отвечали требованиям ГФ XIII. Таблетки вышеуказанных составов были изготовлены на ручных гидропрессах. Удельное давление прессования составило 100-180 МПа.

По результатам, приведенным в таблице, таблетки состава № 7 удовлетворяли требованиям ГФ XIII. Исходя из вышеизложенных результатов, для дальнейших исследований был выбран 7 состав. По данным таблицы 4, полученные нами таблетки имели хороший внешний вид, показатели таблеток метоклопрамида по отклонению от средней массы, распадаемости и прочности отвечают требованиям ГФ XIII. Прочность таблеток колеблется от 50 до 68 Н. Таблетки распадаются менее чем за 15 минут.

По нашей исследовании получены следующие выводы: изучение формы и размера частиц действующих и вспомогательных веществ; изучены объемно-технологические свойства прессуемой массы; разработан состав и технология таблетированной формы на основе метоклопрамида с оптимальным выбором методом влажной гранилировании которые отвечали требованиям ГФ XIII.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.00 Технология химико-фармацевтических средств

61.55.09 Сырье и вспомогательные материалы

ЛИТЕРАТУРА

1. Hesketh P.J. Potential role of the NK1 receptor antagonists in chemotherapyinduced nausea and vomiting // Support Care Cancer. 2001. Vol. 9(5). P. 350–354. doi: 10.1007/s005200000199.

2. Yunusova Kh.M., Samedinova D.N. Analysis of the volume and cost of import of metoclopramide tablets in the republic of UZBEKISTAN // EPRA International Journal of Multidisciplinary Research 2021. Vol. 7(1). P. 97-102. https://doi.org/10.36713/epra6105

3. Самединова Д.Н., Х.М.Юнусова. Изучение физико-химических и технологических свойств субстанции метоклопрамида // Материалы международной научно-практической конференции «Современное состояние фармацевтической отрасли: Проблемы и перспективы». Ташкент. 2020. С. 82-84.

4. De Caestecker J. Prokinetics and reflux: a promise unfulfilled // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 2002. Vol. 14(1). P. 5-7. doi: 10.1097/00042737-200201000-00002.

5. Самединова Д.Н., Юнусова Х.М. Исследование в области подбора оптимального состава таблеток на основе метоклопрамида // Материалы международной научно-практической конференции «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы». Ташкент, 2020. С. 84-85.

6. Исследования различных образцов микрокристаллической целлюлозы при получении таблеток методом прямого прессования / Л.И. Кучеренко [и др.] // Научно-технический прогресс и оптимизация технологических процессов создания лекарственных препаратов: матер. 3-й научно-практической. конф., 1-2 октября 2009 г., г. Тернополь. М.: Укрмедкнига, 2009. С. 59.

SUMMARY

TO THE QUESTION OF IMPROVEMENT OF THE TECHNOLOGY OF ANTIEMETIC TABLETS

Samedinova D.N., 2nd year basic (PhD) student
Scientific supervisor: **Yunusova Kh.M.**, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor
Tashkent Pharmaceutical Institute
100015, Tashkent, st. Aibek, 45, Republic of Uzbekistan
E-mail: lady_d_1206@mail.ru

Below are the results of research on the development of tablets based on metoclopramide, the first raw material with antiemetic action. The study revealed the technological properties of raw materials and excipients, as well as important factors in the choice of excipients. As a result of the study, specific content and optimal technology were selected.

Keywords: *tablets, excipients, fractional content, technological parameters, wet granulation.*

REFERENCES

1. Hesketh P.J. Potential role of the NK1 receptor antagonists in chemotherapyinduced nausea and vomiting // Support Care Cancer. 2001. Vol. 9(5). P. 350–354. doi: 10.1007/s005200000199.

2. Yunusova Kh.M., Samedinova D.N. Analysis of the volume and cost of import of metoclopramide tablets in the republic of UZBEKISTAN // EPRA International Journal of Multidisciplinary Research 2021. Vol. 7(1). P. 97–102. https://doi.org/10.36713/epra6105

3. Samedinova D.N., Kh.M.Yunusova. Study of the physicochemical and technological properties of the substance metoclopramide // Materials of the international scientific-practical conference «The current state of the pharmaceutical industry: problems and prospects». Tashkent. 2020. P. 82-84. (in Russian)

4. De Caestecker J. Prokinetics and reflux: a promise unfulfilled // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 2002. Vol. 14(1). P. 5-7. doi: 10.1097/00042737-200201000-00002.

5. Samedinova D.N., Yunusova Kh.M. Research in the field of selection of the optimal composition of tablets based on metoclopramide // Materials of the international scientific-practical conference "The current state of the pharmaceutical industry: Problems and prospects". Tashkent, 2020. P. 84-85. (in Russian)

6. Studies of various samples of microcrystalline cellulose when obtaining tablets by direct pressing / L.I. Kucherenko [et al.]. // Scientific and technical progress and optimization of technological processes for the creation of drugs: mater. 3rd scientific and practical. conf., October 1-2, 2009, Ternopil. M.: Ukrmedkniga, 2009. P. 59. (in Russian)

УДК 66.021.3

КИНЕТИКА ПРОЦЕССА СУШКИ СЫПУЧЕГО МАТЕРИАЛА В СРАВНЕНИИ С КАПИЛЛЯРНО-ПОРИСТЫМИ ТЕЛАМИ

Сахаров А.Д., студ. 3 года обучения, **Тасфаева А.А.**, студ. 3 года обучения, **Наумова Ю.И.**, студ. 3 года обучения
Руководитель: **Сорокин В.В.** канд. фарм. наук, зав. кафедрой ПАХТ, **Ганин П.Г.** канд. тех. наук, доц. кафедры ПАХТ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
Email: artem.saharov@spcpu.ru

Темой исследования являлось экспериментальное изучение кинетики сушки в сушильном шкафу «Универсал-СД-2П». В ходе работы была исследована кинетика сушки образцов капиллярно-пористых и сыпучих материалов. Определены возможности лабораторной сушильной установки «Универсал-СД-2П» для сушки данных веществ.

Сушка является важнейшим, а часто, непременным этапом технологического процесса производства фармацевтических препаратов и средств медицинской диагностики. Методология настоящей работы состояла в экспериментальном исследовании кинетики сушки образцов испытуемых материалов в процессе контактно-конвективной сушки.

Ценность исследования состоит в практическом изучении возможностей сушильного шкафа «Универсал-СД-2П» для использования в фармацевтической технологии для сушки материалов, выработке предложений по интенсификации процесса и оценки возможных режимов эксплуатации сушильной установки в рамках проведения практических работ.

Ключевые слова: *конвективная сушка, кинетика, сыпучий материал, капиллярно-пористый материал, лабораторная установка, экспериментальные возможности.*

Целью работы было исследование кинетики сушки капиллярно-пористых тел в сравнении с сыпучим материалом.

В задачу исследования входило:

• исследование кинетики сушки капиллярно-пористых тел, сыпучего материала и определение возможных параметров сушильного агента в установке Универсал-СД-2П;

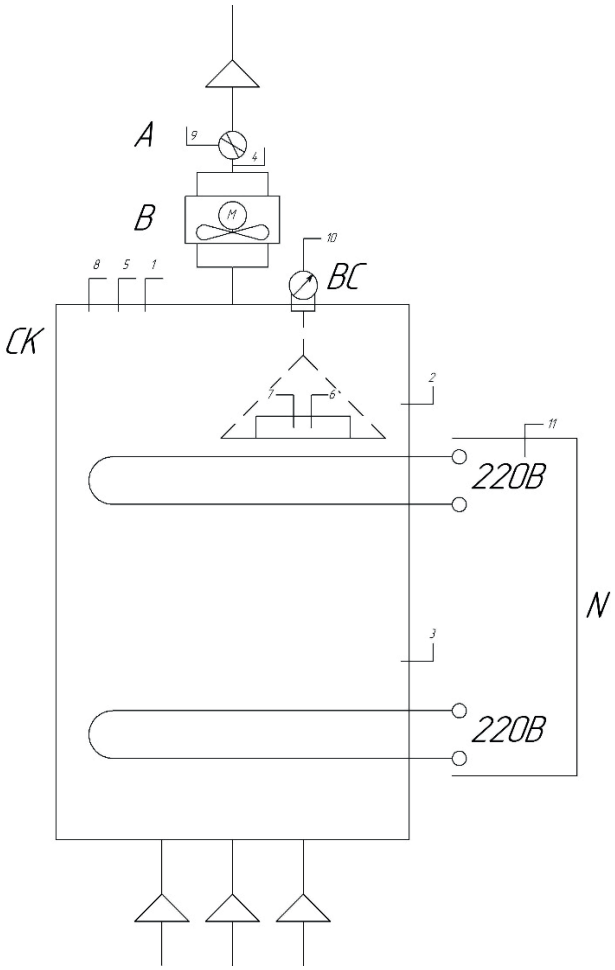
• оценка параметров процесса сушки;

• определение возможностей лабораторной сушильной установки для сушки веществ, используемых в фармацевтической технологии.

Актуальность работы обусловлена отсутствием характеристик процесса сушки веществ в установке отечественного производства Универсал-СД-2П.

Исследования проводили с использованием лабораторной установки на основе сушильного шкафа «Универсал-СД-2П» с дополнительной комплектацией (рисунок 1). В основу принципа действия сушильного шкафа положен комбинированный радиационно-конвективный способ сушки. Диапазон поддержания температуры в рабочей камере 20-70°С.

Сушильный шкаф дополнительно укомплектован: системой измерения температуры в 2-х точках рабочей камеры; системой измерения веса испытуемого образца; вентилятором с регулируемым расходом; персональным компьютером с программным обеспечением. Установка позволяет регистрировать текущие значения и импортировать их в таблицу Microsoft Excel: температуру материала и температуру в сушильной камере, вес испытуемого образца и влажность сушильного агента в режиме реального времени.



Обозначение	Наименование
СК	Сушильная камера
В	Вентилятор
ВС	Весы
N	Нагревательные элементы ТЭНЫ
М	Электродвигатель (мотор)
А	Анемометр

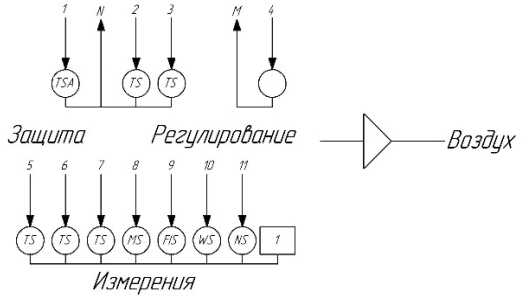


Рисунок 1. Принципиальная схема лабораторной установки на основе сушильного шкафа «Универсал-СД-2П
1 – Аварийная защита от перегрева; 2, 3 – Регулирование температуры на верхнем и нижнем уровне;
4 – Регулирование расхода воздуха (производительности вентилятора); 5 – Измерение рабочей температуры воздуха в камере; 6, 7 – Измерение температуры продукта в 2-х точках; 8 – измерение влажности воздуха в камере;
9 – Измерение действительного расхода воздуха; 10 – Измерение массы продукта; 11 – Потребляемая мощность нагрева

В качестве экспериментальных образцов использовали:

• капиллярно-пористый материал – фильтровальная бумага и гофрированный картон;

• сыпучий материал – крахмал фармацевтический рисовый (C6H10O5), CAS: 9005-25-8

Сушильную установку выводили на желаемый режим поддержания температуры и принудительной вентиляции. Во всех трех опытах температура составляла (50-55) ^{O}C, расход сушильного агента (нагретого воздуха) – 0,0014 м^3/с. Образцы испытуемых материалов смачивали водой и помещали в камеру сушильной установки. Далее регистрировали динамику всех возможных параметров до установления постоянного веса. Проводили следующую серию экспериментов:

1. исследование кинетики сушки капиллярно-пористого материала – фильтровальной бумаги.

Образец фильтровальной бумаги размером 9,5 х 10 см помещали в камеру на металлический поддон, крепили весам и производили сушку до установления постоянной массы.

2. исследование кинетики сушки капиллярно-пористого материала – гофрированного картона. Образец гофрированного картона размером 9,5 х 10 см помещали в камеру на металлический поддон, крепили к весам и производили сушку до установления постоянной массы.

3. исследование кинетики сушки образцов сыпучего материала.

Образец испытуемого материала – крахмала, помещали на металлический поддон, крепили к весам и производили сушку до установления постоянной массы, осуществляли контроль температуры в процессе сушки.

По результатам экспериментов были определены зависимости между влагосодержанием образцов и временем сушки [1], а также зависимость скорости сушки от влагосодержания для исследуемых образцов.

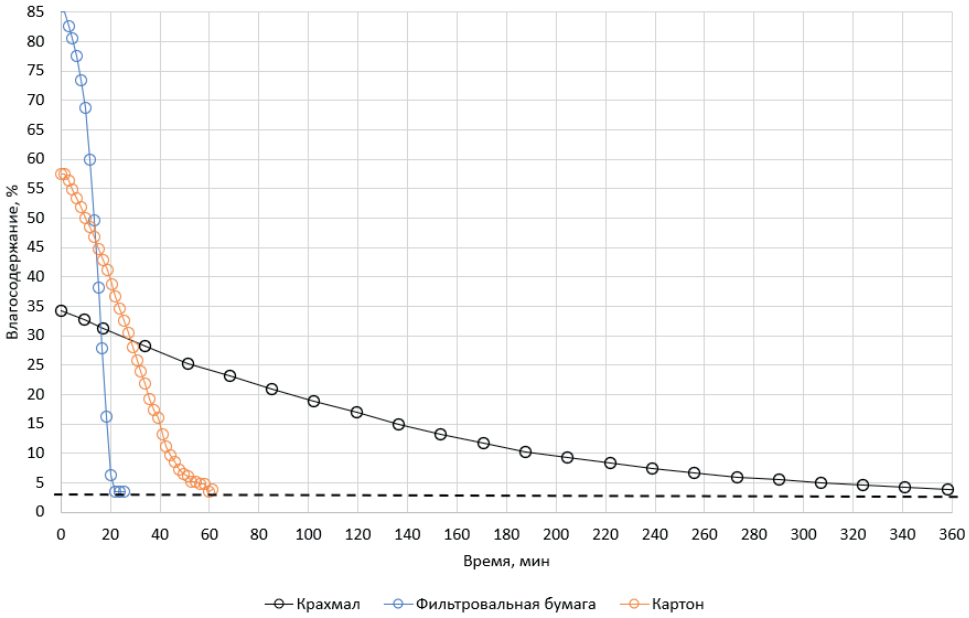


Рисунок 2. Изменение влагосодержания материалов во времени

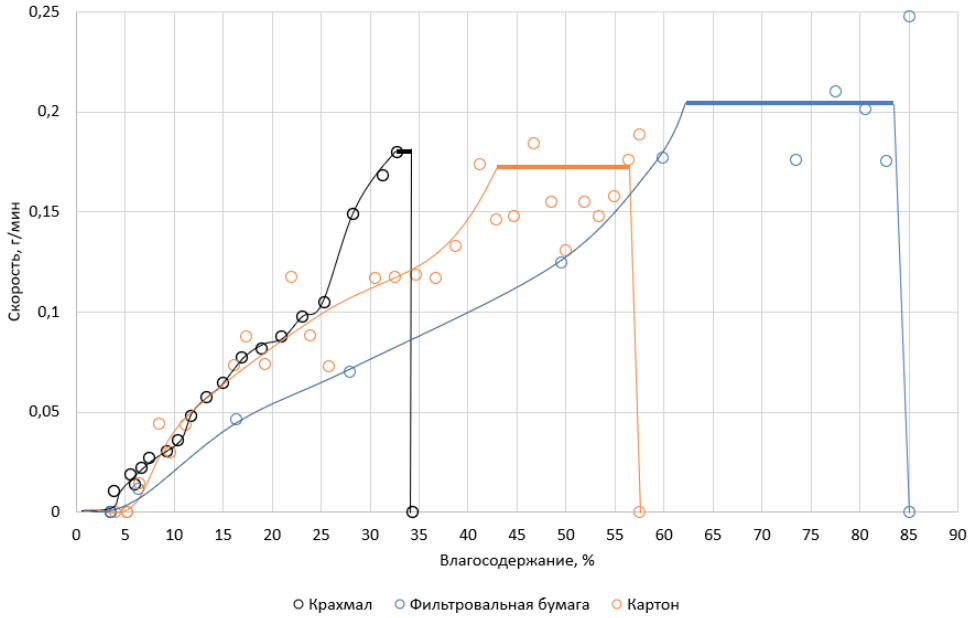


Рисунок 3. Изменение скоростей сушки материалов от влагосодержания

Первый период сушки, выделенный на рисунке 3 жирными линиями, является самым эффективным из-за постоянно высокой скорости сушки [2]. У фильтровальной бумаги и картона, в данной установке, он оценочно занимает 1/3 от всего времени, затрачиваемого на сушку. У крахмала первый период занимает незначительное время, в сравнении с затраченным на сушку временем.

При этом, при сушке фильтровальной бумаги и картона в первый период сушки удаляется значительная часть влаги. При сушке же крахмала, в первом периоде количество удаляемой влаги незначительно.

Поскольку влажный крахмал обладает свойством образовывать комки d = (1-10) мм, то при его сушке лимитирующей стадией является стадия удаления влаги из слоев материала, расположенных внутри материала.

Комки разных диаметров имеют разное соотношение периодов сушки, а экспериментальная кривая, представленная на рисунке 3 – результат их наложения. При сушке крахмала его комки становились легко разрушаемыми, но без постороннего вмешательства сохраняли свою форму.

Важность измельчения комков для уменьшения времени сушки крахмала можно оценить из соотношения поверхности, через которую происходит массообмен с сушильным агентом, и его объема. Допустим, что комок имеет форму шара. Тогда:

$$\frac{F}{V} = \frac{4\pi d^2}{\frac{4}{3}\pi d^3} = \frac{3}{d}, \quad (1)$$

где F – поверхность шара (комка),

V – объем шара (комка),

d – диаметр комка.

Из формулы 1 следует, что с увеличением размера комка крахмала, его объем растет в большей степени, чем поверхность массообмена. При этом внутренний массообмен лимитируется скоростью перемещения влаги от центра комка к его поверхности, то есть его радиусом.

Из этого можно предложить следующий путь интенсификации сушки сыпучих материалов: их необходимо предварительно измельчать, а также оказывать на них механическое воздействие для разрушения комков уже в процессе сушки, например, посредством вибрации.

Произвели расчет коэффициентов массопередачи по формуле 2 для каждого из испытуемых образцов.

$$K_x = \frac{M}{F \cdot \Delta X_{\text{ср}}}, \qquad \left[\frac{\text{г}}{\text{мин} \cdot \text{м}^2 \cdot \%}\right], \quad (2)$$

где Kx – коэффициент массоотдачи,

M – расход компонента, переходящего из одной среды в другую,

F – площадь поверхности массопередачи,

$\Delta X_{\text{ср}}$ – средняя движущая сила процесса массопередачи.

Физический смысл данного коэффициента заключается в том, что он показывает, какое количество влаги удаляется с единицы площади материала при средней движущей силе.

Оценочные коэффициенты получились равны 3,13 для фильтровальной бумаги, 2,44 для картона и 0,12 для крахмала. Они являются оценочными из-за сложности определения поверхности массопередачи, однако, видна явная зависимость снижения коэффициента массопередачи сыпучего материала по сравнению с капиллярно-пористыми телами.

В условиях выполнения работ в установке Универсал-СД-2П при сушке сыпучего материала следует учитывать длительное время сушки материала при планировании работ.

Капиллярно-пористые тела, такие как фильтровальная бумага или картон показывают высокую скорость сушки в данной установке и ее использование можно рекомендовать для сушки схожих материалов.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.01.00 Общие вопросы химической технологии и химической промышленности

61.55.09 Сырье и вспомогательные материалы

61.45.00 Технология химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Кодылев А.В., Лозинов А.Н. Кинетика конвективной сушки сыпучих и дисперсных строительных материалов в сушильной установке с рекуперацией теплоносителя // Известия КГАСУ. 2016. N 4. 38 с.

2. Карпухина Т.В., Курапова Я.А., Галкина А.А., Исследование особенностей процесса сушки капиллярно-пористых тел // Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации: сборник статей XIII Международной научно-практической конференции. Пенза: Наука и Просвещение, 2020. 312 с.

SUMMARY

KINETICS OF THE PROCESS OF DRYING POLOUS MATERIAL IN COMPARISON WITH CAPILLARY-POROUS BODIES

Sakharov A.D., 3rd year students**, Tasfaeva A.A.,** 3rd year students**, Naumova J.A** – 3rd year students
Scientific supervisor: **Sorokin V.V.**, Candidate of Pharmacy science, department head
Ganin P.G., Candidate of Technical science, senior lecturer.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

The subject of the research was the experimental study of drying kinetics. In the course of the work, the kinetics of drying samples of capillary-porous and bulk material was studied. The experimental capabilities of the laboratory drying plant «Universal-SD-2P» are determined,

Drying is the most important and often indispensable stage of the technological process for the production of pharmaceuticals and medical diagnostics. The methodology of this work consisted in an experimental study of the kinetics of drying samples of the tested materials in the process of contact-convective drying. A series of experimental data has been obtained and processed.

The value of the study lies in the comparison of the kinetics of drying bulk and capillary porous materials, the proposal for the intensification of the process and the assessment of possible modes of operation of the drying plant in the framework of laboratory work.

Keywords: *convective drying, kinetics, bulk material, capillary-porous material, laboratory setup, experimental possibilities.*

REFERENCES

1. Kodylev A.V., Lozinov A.N. Kinetics of convective drying of loose and dispersed building materials in a drying plant with heat carrier recovery // Izvestiya KGASU. 2016. N 4. 38 p. (in Russian)

2. Karpukhina T.V., Kurapova Ya.A., Galkina A.A. Study of the features of the drying process of capillary-porous bodies // Modern scientific research: topical issues, achievements and innovations: collection of articles of the XIII International Scientific and Practical Conference. Penza: Science and Education, 2020. 312 p. (in Russian)

УДК 616.001.4-08

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НА ОСНОВЕ ТЕОРИИ ПОДОБИЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ИНСУЛЬТА

Серкова Я.Р., студ. 4 курса
Руководитель**: Тимошенко Е.Ю.,** ст. преподаватель, **Козубова Л.А.,** доцент
Белгородский государственный национальный исследовательский университет
Белгород, ул. Победы, д. 85, Российская Федерация
E-mail: yanni230800@gmail.com

Острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) являются крайне актуальной проблемой современного здравоохранения. В Российской Федерации ежегодно переносят инсульт более 450 000 человек, т.е. каждые 1,5 мин у кого-то из россиян впервые развивается данное заболевание, при этом летальность достигает 50%, а из выживших пациентов – до 80% остаются инвалидами. Доля острых нарушений мозгового кровообращения в структуре общей смертности в нашей стране составляет 21,4%, уступая лишь смертности от ишемической болезни сердца, а инвалидизация после перенесенного инсульта достигает 3,2 на 10 000 населения, занимая первое место среди всех причин первичной инвалидизации. Лишь около 20% выживших больных могут вернуться к работе.

Целью является разработка состава и технологии трансдермального пластыря с применением теории подобия на основе экстракта на основе: рутина, кверцетина и нарегинина и аскорбиновой кислоты для профилактики ишемического инсульта.

Задачи работы заключаются в выявлении схожих веществ растительного происхождения, обладающих ноотропным действием и получении экстрактов растительного сырья.

В результате проведенных экспериментальных исследований было выявлено, что рутин способствует стабилизации межклеточного матрикса, кверцетин снижает содержание медиаторов воспаления, а наригенин снижает содержание холестерина за счет выведения вместе с желчью.

Ключевые слова: *гипотензивное действие, принцип подобия, полифенолы, рутин, кверцетин, наригенин, ишемический инсульт.*

Ишемические инсульты составляют 70-85% от всех случаев инсульта, кровоизлияние в мозг – 20-25%. Соотношение частоты ишемических и геморрагических типов инсульта составляет 4:1., то вероятность ишемического инсульта выше.

Инсульт представляет собой разновидность острого нарушения мозгового кровообращения. Характеризуется внезапным появлением таких симптомов как:

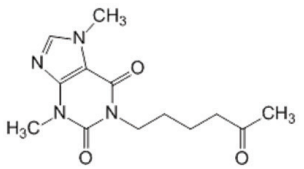
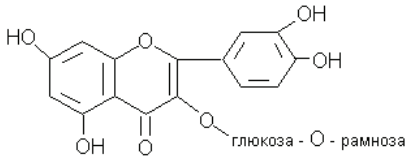
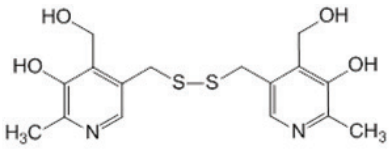
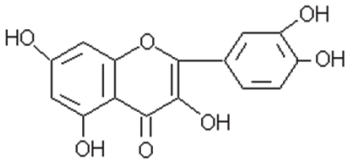
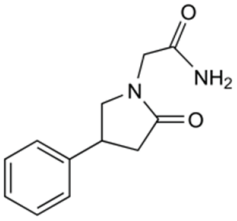
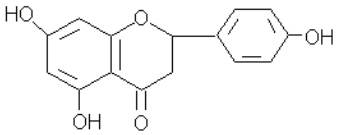
• Двигательные нарушения
• Речевые нарушения
• Нарушения чувствительности
• Нарушение координации и др

Также могут наблюдаться общие мозговые нарушения (угнетение сознания, головная боль, головокружение, тошнота, рвота). Эти симптомы сохраняются более 24 часов, могут приводить к смерти больного в короткий промежуток времени.

Ишемический инсульт – развивается при сужении или закупорке артерий-сосудов, по которым кровь поступает в мозг. Клетки мозга гибнут, так как не получают необходимые кислород и питательные вещества.

При изучении структур лекарственных веществ, можно сделать вывод, что у них есть сходные функциональные группы, а именно – фенольные. Основываясь на их общей структуре, мы обращаемся к такому классу химических соединений как полифенолы.

Таблица 1 – Сравнение структурных формул лекарственных веществ и БАВ

Структурная формула ЛВ	Структурная формула полифенола
 Петоксифиллин	 Рутин
Сходства: В кольце имеется оксогруппа, ароматическое кольцо	
 Пиритинол	 Кверцетин
Сходства:имеется спиртовой гидроксил, ароматическое кольцо	
 Фенотропил	 Нарингенин
Сходства: имеется оксогруппа, ароматическое кольцо	

Полифенолы в своей структуре содержат более одной фенольной группы на молекулу. Почему же именно полифенолы? Потому, что именно эти вещества содержатся во многих растениях.

Выявив общие функциональные группы у лекарственных веществ, обратимся к теории подобия:

Первая теорема подобия формулирует свойства подобных систем, утверждая, что подобные явления имеют одинаковые критерии подобия (любой критерий подобия – это некоторая комбинация величин P1, P2, ... , Pn). Критерии подобия можно определить различными путями: или из условия тождественности уравнений, описывающих процессы, или из анализа размерностей, разновидностью которого является метод нулевых размерностей. При этом различие состоит лишь в способах решения задачи, результат, в конечном счете, один и тот же.

Вторая теорема подобия предполагает, что функциональная зависимость между характеризующими процесс величинами может быть представлена в виде зависимости между составленными из них критериями подобия. Применяя безразмерные комплексы величин, полученные результаты можно распространить на все подобные процессы, уменьшить число величин, которые следует связать функциональной зависимостью.

Пределы закономерного распространения единичного опыта указывается в третьей теореме подобия. Достаточным условием подобия двух систем является равенство любых двух соответствующих критериев подобия этих систем, составленных из их основных параметров и начальных (граничных) условий. Определяющие критерии составляются из независимых между собой величин, которые входят в условия однозначности (геометрические соотношения, физические параметры, краевые условия, начальные и граничные). [8,10]

Гипотеза: В соответствии с первой и третьей теоремой подобия, можно предположить, что вещества, в том числе и лекарственные, обладающие схожей структурой и физико-химическими свойствами должны проявлять аналогичные терапевтические действия, в этой связи природные биологически активные вещества(флаваноиды), имеющие в своей структуре подобные элементы, должны проявлять ноотропные действия.

В качестве активных компонентов стали: наригенин, кверцетин и рутин, а также помимо них будет вводиться витмин С для усиления действия веществ.

Активные компоненты можно выделить из таких растений: Гречиха посевная (Fagopyrum sagittatum Libib.) (F. esculentum Moench), Пустырник сердечный (обыкновенный)(Leonurus cardiaca), Бессмертник песчаный (Helichrysum arenarium).

Трава пустырника содержит рутин и кверцетин. Рутин ингибирует гиулуронидазу, повышает содержание гиалуроновой кислоты, тем самым стабилизируя межклеточный матрикс.

• Польза для сосудов и кожи. Витамин С и витамин Р регулируют процесс образования коллагена – главного элемента, способствующего укреплению сосудов и улучшению состояния кожных покровов. Также действие флавоноидов направлено на снижение отечности, нормализацию давления, расширение сосудов. Все эти факторы способствуют снижению риска варикозной болезни вен.

• Защита от атеросклероза. Кверцетин – элемент, позитивным образом влияющий на обмен жиров в организме. Его действие направлено на защиту от накопления холестерина.

• Нормализация артериального давления. Благодаря контролю сосудистой проницаемости биофлавоноиды расширяют сосуды и нормализуют давление.

Кверцетин ингибирует липооксигеназу и снижает содержание медиаторов воспаления.

Цветки бессмертника содержат флавоноид – наригенин.

При поступлении в организм гликозид нарингин расщепляется до наригенина и сахаров – рамнозы и глюкозы.

Наригенин оказывает следующие воздействия на организм:

• улучшает метаболизм;

• снимает негативные последствия после приема алкоголя;

• действует, как антиоксидант;

• способствует профилактике атеросклероза;

• снижает уровень холестерина;

• способствует повышению эластичности кровеносных сосудов, укрепляя хрупкие капилляры, предотвращая, тем самым, появление кровоизлияний;

• укрепляет иммунную систему;

• используется при профилактике гриппа и иных инфекций;

• оказывает на организм тонизирующее действие;[26]

То есть, рутин и кверцетин напрямую действуют на стенки сосудов, обеспечивают снижение давление и защищают организм от развития атеросклероза, который является так же одной из причин развития инсульта. Наригенин действует более обширно и так же повышает метаболизм, снижает содержание липопротеинов низкой и очень низкой плотности.

Таким образом, можно выделить из предложенных растений 3 вещества: рутин, кверцетин и нарегинин. Задействовать данные вещества в лекарственной форме и добавить к ним витамин С, так он улучшит действие рутина и кверцетина по отношению к сосудам. Так же данный комплекс полифенолов, помимо благотворного влияния на сосуды, предотвращает возникновение атеросклеротических бляшек, что в свою очередь снижает возникновение инсульта.

В качестве лекарственной формы предлагается трансдермальная терапевтическая система с микроиглами, в которые будет помещаться модельная смесь.

Преимущества данной лекарственной формы заключаются в: удобстве применения, лекарство быстро попадает в кровь, возможности регулировать скорость высвобождения лекарства, возможности использовать гидрофильные и липофильные вещества.

Заключение

В ходе работы детально изучены лекарственные препараты, применяемые для лечения и профилактики инсульта. На данный момент наиболее применяемыми лекарственными препаратами являются ноотропы, в основе которых находятся: пентоксифиллин, пиритинол и фенотропил. Данные вещества в своей структуре содержат ароматическое кольцо, так же содержат оксо- и гидроксогруппы.

Рассмотрев структурные формулы, был сделан вывод, что данные синтетические вещества являются полифенолами и им подобны будут флавоноиды, которые содержатся в лекарственном растительном сырье.

Сопоставив строения веществ синтетического и природного происхождения, можно сделать вывод, что они подобны друг к другу.

В соответствии с первой и третьей теоремой подобия, которая гласит о том, что вещества, схожие по структуре и имеющие схожие физико-химические свойства должны обладать аналогичным действием. Значит, флаваноиды могут обладать ноотропным действием и соответственно могут применяться в терапевтической практике при профилактике ишемического инсульта.

Выявив вещества, схожие с ноотропами, было найдено необходимое лекарственное сырье, богатое данными веществами: Бессмертник песчаный и Пустырник сердечный.

Из вышеперечисленных растений были получены экстракты, которые могут быть введены в лекарственную форму – трансдермальный терапевтический пластырь, который может применяться в качестве препарата для профилактики инсульта.

На данном этапе эксперимента не было выявлено химической несовместимости действующих веществ.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федин А.И., Кузнецов О.Р., Евсеев В.Н. Антиоксидантная и энергозащитная терапия ишемического инсульта // Тактическая студия. 2003. С. 48.

2. Анализ лекарственных форм, изготовляемых в аптеках: пособие / М.И. Кулешова [и др.]. 2-е изд. М.: Медицина, 1989. 288 с.

3. Аничков С.В., Беленький М.Л. Учебник фармакологии. Л.: МЕДГИЗ. Ленинградское объединение, 1955.

4. Болезни нервной системы. Руководство для врачей / под ред. Н.Н. Москвичева. 1997. 312с.

5. Михеев В.В., Мельничук П.В. Нервные заболевания. М.: Медицина, 1984.

6. Виленский Б.С. Неотложные состояния в невропатологии. М., 1996. 256с.

7. Гольдблат Ю.В. Основы реабилитации неврологических больных СПб.: СпецЛит, 2017. 767 с.

8. Гухман А.А. Введение в теорию подобия. М.: Высшая школа, 1973. 296 с

9. Егоров А.Ю., Балашова И.Н. Изменение профилей функциональной асимметрии при восстановлении когнитивных функций после очагового поражения мозга (инсульта) // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2007. Т. 43. N 4. С. 371-375.

10. Кирпичев М.В., Конаков П.К. Математические основы теории подобия. М.: Издательство Академии наук СССР, 1949. 105 с.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF THE COMPOSITION AND DOSAGE FORM BASED ON THE THEORY OF SIMILARITY FOR THE PREVENTION AND TREATMENT OF STROKE

Serkova Y.R., 4th year student
Scientific adviser: **Timoshenko E.Yu.**, senior lecturer, **Kozubova L.A.**, associate professor
Belgorod State National Research University
Belgorod, Pobedy St., 85, Russian Federation
E-mail: yanni230800@gmail.com

Acute disorders of cerebral circulation (ONMK) are an extremely urgent problem of modern health care. In the Russian Federation, more than 450,000 people suffer a stroke annually, i.e. every 1.5 minutes, one of the Russians develops this disease for the first time, while the mortality rate reaches 50%, and of the surviving patients – up to 80% remain disabled. The share of acute disorders of cerebral circulation in the structure of total mortality in our country is 21.4%, second only to mortality from coronary heart disease, and disability after a stroke reaches 3.2 per 10,000 population, ranking first among all causes of primary disability. Only about 20% of surviving patients can return to work.

The aim is to develop the composition and technology of the transdermal patch using similarity theory based on an extract based on: rutin, quercetin and nareginine and ascorbic acid for the prevention of ischemic stroke.

The tasks of the work are to identify similar substances of plant origin that have a nootropic effect and obtain extracts of plant raw materials.

As a result of experimental studies, it was found that rutin helps stabilize the intercellular matrix, quercetin reduces the content of inflammatory mediators, and nargenin reduces cholesterol by excretion along with bile.

Keywords: *hypotensive action, the principle of similarity, polyphenols, rutin, quercetin, narigenin, ischemic stroke.*

REFERENCES

1. Fedin A.I., Kuznetsov O.R., Evseev V.N. Antioxidant and energy-protective therapy of ischemic stroke // Tactical Studio. 2003 p. 48. (in Russian)

2. Analysis of dosage forms manufactured in pharmacies: a manual / M.I. Kuleshova [et al.]. 2nd ed. Moscow: Medicine, 1989. 288 p. (in Russian)

3. Anichkov S.V., Belenky M.L. Textbook of pharmacology. Leningrad: MEDGIZ Leningrad Association, 1955. (in Russian)

4. Diseases of the nervous system. A guide for doctors / Ed. N.N. Moskvicheva. 1997 312 p. (in Russian)

5. Mikheev V.V., Melnichuk P.V. Nervous diseases. Moscow: Medicine, 1984. (in Russian)

6. Vilensky B.S. Urgent conditions in neuropathology. Moscow: 1996 256 p. (in Russian)

7. Goldblat Yu.V. Fundamentals of rehabilitation of neurological patients St. Petersburg : SpetsLit, 2017. 767 p. (in Russian)

8. Gukhman A.A. Introduction to the theory of similarity. Moscow: Higher School, 1973. 296 p. (in Russian)

9. Egorov A.Y., Balashova I.N. Changing profiles of functional asymmetry in the restoration of cognitive functions after focal brain damage (stroke) // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2007. Vol. 43(4). P. 371-375. (in Russian)

10. Kirpichev M.V., Konakov P.K. Mathematical foundations of similarity theory. Moscow: Publishing House of the USSR Academy of Sciences, 1949. 105 p. (in Russian)

УДК 615:322

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПЛОДОВ РЯБИНЫ ЧЕРНОПЛОДНОЙ (ARONIA MELANOCARPA)

Сокрашкина Н.В., студ. 4 курса (ORCID: ID: 0000-0003-1825-0887)
Руководитель: **Пивоварова Н.С.,** доц., к. фарм. н. (ORCID: ID: 0000-0003-3020-8526)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: natalya.sokrashkina@spcpu.ru

В представленной работе проанализированы такие технологические свойства высушенных измельченных плодов рябины черноплодной как фракционный состав, насыпная масса (плотность), сыпучесть и набухаемость сырья. Исследованы числовые показатели высушенных измельченных плодов рябины черноплодной. Учет полученных результатов позволит определить оптимальные условия проведения процесса экстракции.

Ключевые слова: *измельчённое растительное сырьё, технологические свойства, рябина черноплодная, сыпучесть, фракционный состав, насыпная масса, качество сырья.*

Применение растительного сырья в составах лекарственных препаратов зародилось на ранних стадиях развития человечества. Об этом свидетельствуют результаты археологических раскопок Древнего Египта [1].

Актуальность использования растительного сырья в производстве лекарственных препаратов обусловлена разнообразием комплексов биологически активных веществ, входящих в их состав. Данные препараты обладают широким спектром терапевтических эффектов, и в связи с этим в настоящее время активно изучаются свойства и составы различного растительного сырья.

Объектом исследования в представленной работе служат высушенные измельченные плоды рябины черноплодной семейства розовые, собранные в 2021 году.

Плоды рябины черноплодной содержат в своём составе: углеводы – 10 %, органические кислоты – 1,3 %, пектиновые вещества – 0,75 %; дубильные вещества – 0,6 %, аскорбиновую кислоту (витамин С) – 15 мг/%, цитрин (витамин Р) – 2000 мг/%, каротин – 2 мг/%, рибофлавин – 0,13 мг/%, фолиевую кислоту – 0,1 мг/ %, никотиновую кислоту (витамин РР) – 0,5 мг/%, витамин Е, токоферолы – 1,5 мг/%, филлохинон – 0,8 мг/%, пиродоксин – 0,06 мг/%, ниацин – 0,3 мг/%, тиамин – 0,01 мг/%, а также амигдалин, кумарины, рутин, кверцетин, кверцитрин, гесперидин, катехины, цианидин и его гликозиды, сорбит и другие соединения. Из макро- и микроэлементов в большом количестве содержатся железо, марганец, йод, а также соли молибдена, бора, марганца, меди. [2]. Благодаря такому составу высушенные плоды проявляют спазмолитическую, сосудорасширяющую, гипотензивную, антиоксидантную, гемостатическую активность.

Целью данного исследования является изучение свойств высушенных измельченных плодов рябины черноплодной как лекарственного растительного сырья для последующей разработки фитопрепарата.

Для достижения поставленной цели необходимо выполнить следующие задачи:

• Определить фракционный состав, насыпную плотность, сыпучесть, набухаемость высушенных измельченных плодов рябины черноплодной;

• Провести товароведческий анализ высушенных измельченных плодов рябины черноплодной.

Материалы и методы

Рябина черноплодная представлена в виде высушенного и измельченного материала. Для дальнейшей разработки фитопрепарата на ее основе необходимо учитывать технологические свойства, влияющие на процесс экстрагирования.

1. Насыпная масса/плотность.

Насыпная масса – масса единицы объема свободно насыпанного измельченного сырья.

Определение данного показателя осуществлялось при помощи «Тестера насыпной плотности ERWEKA SVM 221». Прибор работает со скоростью 300 встряхиваний/мин, и снабжен двумя режимами (установка количества ударов/ установка продолжительности процесса).

Навеску измельченных высушенных плодов рябины черноплодной массой 27,06 г. засыпают в цилиндр без предварительного уплотнения, фиксируют объем до уплотнения, после чего устанавливают цилиндр в соответствии с требованиями руководства. Далее посредством манипуляций устанавливаются необходимые параметры (количество встряхиваний 1250) и дожидаются окончания процесса, фиксируют полученный объем после уплотнения.

Расчет насыпной массы/плотности осуществляется по формуле (1):

$$\frac{m}{V_n} - \frac{m}{V_0} = x \quad (1)$$

где: x – насыпная масса/плотность сырья, г/см^3;

m – масса навески, г;

V_0 – объем до уплотнения, см^3;

V_n – объем после уплотнения, см^3;

n – количество встряхиваний.

2. Сыпучесть.

Сыпучесть (текучесть) – способность материала свободно высыпаться под действием силы тяжести. Сыпучесть определяется по массовой скорости истечения с использованием «Тестера сыпучести гранулированного материала ERWEKA GT». Прибор автоматически определяет массу образца, а также выводит результат, отнесенный к 100 г образца на дисплее. Образец высушенных измельченных плодов рябины черноплодной засыпается в воронку, после чего прибор производит измерение. Операцию загрузки необходимо осуществлять 3 раза.

3. Набухаемость сырья.

Набухаемость – свойство, при котором материал поглощает жидкость с последующим увеличением в объеме и массе.

Навеску (10,0 г) растительного сырья заливают экстрагентом (100мл) и оставляют на 3 часа. Затем сливают свободный экстрагент в мерный цилиндр и определяют его объем, а увлажненный растительный материал взвешивают.

Коэффициент поглощения сырья $К_п$ рассчитывали по формуле:

$$К_п = \frac{m}{m_0} \quad (2)$$

где: m – масса сырья после набухания, г;

m_0 – навеска сырья,г.

Степень набухания рассчитывали по формуле:

$$\alpha = \frac{m - m_0}{m} \quad (3)$$

4. Фракционный состав.

Определяют массу каждого сита с точностью до 0,1г. Для анализа берут 70 г высушенного измельченного материала и просеивают через набор сит с размерами отверстий 2,5 мм, 2 мм, 1,6 мм, 1 мм, 0,25мм. Закрывают крышкой и встряхивают в течение 5 минут. Далее по очереди взвешивают с точностью до 0,01 г каждое сито и поддон, и выражают массу в % по отношению к навеске.

Затем вычисляют средний диаметр частиц сырья по формуле (4).

$$D_{ср} = \frac{1}{\sum \frac{x_i}{d_i}} \quad (4)$$

где: d_i – средний геометрический диаметр частиц узкой фракции;

x_i – массовый выход частиц узкой фракции, доля;

$D_{ср}$ – средний диаметр частиц, мм.

$$x_i = \frac{m_i}{m} \quad (5)$$

где: mi – масса n-ной фракции, г;

m – масса навески частиц сырья, г.

$$D_i = \sqrt{d1 * d2} \quad (6)$$

где: d1 – диаметр отверстия проходного сита, мм;

d2 – диаметр отверстия непроходного сита, мм.

После определения технологических свойств необходимо провести товароведческий анализ сырья в соответствии с Государственной Фармакопеей 14 издания.

1. Влажность. Предварительно высушенные до постоянной массы бюксы (2 шт.) взвешивают с крышкой, затем кладут навески по 3 г. ± 0,01 в каждый. После чего бюксы с открытыми крышками помещают в сушильный шкаф, нагретый до 100-105°С на 3 ч. После охлаждения крышек и бюксов в эксикаторе проводится повторное взвешивание с закрытыми крышками. Далее бюксы в открытом состоянии помещают в сушильный шкаф на 30 минут. Последняя процедура охлаждения, взвешивания и высушивания повторяется до тех пор, пока не будет достигнута постоянная масса высушиваемого сырья.

Влажность лекарственного растительного сырья вычисляется по формуле (7):

$$W = \frac{(m - m_1) * 100}{m} \quad (7)$$

где: m – масса до высушивания, г;

m_1 – масса после высушивания, г.

2. Зола общая. Фарфоровый тигель предварительно прокаливают в течение 30 минут в муфельной печи, нагретой до 600-650°С, с последующим охлаждением и взвешиванием, операция повторяется до достижения постоянной массы. Затем навеску в 3 г равномерно распределяют в тигле и нагревают при 100-105°С в течение 1 часа. Далее проводят сжигание в муфельной печи с последующим охлаждением в эксикаторе и взвешиванием.

Содержание золы общей вычисляется по формуле (8):

$$X = \frac{m_1 * 100}{m_2} \quad (8)$$

где: m_1 – масса золы, г;
m_2 – масса лекарственного сырья, г.

3. Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. В тигель, содержащий остаток после определения золы общей, прибавляют 25 мл 10% хлористоводородной кислоты и накрывают часовым стеклом. Затем тигель помещают на электроплитку и кипятят смесь в течение 10 минут. После охлаждают полученную смесь и промывают горячей водой, используя беззольный фильтр, до тех пор, пока промывные воды не покажут нейтральную реакцию на индикаторной бумаге. Фильтр переносят в тигель, сушат, затем прокаливают в муфельной печи, нагретой до 550-650°С, после чего охлаждают в эксикаторе и взвешивают полученный зольный остаток. Операцию прокаливания, охлаждения и взвешивания повторяют до получения постоянной массы остатка.

Содержание золы, нерастворимой в 10% хлористоводородной кислоте, вычисляют по формуле (9):

$$X = \frac{(m_1 - m) * 100}{m_2} \quad (9)$$

где: m_1 – масса золы, г;
m– масса золы фильтра (если золы последнего более 0,002 г), г;
m_2 – масса лекарственного сырья, г.

4. Органическая и Минеральная примесь. Органическая примесь – это части других неядовитых растений. Минеральная примесь – земля, песок, камни и т.д. Определенную навеску сырья помещают на гладкую, сухую, чистую поверхность и пинцетом отделяют примеси.

*Определение органических примесей осуществляется с навеской цельного высушенного сырья, так как в измельченном состоянии процесс будет затруднен.

5. Количественное определение экстрактивных веществ. Испытание осуществлялось в соответствии с ОФС «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратов» методом однократной экстракции. В качестве растворителя использовалась вода.
Содержание экстрактивных веществ вычисляют по формуле (10):

$$X = \frac{m * 100 * 100 * V}{a * (100 - W) * 25} \quad (10)$$

где: m – масса сухого остатка, г;
a – навеска лекарственного растительного сырья, г;
V – объем экстрагента, используемый при однократной обработке лекарственного растительного сырья, мл;
W – влажность лекарственного растительного сырья.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования были определены основные технологические свойства исходного сырья (см. табл. 1 и рис. 1, 2).

Определение насыпной массы осуществляется для выбора размера экстрактора. Сыпучесть измельченного сырья учитывают при расчете загрузочных устройств и определения времени загрузки. Набухание сырья и увеличение его объема необходимо нам для выбора коэффициента заполнения экстрактора. Фракционный состав позволяет определить измельченность сырья.

Таблица 1 – Технологические свойства высушенных измельченных плодов рябины черноплодной

№ п/п	Показатель	Значение
1	Масса/плотность сырья, г/см^3	0,14±0,01
2	Сыпучесть, г/с	34,40±1,31
3	Коэффициент поглощения сырья	2,32±0,12
4	Степень набухания, г	0,57± 0,05
5	Средний диаметр частиц сырья, мм	1,38±0,16

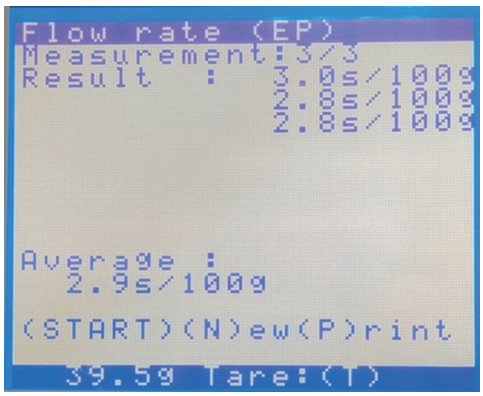


Рисунок 1. Сыпучесть образца

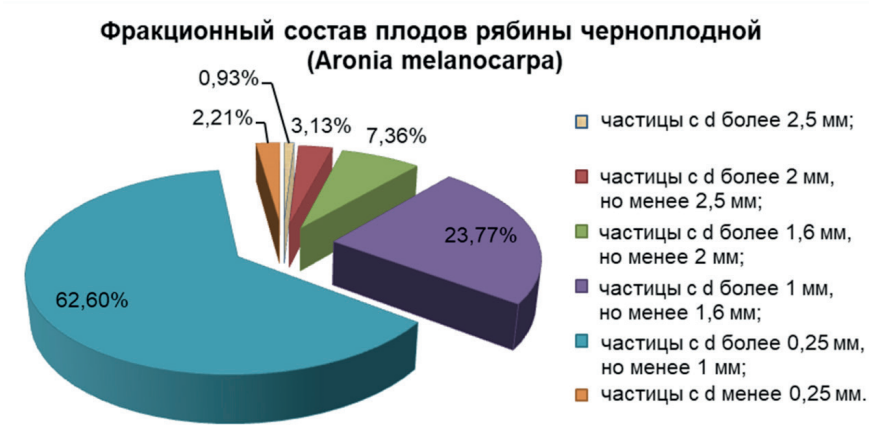


Рисунок 2. Фракционный состав образца

Далее был проведен товароведческий анализ, результаты которого представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели качества лекарственного растительного сырья

№ п/п	Показатель	Требования ГФ 14 издания	Результат эксперимента
1	Влажность	Не более 17%	1,48 ±0,15 %
2	Зола общая	Не более 3%	2,2±0,20%
3	Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	Не более 0,5%	0,33±0,01%
4	Минеральные примеси	Не более 0,5%	0,1±0,05%
5	Органические примеси	Не более 2%	Не обнаружено
6	Экстрактивные вещества, извлекаемые водой	-	54,81±0,50%

Заключение

В ходе выполнения работы были исследованы технологические свойства высушенных измельченных плодов рябины черноплодной, проведен товароведческий анализ, в котором числовые показатели качества соответствовали требованиям Государственной Фармакопеи 14 издания.

Исходя из полученных данных, будет осуществлен выбор оптимальных условий процесса экстракции с последующим получением фитосубстанции в виде сухого и густого экстракта.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

61.45.36 Лекарственные средства из природного сырья

ЛИТЕРАТУРА

1. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т.В. Самбукова [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2017. Т. 15. N 2. С. 56–63. doi: 10.17816/RCF15256-63.

2. Терлецкая В.А., Рубанка Е.В., Зинченко И.Н. Влияние технологических факторов на процесс экстракции плодов рябины черноплодной // Техника и технология пищевых производств. 2013. N 4. С. 127-131.

3. Логвинова Е.Е. Исследование групп биологически активных веществ плодов рябины черноплодной различных сортов: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук. М., 2017.
4. Государственная Фармакопея РФ. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс] URL.: https://femb.ru/record/pharmacopea14.

SUMMARY

INVESTIGATION OF TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF THE FRUITS OF ARONIA MELANOCARPA

Sokrashkina N.V., 4th year student
Scientific supervisor: **Pivovarova N.S.** Associate Professor, Candidate of Pharm. Science (ORCID: 0000-0003-3020-8526)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

In the presented work, are analyzed such technological properties of dried powdered fruits of aronia melanocarpa as fractional composition, bulk mass (density), flowability and swelling of raw materials. Numerical indicators of dried powdered fruits of aronia melanocarpa are also investigated. Accounting the results obtained will allow us to determine the optimal conditions for the extraction process.

Keywords: *powdered vegetable raw materials, technological properties, aronia melanocarpa, flowability, fractional composition, bulk mass, raw material quality.*

REFERENCES

1. Prospects for the use of phytopreparations in modern pharmacology / T.V. Sambukova [et al.]// Reviews on clinical pharmacology and drug therapy. 2017. Vol. 15(2). P. 56–63. doi: 10.17816/RCF15256-63. (in Russian)
2. Terleckaja V.A., Rubanka E.V., Zinchenko I.N. The influence of technological factors on the process of extraction of fruits of aronia melanocarpa // Food Processing Engineering and Technology. 2013. N 4. P. 127-131. (in Russian)
3. Logvinova E. E. Study of groups of biologically active substances of fruits of aronia melanocarpa of various varieties: Research dissertation for the degree of candidate of pharmaceutical sciences. Moscow, 2017. (in Russian)
4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. 2018. [Internet] URL.: https://femb.ru/record/pharmacopea14. (in Russian)

УДК 61:615.4

ПРИВЕДЕНИЕ СПЕЦИФИКАЦИИ НА АКТИВНУЮ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКУЮ СУБСТАНЦИЮ К ТРЕБОВАНИЯМ ЕАЭС

Сон А.В., преподаватель, **Зайцев С.А.**, соискатель
Руководитель: **Басевич А.В.**, к. фарм. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: andrew.son@pharminnotech.com

В настоящей работе описан алгоритм приведения спецификации на активную фармацевтическую субстанцию (АФС) к требованиям Евразийского Экономического Союза (ЕАЭС). Целью этого подхода является формирование надлежащей спецификации на основании природы АФС, ее физико-химических свойств и целевого назначения.

Ключевые слова: *спецификация, ЕАЭС, показатели качества, АФС, Фармакопея, лекарственный препарат.*

В связи с евразийской интеграцией и выходом на рынок лекарственных средств Евразийского Экономического Союза (ЕАЭС), перед российскими фармацевтическими компаниям встал вопрос об актуализации спецификаций на соответствие требованиям Решений ЕАЭК. Спецификации предназначены для подтверждения качества активной фармацевтической субстанции (АФС) и лекарственного препарата (ЛП). Они не преследуют цели полного установления характеристик и поэтому должны быть основаны на характеристиках, подтвердивших свою пригодность для обеспечения безопасности и эффективности активной фармацевтической субстанции и лекарственного препарата [1]. Поэтому важно правильно выбрать показатели качества для включения в спецификации на АФС.

Описанный в настоящей работе алгоритм позволяет сформировать спецификацию на АФС, соответствующую требованиям ЕАЭС.

Алгоритм приведения спецификации на АФС к требованиям ЕАЭС включает следующие этапы:

1. Составление списка показателей АФС, исходя из положений Решения ЕАЭК от 7 сентября 2018 г. N 151.
2. Обоснование включения показателей в спецификацию, исходя из природы АФС и ее целевого назначения.
3. Сопоставление с действующей спецификацией на АФС.
4. Включение и/или исключение показателей качества из действующей спецификации.

Для демонстрации практического применения алгоритма выбрана АФС А, субстанция-порошок. В соответствии с политикой компании информация по международному непатентованному наименованию (МНН) субстанции является конфиденциальной, поэтому в настоящей работе принято условное обозначение объекта исследования: А – МНН субстанции.

Типовой список показателей качества, который характеризует АФС для производства нестерильных ЛП, представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Типовой список показателей качества для АФС

Показатель	Характеристика
Описание	Качественная характеристика физического состояния, в т.ч. и цвета. Если физические свойства изменяется при хранении, такое изменение необходимо изучить и принять необходимые превентивные меры.
Идентификация	Испытания при идентификации должны, давать возможность наилучшим образом различать соединения с близкородственной структурой, которые могут присутствовать с высокой долей вероятности. Испытания при идентификации должны быть специфичными в отношении АФС, например, инфракрасная спектроскопия. Например, идентификация исключительно с помощью хроматографического времени удержания не считается специфичной. Вместе с тем, использование двух хроматографических методик, в которых разделение основано на различных принципах, или объединение испытаний в одну методику, например, ВЭЖХ/УФ на диодной матрице, ВЭЖХ/МС или ГХ/МС являются приемлемыми.
Идентификация противо-иона	Может быть достаточным испытание, специфичное в отношении самой соли. Если АФС представляет собой соль, испытание идентификации должно быть специфичным в отношении каждого из ионов.
Идентификация энантиомера	Для оптически активных АФС может быть необходимым специфичное испытание для их идентификации или проведения количественного определения, специфичного в отношении хирального соединения. Если при производстве лекарственной формы и ее хранении рацемизация незначительна, то стереоспецифичное испытание идентификации целесообразно включить в спецификацию АФС. Если в лекарственной форме происходит рацемизация, то в целях верификации подлинности используют хиральную методику количественного определения или испытание на энантиомерную примесь в лекарственном препарате.
Количественное определение	В целях определения содержания АФС необходимо включить специфичную методику, позволяющую получать стабильные результаты. Если представлено обоснование использования неспецифичной методики количественного определения, в целях достижения общей специфичности необходимо использовать другие подтверждающие аналитические методики.
Количественное определение энантиомеров	В спецификации должно быть указано количественное определение АФС, позволяющее селективно устанавливать содержание энантиомеров. Для выполнения этих условий считается приемлемым использование специфичной для хирального соединения методики количественного определения с соответствующими методами контроля энантиомерной примеси.
Органические примеси	Учитываются примеси деградации, используя данные ускоренных и долгосрочных испытаний, а также фотостабильности, и технологические примеси.
Неорганические примеси	Используя данные, полученные при разработке, и основываясь на знании процесса производства, следует определить необходимость включения испытаний и критериев приемлемости на неорганические примеси (например, катализаторов). Методики и критерии приемлемости для сульфатной золы (общей золы) фармакопейным требованиям. Прочие неорганические примеси допускается определять с помощью других подходящих методик, например, атомно-абсорционной спектрометрии.
Остаточные органические растворители	Необходимо руководствоваться фармакопейными требованиями по предельному содержанию остаточных органических растворителей в субстанции. Список нормируемых остаточных органических растворителей формируется, исходя из схемы синтеза и используемых в ней органических растворителей.
Содержание воды	Это испытание проводят, если АФС гигроскопична или влага вызывает ее деградацию, или АФС представляет собой стехиометрический гидрат. Критерии приемлемости могут быть обоснованы с помощью данных об эффектах гидратации или абсорбции влаги. В некоторых случаях достаточно использовать методику определения потери в массе при высушивании, однако предпочтительно использовать методику обнаружения, специфичную для воды (например, титрование по методу Фишера)
pH водного раствора	Испытания, выполняемые в этой категории, необходимо определять на основании физической природы АФС и ее целевого назначения.
Температура плавления	
Показатель преломления	
Размер частиц	Размер частиц для некоторых АФС, предназначенных для использования в твердых лекарственных препаратах или суспензиях, может оказывать значительное влияние на скорость растворения, биодоступность и (или) стабильность. В таких случаях следует установить критерии приемлемости и проводить испытание по определению размера частиц, используя соответствующую методику.
Полиморфные формы	Некоторые АФС существуют в разных кристаллических формах, которые различаются по физическим свойствам. Полиморфизм может также включать продукты сольватации и гидратации (также известные как псевдополиморфы) и аморфные формы. Различия в профиле указанных форм могут, в некоторых случаях, оказывать влияние на качество и функциональные характеристики лекарственных препаратов. Если существуют различия, и было показано, что они могут влиять на функциональные характеристики лекарственного препарата, его биодоступность или стабильность, то в спецификации необходимо указать соответствующее состояние твердого вещества.

Показатель	Характеристика
Микробиологическая чистота	Можно исключить испытания на микробиологическую чистоту для активных фармацевтических субстанций, которые в процессе разработки подтвердили неспособность поддерживать жизнеспособность и рост микроорганизмов, в остальных случаях необходимо руководствоваться фармакопейными требованиями.

После составления списка показателей качества следующим этапом алгоритма является обоснование включения показателей качества в спецификацию на АФС, исходя из ее природы и целевого назначения. Для А, субстанция-порошок, обоснование включения показателей в спецификацию представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Обоснование включения показателей в спецификацию на А, субстанция-порошок

Показатель качества	Включение в спецификацию	Обоснование выбора
Описание	Да	Качественная характеристика физического состояния и цвета АФС.
Идентификация	Да	Показатель подлинности АФС.
Идентификация противо-иона	Нет	АФС не представлена в виде соли.
Идентификация энантиомера	Нет	АФС не обладает оптической активностью.
Количественное определение	Да	В целях определения содержания АФС.
Количественное определение энантиомеров	Нет	АФС не обладает оптической активностью.
Органические примеси	Да	Согласно ICH [2], которые согласуются с требованиями ЕАЭС.
Неорганические примеси	Да	Согласно фармакопейным требованиям.
Остаточные органические растворители	Да	Список нормируемых остаточных органических растворителей согласуется со схемой синтеза и используемых в ней органических растворителей.
Содержание воды	Да	АФС не гигроскопична.
pH водного раствора	Нет	Не характеризует физическую природу АФС.
Температура плавления	Нет	АФС не обладает оптической активностью.
Показатель преломления	Нет	АФС не обладает оптической активностью.
Размер частиц	Да	Размер частиц АФС может оказывать значительное влияние на однородность дозирования лекарственного препарата.
Полиморфные формы	Нет	АФС не обладает полиморфизмом.
Микробиологическая чистота	Да	Согласно фармакопейным требованиям.

На основании действующей спецификации на А, субстанция-порошок, и данных таблицы 2, составляется таблица 3, в которой отражено, какие показатели можно исключить из действующей спецификации.

Таблица 3 – Решение по показателям качества для А, субстанция-порошок

Показатель качества действующей спецификации	Метод	Решение
Описание	Визуальный	Качественная характеристика физического состояния и цвета АФС.
Растворимость	ГФ РФ	Характеризует природу вещества.
Подлинность, метод 1	ИК-спектроскопия	Необходимо обновить согласно Фармакопеи ЕАЭС.
Подлинность, метод 2	ВЭЖХ	Необходимо обновить согласно Фармакопеи ЕАЭС.
Температура плавления	ГФ РФ	Можно исключить из спецификации.
Прозрачность	ГФ РФ	Можно исключить из спецификации.
Цветность	ГФ РФ	Можно исключить из спецификации.
Посторонние примеси	ВЭЖХ	Необходимо обновить согласно Фармакопеи ЕАЭС.
Сульфатная зола	ГФ РФ	Необходимо обновить согласно Фармакопеи ЕАЭС.
Тяжелые металлы	ГФ РФ	Необходимо обновить согласно Фармакопеи ЕАЭС.
Вода	Метод К.Фишера	Необходимо обновить согласно Фармакопеи ЕАЭС.
Остаточные органические растворители	ГЭЖХ	Необходимо обновить согласно Фармакопеи ЕАЭС.
Количественное определение	ВЭЖХ	Необходимо обновить согласно Фармакопеи ЕАЭС.
Микробиологическая чистота	ГФ РФ	Необходимо обновить согласно Фармакопеи ЕАЭС [3].
Размер частиц	Показатель отсутствует в действующей спецификации	Необходимо включить в спецификацию и разработать критерии приемлемости.

В основании таблицы 3 формируется спецификация, соответствующая требованиям ЕАЭС.

Описанный в настоящей работе алгоритм актуализации показателей качества позволяет сформировать надлежащую спецификацию на АФС, соответствующую требованиям ЕАЭС.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Об утверждении Руководства по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата: Решение ЕАЭК №151 от 07.09.2018 [Электронный ресурс] URL: https://www.alta.ru/tamdoc/18kr0151/ (дата обращения 05.03.2022).

2. Разработка и производство АФС: Руководство ICH Q11 // PharmAdvisor [Электронный ресурс] URL: https://database.ich.org/sites/default/files/Q11%20Guideline.pdf (дата обращения 05.03.2022).

3. Фармакопея ЕАЭС. Том I. Часть 1. [Электронное издание]. URL: http://www.eurasiancommission.org/ru/act/texnreg/deptexreg/LSMI/Documents/%d0%a4%d0%b0%d1%80%d0%bc%d0%b0%d0%ba%d0%be%d0%bf%d0%b5%d1%8f%202020%20%d1%821-1.pdf

SUMMARY

BRINGING THE SPECIFICATION FOR THE ACTIVE PHARMACEUTICAL SUBSTANCE TO THE REQUIREMENTS OF THE EAEU

Son A.V., teacher, **Zaitsev S.A.**, applicant
Scientific supervisor: **Basevich A.V.**, Ph.D. Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: andrew.son@pharminnotech.com

This paper describes an algorithm for bringing the specification for an active pharmaceutical ingredient (API) to the requirements of the Eurasian Economic Union (EAEU). The purpose of this approach is to form an appropriate specification based on the nature of the API, its physical and chemical properties and intended use.

Keywords: *specification, EAEU, quality indicators, API, Pharmacopoeia, drug product.*

REFERENCES

1. On approval of the Guidelines for the preparation of a regulatory document on the quality of a medicinal product: Decision of the EAEC No. 151 dated September 7, 2018 // Alta-soft [Internet] URL: https://www.alta.ru/tamdoc/18kr0151/ (Accessed 03.05.2022).

2. Development and production of API: Guideline ICH Q11 // PharmAdvisor [Internet] URL: https://database.ich.org/sites/default/files/Q11%20Guideline.pdf (Accessed 03.05.2022).

3. Pharmacopoeia of the EAEU. Volume I. Part 1. [Internet] URL: http://www.eurasiancommission.org/ru/act/texnreg/deptexreg/LSMI/Documents/%d0%a4%d0%b0%d1%80%d0%bc%d0%b0%d0%ba%d0%be%d0%bf%d0%b5%d1%8f%202020%20%d1%821-1.pdf

УДК 615.012

ПРИМЕНЕНИЕ ИНСТРУМЕНТОВ КАЧЕСТВО ЧЕРЕЗ РАЗРАБОТКУ (QbD) ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССА ЭКСТРАКЦИИ

Степанов К.С., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Сорокин В.В.**, канд. фарм. наук, доц., зав. кафедрой ПАХТ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: stepanov.konstantin@pharminnotech.com

В статье представлены результаты исследования экстрагирования травы клевера лугового. На основе проведенных экспериментов выполнена статистическая обработка и анализ собранных данных. Были определены оптимальные условия проведения процесса экстракции.

Ключевые слова: *QbD, DoE, CQA, CPP, клевер луговой, экстракция, Minitab.*

Концепция QbD (качество через разработку) позволяет закладывать научную основу в фармацевтическую разработку. Поэтому использование инструментов QbD предоставляет неоспоримые преимущества по сравнению с методами разработки путем проб и ошибок. Накопленные знания используются в совокупности и дают широкие возможности для прогнозирования и управления процессом, а также дают научную основу для принятия обоснованных решений в процессе разработки и последующего контроля качества.

Целью работы является оптимизация процесса экстракции флавоноидов из травы клевера лугового с помощью инструментов QbD программы «Minitab».

Задачами данного исследования являлись:

1. создание поверхности отклика и анализ полученной математической модели;
2. проведение оптимизации технологического процесса.

В качестве объекта исследования использовалась трава клевера лугового, изготовитель ООО «Хербес». Обработка данных была проведена в программе «Minitab». Количественное определения флавоноидов было проведено спектрофотометрическим методом на основе информации из Государственной Фармакопеи [1].

Для любого фармацевтического продукта/полупродукта можно выделить определенное число параметров, которые имеют решающее влияние на его качество. Такие параметры называют критическими атрибутами качества (CQA).

На этапе разработки необходимо доказать, что критические атрибуты качества будут постоянно удовлетворять предъявленным к ним требованиям. Для этого проводят ряд исследований, которые направленны на установление факторов, имеющих потенциальное влияние на CQA. В ходе экспериментов определяют такие факторы, а также находят их оптимальные значения и приемлемые границы изменения. Данные действия позволяют установить контроль над этими факторами. Такие факторы можно классифицировать на критические атрибуты материала (CMA) и на критическими параметрами процесса (CPP) [2, 3].

Был изучен процесс экстракции флавоноидов из травы клевера лугового. Количественное определение флавоноидов проводили спектрофотометрически по реакции со спиртовым раствором хлорида алюминия.

В качестве экстрагента использовали горячую воду. Известно, что более высокий выход флавоноидов достигается в спиртоводных извлечениях. Однако они обладают следующими недостатками: более высокая токсичность и взрывопожароопасность по сравнению с водой; для выделения флавоноидов из полученного экстракта необходимо выпаривание спирта; в спиртоводное извлечение переходит повышенное количество неполярных балластных веществ.

В рамках концепции QbD и для дальнейшего планирования экспериментов было необходимо выбрать изучаемые параметры CQA и CPP.

В качестве CQA были выбраны:

1. выход флавоноидов;
2. сухой остаток.

В качестве CPP были выбраны:

1. температура;
2. гидромодуль;
3. время экстракции;
4. скорость перемешивания;
5. добавление ПАВ (твин-80, ПЭГ-400).

Расчет параметров «выход флавоноидов» и «сухой остаток» вели в процентах по отношению к массе экстрагируемого сырья.

До начала экспериментов было сделано теоретическое предположение о влиянии рассматриваемых факторов на критические показатели качества, приведенное в таблице 1.

Таблица 1 – Предварительная оценка влияния CPP на CQA

Фактор (CPP)	CQA	
	Выход флавоноидов	Сухой остаток
Температура	Высокое	Высокое
Гидромодуль	Высокое	Высокое
Время экстракции	Высокое	Высокое
Скорость перемешивания	Среднее	-
Добавление ПАВ	Высокое	-

Однако после проведения однофакторных экспериментов, влияние факторов было пересмотрено, как показано в таблице 2.

Таблица 2 – Пересмотренная оценка влияния CPP на CQA

Фактор (CPP)	CQA	
	Выход флавоноидов	Сухой остаток
Температура	Высокое	Высокое
Гидромодуль	Высокое	Высокое
Время экстракции	Низкое	Среднее
Скорость перемешивания	Низкое	-
Добавление ПАВ	Низкое	-

Влияние факторов «Скорость перемешивания» и «Добавление ПАВ» на CQA оказалось малозначимым. Поэтому для последующего построения DoE они не рассматривались.

Скорость вращения мешалки была принята постоянной величиной, поскольку наличие перемешивания обеспечивает равномерное распределение сырья по всему объему экстрагента, а также способствует поддержанию заданных температур равномерными по объему сосуда. Что в итоге должно уменьшить возможные колебания результатов экспериментов. Была выбрана минимальная скорость мешалки, которая создаёт достаточный поток, позволяющий захватить сырьё, находящееся в начале процесса на поверхности экстрагента, и распределить его по объему сосуда.

Выбранный дизайн экспериментов и обозначения переменных показаны в таблице 3.

Таблица 3 – Сведения о переменных DoE

Фактор	Код	Единица измерения	Тип фактора	Уровень фактора
Независимые переменные				
Температура	X_1	°C	непрерывный	50, 70 и 90
Гидромодуль	X_2	мл/г	непрерывный	10, 15, 20
Время	X_3	минута	непрерывный	5, 15, 25
Переменные	**Код**	**Единицы измерения**	**Тип фактора**	**Цель**
Зависимые переменные				
Выход флавоноидов	Y_1	%	непрерывный	Максимум
Сухой остаток	Y_2	%	непрерывный	Минимум

Программа Minitab имеет возможность создавать различные виды DoE, в том числе факторные дизайны и дизайны поверхности отклика. В отличие от уравнения факторного дизайна, в уравнении поверхности отклика есть квадратичные члены, которые позволяют моделировать кривизну отклика (отклонение от линейности). Использован дизайн поверхности отклика, а именно план Бокса-Бенкена, который в отличие от центрального составного плана обычно имеет меньшее число прогонов при том же количестве факторов.

Выберем в Minitab опцию «Create Response Surface Design» (создать поверхность отклика). Построенный план экспериментов приведен в таблице 4.

Таблица 4 – План эксперимента

№	X_1	X_2	X_3
1	90	15	5
2	50	20	15
3	50	15	5
4	90	10	15
5	70	15	15
6	70	10	5
7	70	15	15
8	90	15	25
9	70	20	5
10	90	20	15
11	70	20	25
12	70	10	25
13	50	10	15
14	70	15	15
15	50	15	25

Полученные в ходе экспериментов результаты были проанализированы в Minitab с помощью функции «Analyze Response Surface Design» (анализ поверхности отклика). Результаты отображены в таблице 5.

Таблица 5 – Результат анализа поверхности отклика

Переменная		X_1	X_2	X_3	X_1^2	X_2^2	X_3^2	X_1X_2	X_1X_3	X_2X_3
Y_1	F-Value	429,66	93,48	12,91	43,93	8,00	2,66	1,73	2,16	0,90
	P-Value	0,000	0,000	0,001	0,000	0,008	0,112	0,196	0,151	0,348
	R-sq, %	94,41								
	Уравнение регрессии									
	$Y_1 = -0{,}416 + 0{,}01907\ X_1 + 0{,}02480\ X_2 - 0{,}00365\ X_3 - 0{,}000116\ X_1{*}X_1 - 0{,}000791\ X_2{*}X_2 - 0{,}000114\ X_3{*}X_3 + 0{,}000088\ X_1{*}X_2 + 0{,}000049\ X_1{*}X_3 + 0{,}000128\ X_2{*}X_3$									
Переменная		X_1	X_2	X_3	X_1^2	X_2^2	X_3^2	X_1X_2	X_1X_3	X_2X_3
Y_2	F-Value	118,94	29,80	60,36	0,06	0,11	0,58	1,68	2,24	0,52
	P-Value	0,000	0,000	0,000	0,807	0,744	0,452	0,203	0,143	0,474
	R-sq, %	85,96%								
	Уравнение регрессии									
	$Y_2 = 30{,}51 - 0{,}0017\ X_1 - 0{,}351\ X_2 - 0{,}0653\ X_3 + 0{,}000098\ X_1{*}X_1 + 0{,}00208\ X_2{*}X_2 + 0{,}00120\ X_3{*}X_3 + 0{,}00197\ X_1{*}X_2 + 0{,}001139\ X_1{*}X_3 + 0{,}00220\ X_2{*}X_3$									

Рассмотрим, какие независимые переменные оказывают статистически значимое влияние на зависимые переменные. Для них P-Value будет меньше уровня значимости, то есть меньше 0,05. Исходя из полученных значений P-Value можно утверждать, что значимыми факторами и взаимодействиями факторов являются:

• для выхода флавоноидов (Y_1):
– температура (X_1);
– гидромодуль (X_2);
– время (X_3);
– квадрат температуры (X_1^2) и квадрат гидромодуля (X_2^2);
• для сухого остатка Y_2:
– температура (X_1);
– гидромодуль (X_2);
– время (X_3).

Несмотря на то, что была доказана статистическая значимость каждого фактора из DoE, степень влияния рассматриваемых факторов различается. Это можно наглядно отобразить на графике основных эффектов, построенном при помощи Minitab (рис. 1). На нём показаны средние значения отклика для каждого уровня фактора.

Увеличение температуры оказывает наибольшее положительное влияние среди факторов и на выход флавоноидов, и на сухой остаток. Наименьшее влияние на выход флавоноидов оказывает время. Влияние гидромодуля и времени на количество сухого остатка сопоставимы, но имеют противоположное значение: к увеличению отклика приводит увеличение времени и уменьшение гидромодуля.

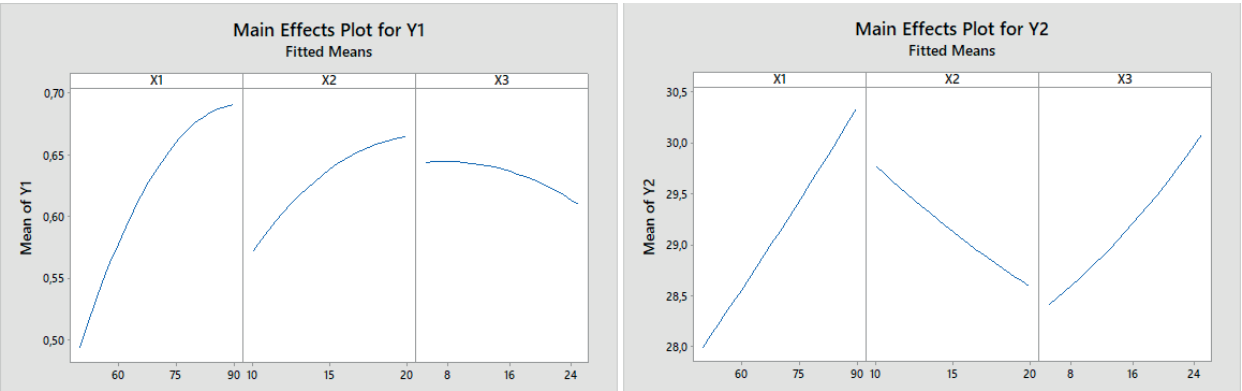


Рисунок 1. Основные эффекты для Y_1 (слева) и для Y_2 (справа)

Для нахождения оптимальных параметров экстракции (X_1-X_3) была выбрана функция «Response Optimizer» (оптимизация отклика).

Целью экстракции является выделение максимального количества целевого компонента – флавоноидов. При этом желательно, чтобы в экстракт переходило минимальное количество балластных веществ, которые можно охарактеризовать параметром количество сухого остатка.

Функция «Response Optimizer» рассчитывает индивидуальную желательность по каждому отклику с помощью функции желательности. Составная желательность – это среднее геометрическое индивидуальных желательностей откликов. Minitab определяет оптимальные значения переменных, максимизируя составную желательность.

Одни и те же факторы одновременно увеличивают и уменьшают желательность разных откликов. В нашем случае этими факторами являются температура (X_1) и время (X_3). Поэтому целесообразно проводить дополнительную настройку оптимизации с помощью изменения параметров «вес» («weight») и «важность» («importance»), которые по умолчанию принимают значения 1.

Параметр «вес» определяет, как желательность распределяется на интервале между нижней (или верхней) границей и целью. Он задает форму функции желательности, которая используется для преобразования шкалы отклика в шкалу желательности. Возможно выбирать вес для каждого отклика (от 0,1 до 10), чтобы определить, насколько важно получить целевое значение.

Параметр «важность» определяет относительную значимость данного отклика среди остальных. Важность показывает, насколько сильно каждый отклик влияет на совокупную желательность. Если одни CQA важнее других, то возможно включить эту информацию в процесс оптимизации, задав соответствующие значения важности (от 0,1 до 10). Более высокие значения соответствуют более важным откликам, меньшие значения – менее важным откликам.

Следует отметить, что неважно, какой именно параметр будет повышен: «вес» или «важность». Их отдельное изменение на одну и ту же величину приведет к одним и тем же результатам оптимизации – одинаковым CPP и CQA для данных настроек. Различие будет в форме кривой желательности и величине достигнутой желательности из-за особенностей работы параметров оптимизации.

В таблице 6 и на рисунке 2 показаны результаты оптимизации. Данная процедура была выполнена при стандартных и модифицированных значениях параметров оптимизации. Поскольку достижение максимума Y_1 более приоритетная задача, чем получение минимума Y_2, то «важность» отклика Y_1 была повышена до 10, а для Y_2 оставлена неизменной.

Таблица 6 – Результаты оптимизации

Отклик	Цель	Граничное значение отклика		Параметры оптимизации		Решение				
						CPP			CQA	
		Нижнее	Верхнее	Вес	Важность	X_1	X_2	X_3	Значение	95% CI
Y_2	Минимум	26,92	32,54	1	1	75,9	20	5,0	28,11	(27,56; 28,65)
Y_1	Максимум	0,426	0,725	1	1				0,688	(0,664; 0,712)
Y_2	Минимум	26,92	32,54	1	1	89,2	20	10,1	29,40	(28,84; 29,95)
Y_1	Максимум	0,426	0,725	1	10				0,722	(0,698; 0,747)

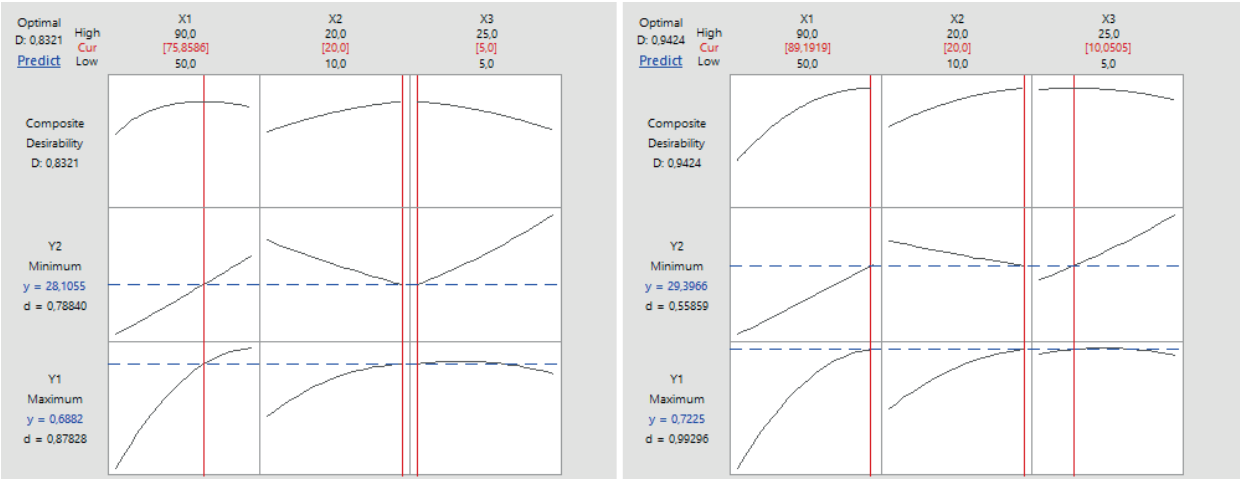


Рисунок 2. Результаты оптимизации при стандартных (слева) и модифицированных (справа) настройках

По сравнению со стандартными настройками, при увеличенной «важности» отклика Y_1 в процессе оптимизации практически не учитывается параметр «сухой остаток». Это заметно по факторам температуры (X_1) и времени (X_3).

Фактор X_1 принял значение, максимально близкое к своему верхнему пределу, пренебрегая целью оптимизации отклика Y_2. А фактор X_3 переместился в точку, совпадающее с максимумом функции желательности Y_1. Однако, после модификации «важности», изменение «сухого остатка» с 28,11% до 29,40% не имеет существенного влияния на качество экстракта. Поэтому результат оптимизации с увеличенной «важносью» Y_1 можно считать справедливым.

Воспользуемся полученными в таблице 6 данными. Проведем опыты при найденных оптимальных условиях (X_1= =89 °C, X_2=20 мл/г и X_3=10 минут). Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Результат проверки предложенной модели

Отклик	Расчётное значение	Экспериментальное значение				Ошибка, %			
		1	2	3	Среднее	1	2	3	Среднее
Y_1	0,723	0,761	0,769	0,743	0,758	5,26	6,36	2,77	4,79
Y_2	29,40	28,80	29,11	29,51	29,14	-2,04	-0,99	0,37	-0,88

Результаты экспериментов показали, что среднее значение ошибки для отклика «выход флавоноидов» составило 4,8%, а для отклика «сухой остаток» -0,9%. Ошибка каждого отдельного измерения отклика не превышала 7%.

В результате проведенного исследования были определены CPP и CQA для экстракции флавоноидов из травы клевера лугового. В программе «Minitab» был создал дизайн экспериментов Бокса-Бенкена, на основании которого были собраны данные и проведена их статистическая обработка. На основе анализа модели поверхности отклика определены статистически значимые факторы и степень их влияния на CQA. Были найдены оптимальные условия проведения экстракции: температура (X_1) 89 °C, гидромодуль (X_2) 20 мл/г, и время экстракции (X_3) 10 минут.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея РФ. Т. 2. XIV изд. 2018. [Электронное издание]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/

2. Pharmaceutical development Q8(R2) / ICH Harmonised Tripartite Guideline. [Internet] URL: https://database.ich.org/sites/default/files/Q8_R2_Guideline.pdf

3. Solid Oral Dose Process Validation / A. Pazhayattil [et al.] // AAPS Introductions in the Pharmaceutical Sciences. 2018. Vol. 1. 133 p. DOI 10.1007/978-3-030-02472-7

SUMMARY

APPLICATION OF QbD TOOLS TO OPTIMIZE THE EXTRACTION PROCESS

Stepanov K.S., 2st year master student
Scientific supervisor: **Sorokin V.V.**, Candidate of Pharmacy,
chairholder of the Department of Processes and Apparatus of Chemical Technology
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: stepanov.konstantin@pharminnotech.com

The article presents the results of a study of the extraction of red clover. Statistical processing of the collected experimental data was carried out and the optimal conditions of the extraction process were determined.

Keywords: *QbD, DoE, CQA, CPP, red clover, extraction, Minitab.*

REFERENCES

1. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Vol. 2. XIV ed. 2018. [Internet]. URL.: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (in Russian.)

2. Pharmaceutical development Q8(R2) / ICH Harmonised Tripartite Guideline. [Internet] URL: https://database.ich.org/sites/default/files/Q8_R2_Guideline.pdf

3. Solid Oral Dose Process Validation / A. Pazhayattil [et al.] // AAPS Introductions in the Pharmaceutical Sciences. 2018. Vol. 1. 133 p. DOI 10.1007/978-3-030-02472-7

УДК 61:615.2

АЭРОЗОЛЬ ЩЕЛОЧНОГО РАСТВОРА ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА ДЛЯ ИНГАЛЯЦИИ КАК НОВОЕ ОТХАРКИВАЮЩЕЕ СРЕДСТВО. ПОВЕСТВОВАТЕЛЬНЫЙ ОБЗОР

Столяренко А.П., студ. 5 курса (ORCID: 0000-0002-0439-6546)
Руководитель: **Ураков А.Л.**, д.м.н., профессор (ORCID: 0000-0002-9829-9463)
Ижевская Государственная Медицинская Академия
426034, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281, Российская Федерация
E-mail: stolyarenkoanastasia19@gmail.com

Многие респираторные заболевания сопровождаются скоплением мокроты и гноя в просвете дыхательных путей, трудностью их отхаркивания, что приводит к развитию бронхообструктивного синдрома, нарушению легочной ок-

сигенации крови и гипоксии. Помочь пациентам с тяжелой респираторной обструкцией, а также при респираторном дистресс синдроме, возникающем при атипичной пневмонии, вызванной COVID-19 может разработка эффективных отхаркивающих средств для экстренной реканализации дыхательных путей.

Целью работы является систематизация сведений об отечественных разработках новой группы лекарственных средств, обладающей отхаркивающей и муколитической активностью.

Результаты работы показали, что российским ученым удалось сделать огромный шаг в разработке пиолитических, муколитических, гемолитических лекарственных средств для помощи пациентам в различных областях медицины, в том числе – пульмонологии.

Ключевые слова: *аэрозоль, перекись водорода, гидрокарбонат натрия, кислород, гипоксия, бронхообструктивный синдром.*

Нередко заболевания легких сопровождаются скоплением в дыхательных путях слизи, гноя, лимфы и крови, которые становятся причиной респираторной обструкции и гипоксии. В этих условиях классические отхаркивающие средства недостаточно эффективны, особенно при остром респираторном дистресс синдроме (ОРДС), вызванном COVID-19. Неэффективными являются и традиционные технологии применения существующих отхаркивающих и муколитических лекарственных средств [1]. В связи с этим единственным средством сохранения жизни пациентов в критических ситуациях, вызванных ОРДС, остается экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЭКМО).

Тем не менее, в последние годы исследователи России открыли новую группу лекарственных средств, обладающую новым механизмом отхаркивающего, пиолитического, муколитического и гемолитического действия, а также новую технологию их применения с целью экстренной реканализации дыхательных путей и внутрилегочной оксигенации крови.

Целью работы является систематизация сведений об истории отечественной разработки новой группы лекарственных средств.

Показано, что в начале 21 века, группой отечественных ученых под руководством профессора А.Л.Уракова были обнаружены уникальные свойства щелочных растворов перекиси водорода при их местном применении. Дальнейшее изучение новых физико-химических свойств щелочных растворов перекиси водорода позволило установить, что растворы перекиси водорода в комбинации с гидрокарбонатом натрия в диапазоне концентраций 0,01-3% и 1,2-10% соответственно обладают высокой фармакологической активностью в отношении биологических масс, содержащих фермент каталазу. На основе этого открытия были созданы две новые группы лекарственных средств. Сначала была разработана группа препаратов для срочного разжижения густого липкого гноя. Эта группа средств получила название «растворители гноя». В последствии было показано, что эта группа средств способна растворять и обесцвечивать не только гной, но также густую слизь и мокроту с прожилками крови. Затем была разработана группа препаратов для обесцвечивания синяков и пятен крови. Эта группа средств получил название «отбеливатели кровоподтеков» [2, 3].

Установлено, что эффективность растворов перекиси водорода и гидрокарбоната натрия основана на их способности разрыхлять, разжижать и растворять густую слизь, гной с прожилками крови и другие биологические массы, содержащие фермент каталазу, за счет процесса «холодного кипения», происходящего в результате разложения перекиси водорода под действием фермента каталазы на воду и газ кислород. Гидрокарбонат натрия, входящий в состав водных растворов перекиси водорода, придает раствору щелочную активность и способствует омылению белково-липидных комплексов слизи и гноя. Благодаря описанной физико-химической активности происходит разрушение слизи, гноя, мокроты с прожилками крови и превращение их в мягкую кислородную пену [4, 5].

Дальнейшее изучение свойств щелочных растворов перекиси водорода позволило установить возможность их применения в различных областях медицины. Так, различные модификации оригинальных растворов перекиси водорода и гидрокарбоната натрия показывают эффективность их применения при лечении гнойных заболеваний, для растворения слезных камней и серных пробок, кроме этого они могут быть использованы в стоматологии в качестве антисептических гигиенических средств при санации твердых и мягких тканей полости рта, для удаления зубного налета, отбеливания зубов, в роли безопасных чистящих и отбеливающих средств в стоматологии. А также указанные средства показаны для обесцвечивания синяков, гематом, пятен крови на коже и одежде и для быстрого и безопасного отклеивания бинтов, прилипших к раневой поверхности [6-8].

Принимая во внимание то, что на сегодняшний день лидирующие позиции в структуре заболеваемости во всем мире занимают заболевания дыхательной системы, хочется подчеркнуть возможность применения новых отечественных лекарственных средств при санации хронических очагов гнойного воспаления в верхних дыхательных путях при тонзиллите, бронхите, бронхоэктатической болезни, острых респираторных заболеваний, в том числе новой коронавирусной инфекции COVID-19 [9-11].

Таким образом, благодаря открытию нового механизма местного действия щелочных растворов перекиси водорода эти растворы стали основой для разработки новой группы пиолитических, муколитических и гемолитичсеких средств для местного применения в пульмонологии.

Причиной заболеваний дыхательных путей могут являться вирусные инфекции, аномалии развития, бактериальные, грибковые инфекции, а также гельминтозы. В большинстве случаев они сопровождаются скоплением различного по составу экссудата в просвете дыхательных путей, который в сочетании с нарушением мукоцилиарного клиренса становится причиной резкого сужения просвета дыхательных путей с развитием синдрома респираторной обструкции. Закупорка дыхательных путей слизью, гноем с прожилками крови, казеозными массами или продуктами жизнедеятельности личинок гельминтов нарушает проходимость дыхательных путей для дыхательных газов, в том числе для кислорода, что

приводит к резкому снижению адекватной легочной вентиляции, недостаточности легочного газообмена и вызывает гипоксию. Дыхательная недостаточность, возникающая при бронхолегочной обструкции, в особенности при сочетании с острым респираторным дистресс синдромом может стать причиной различных нарушений органов и систем организма, наиболее опасным из которых является гипоксическое повреждение клеток головного мозга, которое может перейти в необратимую стадию и привести к смерти пациента [10, 12].

Для сохранения жизни пациента в настоящее время применяется искусственная вентиляция легких, однако она бывает недостаточно эффективна, так как из-за бронхиальной обструкции кислород не поступает в альвеолы и адекватной легочной оксигенации крови не происходит. Тогда единственным методом спасения пациента становится экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЭКМО) [13, 14]. Однако данная процедура имеет множество ограничений, так как она сама по себе очень опасна для пациента, а также является дорогостоящей.

Было установлено, что для повышения эффективности легочной вентиляции и устранения гипоксии необходимо срочно восстановить приток кислорода к альвеолам путем удаления слизистых, гнойных и других биологических масс из просвета дыхательных путей. Таким образом разработка средств для реканализации дыхательных путей и повышения эффективности легочной оксигенации крови стала новым направлением для дальнейшего развития отечественных лекарственных средств на основе оригинальных щелочных растворов перекиси водорода.

Эффективность и безопасность щелочных растворов перекиси водорода легла в основу возможности их местного воздействия на густое содержимое дыхательных путей при бронхолегочной обструкции. Было установлено, что местное действие на содержимое просвета дыхательных путей может быть обеспечено путем ингаляционного введения этих средств, что позволит мельчайшим частицам раствора взаимодействовать с биологическими жидкостями, находящимися в бронхах крупного, среднего и мелкого калибра, бронхиолах и даже альвеолах. На основании уникальной активности щелочных растворов перекиси водорода и современных возможностей доставки активного вещества в просвет бронхо-легочного дерева в 2020 году был изобретен «Аэрозоль для ингаляций при обструктивном бронхите» (RU 2735502 C1), предназначенный для ингаляционного применения при респираторной обструкции [15]. Указанное изобретение включает в себя ингаляционное введение микрочастиц в диапазоне 0,5-2 мкм путем разбрызгивания или дисперсного распыления с помощью ультразвуковых, компрессионных и струйных ингаляторов и небулайзеров раствора перекиси водорода, гидрокарбоната натрия и лидокаина гидрохлорида, содержащихся при следующем соотношении (мас.%): натрия гидрокарбонат – 1,2; перекись водорода – 0,3-0,5; лидокаина гидрохлорид – 0,5; вода дистиллированная – остальное, при pH 8,5, осмотической активности 280-300 мосмоль/л воды и локальной температуре +41-+55°C. Проникновение указанного раствора в дистальные участки бронхиального дерева, а также в мельчайшие структуры легочной ткани, такие как альвеолы, обеспечивает его взаимодействие с биологическими жидкостями в просвете дыхательных путей с целью немедленного увеличения содержания в них газа кислорода, благодаря механическому разрыхлению и разжижению слизи, мокроты и гноя с превращением их в пушистую кислородную пену, которая легко выводится из дыхательных путей посредством откашливания или отсасывания. Кроме этого, указанный аэрозоль оказывает обеззараживающее и дезодорирующее действие и уменьшает отек слизистой оболочки дыхательных путей за счет гиперосмотической активности.

Дальнейшее развитие направления разработки новых отхаркивающих, пиолитических и муколитических средств привело к разработке новых лекарственных средств. Основой их остается теплый раствор перекиси водорода и гидрокарбоната натрия.

В частности, в период пандемии COVID-19 был разработан аэрозоль щелочного раствора перекиси водорода, который может быть использован в качестве отхаркивающего, пиолитического, муколитического и гемолитического средства местного действия при тяжелом обструктивном бронхите, сопровождающем атипичную пневмонию, вызванную новой коронавирусной инфекцией COVID-19, способного экстренно повышать эффективность легочной оксигенации при искусственной легочной вентиляции при COVID-19 [16].

Систематизация сведений об отечественной разработке показала, что за годы исследований в области фармакологической активности щелочных растворов перекиси водорода российским ученым удалось достичь высоких результатов в сфере лечения многих заболеваний хирургического, стоматологического, отоларингологического и пульмонологического профиля. Огромный шаг сделан в направлении новой группы лекарственных средств, обладающих отхаркивающим, муколитическими, пиолитическими, гемолитическим и антисептическими действием на биологические массы, содержащие фермент каталазу. Эта группа лекарственных средств предназначена для оказания помощи пациентам с тяжелой степенью респираторной обструкции, в том числе при остром респираторном дистресс синдроме при атипичной пневмонии, вызванной новой коронавирусной инфекцией.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.00 Фармакология
76.31.29 Клиническая фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Ураков А.Л., Шабанов П.Д. Острый респираторный синдром-2 (SARS-CoV-2): раствор перекиси водорода и гидрокарбоната натрия как отхаркивающее средство для реканализации дыхательных путей и оксигенации крови при респираторной обструкции (обзор научной и патентной литературы) // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2021. Т. 19. N 4. С. 383-393. https://doi.org/10.17816/RCF194383-393.

2. Ураков А.Л. Растворители гноя как новые лекарственные средства с уникальными физико-химическими свойствами // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2019. Т.17. N 4. С. 89-95. https://doi.org/10.17816/RCF17489-95

3. Отбеливатели кровоподтеков. Новая фармакологическая группа лекарственных средств / А.Л. Ураков [и др.] // Успехи современного естествознания. 2015. N 1. Ч. 7. С. 1102-1107.

4. Current and emerging methods for treatment of hemoglobin related cutaneous discoloration: a literature review / A. Urakov [et al.] // Heliyon. 2021. Vol. 7(1). P. e059542. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05954.

5. Bodduluri V.P., Гуревич К.Г., Ураков А.Л. Физико-химические свойства антисептических средств: что мы не учитываем в лечении длительно незаживающих ран // Креативная хирургия и онкология. 2021. Т. 11. N 3. С.256–259. https://doi.org/10.24060/2076-3093-2021-11-3-256-259

6. Medications for dissolving thick mucus and pus in the respiratory, vision and hearing organs / A.L. Urakov [et al.] // Journal of Bio Innovation. 2020. Vol. 9(6). P. 1212-1218. https://doi.org/10.46344/JBINO.2020.v09i06.09

7. Ураков А.Л., Альес М.Ю., Шабанов П.Д. Способ применения раствора для удаления зубного налета с помощью ирригатора: Патент России N 2723138 C1. 09.06.2020. Бюл. N 16.

8. Urakov A., Urakova N., Reshetnikov A. Oxygen alkaline dental's cleaners from tooth plaque, food debris, stains of blood, and pus: a narrative review of the history of inventions // Journal of international society of preventive and community dentistry. 2019. Vol. 9(5). P. 427-433. https://doi.org/ 10.4103/jispcd.JISPCD_296_19.

9. Urakov A, Urakova N. Recent Insights into the Management of Inflammation in Asthma [Letter] // Journal of Inflammation Research. 2021. Vol. 14. P. 4603-4604 https://doi.org/10.2147/JIR.S337690.

10. COVID-19: Thick Pus, Mucus and Sputum with Streaks of Blood as a Cause of Airway Obturation in SARS and Oxygen-Foaming Pus Solvent as a Medicine for their Recanalization / A.L. Urakov [et al.] // Acta Scientific Women's Health. 2021. Vol. 3(5). P. 75-77. https://doi.org/10.31080/aswh.2021.03.0221

11. Ураков А.Л., Уракова Н.А. COVID-19: оптимизация биомеханики дыхания аэрозолем растворителя гноя // Российский журнал биомеханики. 2021. Т. 25. N 1. С. 99-104. https://doi.org/10.15593/RJBiomech/2021.1.07

12. Rheological analysis of sputum from patients with chronic bronchial diseases / J. Patarin [et al.] // Scientific reports. 2020. Vol. 10(1). P. 15685. https://doi.org/10.1038/s41598-020-72672-6

13. Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) in Critically Ill Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia and Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) / X. Ma [et al.] // Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. 2020. Vol. 26. P. e925364. https://doi.org/10.12659/MSM.925364

14. Extracorporeal Oxygenation Techniques in Adult Critical Airway Obstruction: A Review / M. Pořízka [et al.] // Prague medical report. 2021. Vol. 122(2). P. 61–72. https://doi.org/10.14712/23362936.2021.7

15. Аэрозоль для ингаляций при обструктивном бронхите: Патент России 2735502 C1. 03.11.2020. Бюл. N 31.

16. Ураков А.Л., Уракова Н.А. Аэрозоль для инвазивной механической вентиляции легких при COVID-19: Патент России N 2742505 C1. 08.02.2021. Бюл. N 4.

SUMMARY

AN AEROSOL OF AN ALKALINE SOLUTION OF HYDROGEN PEROXIDE FOR INHALATION AS A NEW EXPECTORANT. NARRATIVE REVIEW

Stolyarenko A.P., 5th year student (ORCID: 0000-0002-0439-6546)
Scientific supervisor: **Urakov A.L.**, MD, Professor (ORSID: 0000-0002-9829-9463)
Izhevsk State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation
281, Kommunarov str., Izhevsk, 426034, Russian Federation
E-mail: stolyarenkoanastasia19@gmail.com

Many respiratory diseases are accompanied by the accumulation of sputum and pus in the lumen of the respiratory tract, the difficulty of expectoration, which leads to the development of bronchoobstructive syndrome, violation of pulmonary oxygenation of blood and hypoxia. The development of effective expectorants for emergency recanalization of the respiratory tract can help patients with severe respiratory obstruction, as well as with respiratory distress syndrome that occurs with atypical pneumonia caused by COVID-19.

The aim of the work is to systematize information about domestic developments of a new group of medicine with expectorant and mucolytic activity.

The results of the work showed that Russian scientists have managed to make a huge step in the development of pyolytic, mucolytic, hemolytic drugs to help patients in various fields of medicine, including pulmonology.

Keywords: *aerosol, hydrogen peroxide, sodium bicarbonate, oxygen, hypoxia, bronchoobstructive syndrome.*

REFERENCES

1. Urakov A.L., Shabanov P.D. Acute respiratory syndrome-2 (SARS-CoV-2): A solution of hydrogen peroxide and sodium bicarbonate as an expectorant for recanalization of the respiratory tract and blood oxygenation in respiratory obstruction (review) // Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. 2021. Vol. 19(4). P. 383–393. https://doi.org/10.17816/RCF194383-393. (in Russian)

2. Urakov A.L. Pus solvents as new drugs with unique physical and chemical properti // Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. 2019. Vol. 17(4). P. 89-95. https://doi.org/10.17816/RCF17489-95 (in Russian)

3. Bleach bruises. A new pharmacological group of medicines / A.L. Urakov [et al.] // Successes of modern natural science. 2015. N 1(7). P. 1102-1107 (in Russian)

4. Current and emerging methods for treatment of hemoglobin related cutaneous discoloration: a literature review / A. Urakov [et al.] // Heliyon. 2021. Vol. 7(1). P. e059542. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05954.

5. Bodduluri V.P., Gurevich K.G., Urakov A.L. Physico-Chemical Properties of Antiseptics in Surgery: What is not Taken into Account in Treating Long-Term Non-Healing Wounds // Creative Surgery and Oncology. 2021. Vol. 11(3). P. 256–259. https://doi.org/10.24060/2076-3093-2021-11-3-256-25 (in Russian)

6. Medications for dissolving thick mucus and pus in the respiratory, vision and hearing organs / A.L. Urakov [et al.] // Journal of Bio Innovation. 2020. Vol. 9(6). P. 1212-1218. https://doi.org/10.46344/JBINO.2020.v09i06.09

7. Urakov A.L., Ales M.Yu., Shabanov P.D. Method of using plaque removal solution with irrigation agent. Patent RU 2723138 C1. 09.06.2020. Bull. N 16. (in Russian)

8. Urakov A., Urakova N., Reshetnikov A. Oxygen alkaline dental's cleaners from tooth plaque, food debris, stains of blood, and pus: a narrative review of the history of inventions // Journal of international society of preventive and community dentistry. 2019. Vol. 9(5). P. 427-433. https://doi.org/ 10.4103/jispcd.JISPCD_296_19.

9. Urakov A, Urakova N. Recent Insights into the Management of Inflammation in Asthma [Letter] // Journal of Inflammation Research. 2021. Vol. 14. P.4603-4604 https://doi.org/10.2147/JIR.S337690.

10. COVID-19: Thick Pus, Mucus and Sputum with Streaks of Blood as a Cause of Airway Obturation in SARS and Oxygen-Foaming Pus Solvent as a Medicine for their Recanalization / A.L. Urakov [et al.] // Acta Scientific Women's Health. 2021. Vol. 3(5). P. 75-77. https://doi.org/10.31080/aswh.2021.03.0221

11. Urakov A.L., Urakova N.A. COVID-19: optimization of respiratory biomechanics by aerosol pus solvent // Russian Journal of Biomechanics. 2021. Vol. 25(1). P. 99-104. https://doi.org/10.15593/RJBiomech/2021.1.07 (in Russian)

12. Rheological analysis of sputum from patients with chronic bronchial diseases / J. Patarin [et al.] // Scientific reports. 2020. Vol.10(1). P. 15685. https://doi.org/10.1038/s41598-020-72672-6

13. Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) in Critically Ill Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia and Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) / X. Ma [et al.] // Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. 2020. Vol. 26. P. e925364. https://doi.org/10.12659/MSM.925364

14. Extracorporeal Oxygenation Techniques in Adult Critical Airway Obstruction: A Review / M. Pořízka [et al.] // Prague medical report. 2021. Vol. 122(2). P. 61–72. https://doi.org/10.14712/23362936.2021.7

15. Aerosol for inhalations in obstructive bronchitis: Patent RU 2735502 C1. 03.11.2020. Bull. N 31. (in Russian)

16. Urakov A.L., Urakova N.A. Aerosol for invasive mechanical ventilation in COVID-19: Patent RU 2742505 C1. 08.02.2021. Bull. N 4. (in Russian)

УДК 581.14

ФИТОГОРМОНЫ РАСТЕНИЙ

Темная Ю.А., Медведева С.С., студ. 2 курса
Руководитель: **Пивоварова Н.С.**, к. фарм. н., доцент (ORCID: ID: 0000-0003-3020-8526)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: yuliya.temnaya@spcpu.ru

В статье представлен краткий обзор основных фитогормонов, их механизм действия на рост и развитие растений, химическую природу и практическое применение. Приведены основные сведения о фитогормонах. Показанаих роль в процессе жизнедеятельности растений.

Ключевые слова: *фитогормоны, гормоны, ткань, растения, ауксины, гиббереллины.*

Общеизвестным фактом является то, что жизнь животных контролируется нервной системой и гормонами, однако далеко не все знают, что и существование растений также контролируется гормонами. Фитогормоны играют определяющую роль в жизнедеятельности растений, и их использование для регуляции роста растений является одним из актуальных направлений в научных исследованиях и находит широкое применение (то есть, возможно практическое применение, например, в сельском хозяйстве).

Цель работы: дать общий обзор о гормонах растений, объяснить механизм их действия.

Основная задача работы: привести информацию об основных группах фитогормонов растений, об их химической природе и химических свойствах, а также о механизмах действия, и как механизмы действия фитогормонов влияют на рост и развитие растений.

В современной биотехнологии особое внимание уделяется разработке и применению специальных препаратов для регулирования развития и роста культурных растений. Их используют в генной инженерии, при выведении и повышении урожайности бессемянных сортов. Они способствуют дозреванию семян и плодов в процессе хранения после уборки урожая.

Фитогормоны – органические соединения различной химической природы, которые синтезируют специализированные ткани высших растений и в низких концентрациях проявляют регуляторное влияние на процессы онтогенеза, координируют рост и развитие растений. Они участвуют в формировании корневой системы, семенах, цветении, созревании плодов, увядании или переходе в зимний сон. Весной гормоны «оживляют» все функции растения, восстанавливают вегетацию. Помимо этого, гормоны способствуют укреплению иммунной системы растений, активируют сопротивляемость патогенным микроорганизмам и устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды [1].

Фитогормоны менее специфичны, чем гормоны животных. Они проявляют однотипное действие на одни и те же метаболические процессы:

1) Растяжение клеток или подавление клеточного роста за счет торможения ионного транспорта;
2) Влияние на синтез ферментов и их активность; изменение проницаемости мембран растительных клеток;
3) Активация или же, наоборот, ингибирование процессов биосинтеза РНК и белка.

В настоящее время известно семь групп фитогормонов:

1) Ауксины;
2) Гиббереллины;
3) Цитокинины;
4) Абсцизовая кислота;
5) Этилен;
6) Брассиностероиды;
7) Фузикокцины;

Проанализировав материалы учебной литературы [2], мы составили таблицу по основным группам фитогормонов.

Таблица – Основные группы фитогормонов

Название	Основные сведения
Ауксины	Были открыты в 20-е годы XX века как фактор тропизмов растений. Химическая природа – индолил-3-уксусная кислота (ИУК). Стимулируют образование корневой системы у черенков, применяют при выращивании плодовых деревьев – для удаления избыточных завязей, при выращивании зерновых культур – для уничтожения сорняков
Гиббереллины	Были открыты в 1926 г. В 1938 г. в Японии они были выделены как продукты патогенного гриба *Gibberellafujjcuroi*, которые вызывают чрезмерный вегетативный рост риса. Химическая природа – дитерпеноиды, состоящие из четырех изопреновых остатков. Известно около 70 представителей, в т.ч. 45 – выделены из растений. Применяют для повышения урожайности некоторых сортов винограда, для защиты ягод от фитопатогенных грибов. Способны выводить семена и клубни из состояния покоя.
Цитокинины	Были открыты в 1955 г. как факторы, стимулирующие деление клеток. Известно 13 представителей. Химическая природа – производные 6-аминопурина. Задерживают старение листьев, регулируют формирование хлоропластов, повышают устойчивость клеток растений к неблагоприятным воздействиям (повреждающим температурам, недостатку воды, повышенной засоленности, рентгеновскому излучению, воздействию пестицидов). Способны выводить семена и клубни из состояния покоя.
Абсцизовая кислота (АБК)	Выделена в 1964 г. из молодых коробочек хлопчатника. Химическая природа – секвитерпен, синтезируется из мевалоновой кислоты во всех органах растений. Является антагонистом других фитогормонов. Обладает мощным ингибиторным действием – ускорят распад нуклеиновых кислот, белков, хлорофилла. Инициирует синтез стрессовых белков. Они ответственны за обезвоживание семян, что обеспечивает их покой
Брассиностероиды	Химическая природы – стероиды. Регулирует рост семяпочки, стимулирует ее развитие и образование семян; стимулируют устойчивость к стрессам и грибным заболеваниям.
Этилен	Бесцветный газ, растворимый в воде. В 1901 г. Д.Н. Нелюбов из Петербургского университета сообщил о том, что этилен, входящий в состав светильного газа, стимулирует опадение листьев и нарушает фототропизм проростков гороха. В 1934 г. этиле был обнаружен в газообразных выделениях хранящихся яблок. Это послужило основанием для того, чтобы считать его фитогормоном. Его синтезируют грибы и высшие растения. По мере старения тканей синтез этилена увеличивается. Этот гормон стимулирует процессы опадания листьев и плодов. Этилен и его производные применяют для ускоренного созревания плодов. Разработан препарат э с т р е л, который при попадании в растение выделяет этилен. Эстрел применяют для регуляции созревания томатов, вишен и других овощей и фруктов. Стимулирует образование абсцизовой кислоты.
Фузикокцины	Химическая природа – стероиды. Выводит семена из состояния покоя, ускоряет их прорастание.

По характеру влияния на развитие растений фитогормоны можно разделить на два вида:

1. Стимуляторы – стимулируют рост клеток и ускоряют процесс.
2. Ингибиторы – вещества, замедляющие биохимические реакции.

Фитогормоны всегда несут в себе сразу несколько функций. Конечный результат воздействия на процесс развития растений (стимуляция или замедление) зависит от нескольких факторов:

1) концентрации вещества;

2) Внешние условия на момент обработки растений.

Поэтому, деление на ингибиторы и стимуляторы несколько условно.

Например, ауксины активно синтезируются в растущих зародышах, в самых верхушках побегов и молодых листочках. Они способствуют пробуждению и быстрому прорастанию семян, стимулируют рост верхушечной почки и тормозят развитие пазушных побегов. При высоких концентрациях ауксины повышают выработку фитогормона этилена, который тормозит процессы роста. Также он переключает обмен веществ на выработку ферментов, которые отвечают за защитные функции и определяют аромат и окраску лепестков. В то же время, этилен стимулирует дозревание семян и плодов.

Другой гормон – ингибитор, абсцизовая кислота. Она вызывает переход в состояние покоя, останавливает все процессы роста с наступлением низких температур, а также блокирует поступление хлоропластов.

Гиббереллины активно влияют на цветение растений, образование и развитие завязей. Высокая концентрация этих фитогормонов придает растениям партенокарпические свойства (способность к самоопылению).

Фитогормоны активно влияют на синтез, распад, а также на транспорт друг друга. Поэтому изменение уровня одного фитогормона приводит к изменению общей фитогормональной системы. Мы рассмотрели статью [3] и изучили информацию учебного материала [4].

Механизм действия фитогормонов в основных чертах и даже во многих молекулярных «деталях» схож с механизмом действия гормонов животных, но, к сожалению, менее изучен.

Чувствительные клетки воспринимают гормон благодаря специфическим рецепторам, расположенным главным образом на плазматической мембране. Рецепторы меняют конформацию (пространственную форму) после взаимодействия с гормоном и тем или иным способом передают сигнал внутрь клетки.

Как и у животных, передатчиками сигнала (вторичными посредниками) у растений могут быть каскады протеинкиназ/протеинфосфатаз, фосфоинозит, диацилглицерин, фосфатидные и жирные кислоты, кальций, циклические нуклеотиды, оксид азота, перекись водорода. Гормональный сигнал, проходя по определенному пути вплоть до эффекторных структур, усиливается во много раз.

Конечной мишенью фитогормонов в клетке являются гены, причем, в зависимости от типа фитогормона и типа ткани, активируется или репрессируется тот или иной набор чувствительных (компетентных) генов. При воздействии фитогормонов на гены-мишени происходит образование или, наоборот, исчезновение соответствующих ферментов. Хотя специфичные гены составляют малую долю от общего количества активных генов, изменения их активности достаточно для включения или выключения метаболической программы, контролируемой фитогормоном.

В связи с важным и многообразным действием на рост и морфогенез растений, фитогормоны и их аналоги активно исследуются и применяются в биотехнологии и сельском хозяйстве.

Фитогормоны (ауксины и цитокинины) необходимы для выращивания клеточных и каллусных линий в стерильной культуре и при получении трансгенных растений, об этом написана более подробная статья «Содержание цитокинина в течение ранних стадий бобоворизобиального симбиоза и влияние гипотермии». Ауксины и их аналоги часто используют для предотвращения предуборочного опадения плодов, а также для укоренения черенков при вегетативном размножении растений.

Этилен-продуценты (вещества, при разложении которых в тканях растения образуется этилен) применяют для ускорения созревания плодов и облегчения их уборки, а также для дефолиации хлопчатника, усиления истечения латекса у деревьев гевеи и многих других целей.

Действие многих ретардантов (так называются вещества, которые тормозят рост растений в высоту), широко используемых для предотвращения полегания злаков, основано на подавлении синтеза эндогенных гиббереллинов в растении. Но если посмотреть с другой стороны, обработка гиббереллинами индуцирует зацветание многих растений, а также позволяет резко увеличивать урожай бессемянного винограда. В последние годы получены трансгенные формы культурных растений с измененным метаболизмом фитогормонов.

Большую известность получили долгохранящиеся формы томатов с подавленным биосинтезом этилена. Работы по созданию растений с направленными изменениями системгормональной регуляции имеют огромные перспективы для получения новых форм полезных растений, так как такой селективный вывод позволяет избавиться от нежелательных свойств у растений и усиливать их полезное действие.

Изучение фитогормонов дает ключ к пониманию регуляции роста и развития, а также многих других процессов в жизни растений. Исследование свойств фитогормонов легло в основу нового направления физиологии растений – культуры изолированных клеток, тканей и органов. Проанализировав материалы [5], мы пришли к следующим выводам:

1) Фитогормоны находят существенное применение в сельском хозяйстве и биотехнологии. Особенно обширное применение они нашли в сельском хозяйстве, о чем нам говорит статья «Роль фитогормонов в регуляции устойчивости семян пшеницы, ржи и тритикале к действию повышенных температур при прорастании».

2) Новейшие достижения в области изучения механизма действия фитогормонов привели к открытию рецепторов некоторых из них, хотя в этом направлении еще предстоит большая работа, необходимая для выяснения систем рецепции и передачи гормональных сигналов в клетках растений. Это нужно как для разработки теоретических основ регуляции жизни растений, так и для практического применения научных результатов в генной инженерии, биотехнологии и сельском хозяйстве.

Говоря другими словами, фитогормоны растений имеют важную роль и широко применяются в сельском хозяйстве и промышленности.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.09.37 Растительное сырье
62.09.99 Прочие виды биотехнологического сырья
62.33.29 Культивирование растительных клеток и тканей
34.29.01 Общие вопросы
34.31.33 Культура тканей и органов растений
34.31.27 Рост и развитие растений

ЛИТЕРАТУРА

1. Акимова Г.П., Соколова М.Г. Содержание цитокинина в течение ранних стадий бобоворизобиального симбиоза и влияние гипотермии // Физиология растений. 2012. Т. 59. N 5. С. 694-700.
2. Елинов Н.П. Основы биотехнологии СПб.: Наука, 1995.
3. Глянько А.К. Фитогормоны и клубенькообразование у бобовых растений // ВісникХарківськогонаціонального аграрного університету. Серія :Біологія. 2015. Вип. 3. С. 6-19
4. Кулаева О.Н., Прокопцева О.С. Новейшие достижения в изучении механизма действия фитогормонов // Биохимия. 2004. Т. 69. С. 293-295.
5. Кулаева О.Н. Физиология растений. 1995. Т. 42. 661 с

SUMMARY

PLANT PHYTOHORMONES

Temnaya Y.A., Medvedeva S.S., 2th year student
Scientific supervisor: **Pivovarova N.S**., Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor,
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: yuliya.temnaya@spcpu.ru

The article provides a brief overview of the main phytohormones, their mechanism of action on plant growth and development, chemical nature and practical application. The basic information about phytohormones is given. Their role in the process of plant life is shown.
Keywords: *phytohormones, hormones, tissue, plants, auxins, gibberellins.*

REFERENCES

1. Akimova G.P., Sokolova M.G. Cytokinin content during the early stages of bean-rhizobial symbiosis and the effect of hypothermia // Plant physiology. 2012. Vol. 59(5). P. 694-700. (in Russian)
2. Elinov N.P. Fundamentals of biotechnology. St. Petersburg: Nauka, 1995. (in Russian)
3. Glyanko A.K. Phytohormones and nodule formation in leguminous plants // Bulletin of the Kharkiv National Agrarian University. Series: Biology. 2015. Vip. 3. P. 6-19
4. Kulaeva O.N., Prokoptseva O.S. The latest achievements in the study of the mechanism of action of phytohormones // Biochemistry. 2004. Vol. 69. P. 293-295. (in Russian)
5. Kulaeva O.N. Plant physiology. 1995. Vol. 42. 661 p. (in Russian)

УДК 66.099.2

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ БЫСТРОРАСТВОРИМОГО НАПИТКА, ОБЛАДАЮЩЕГО ГАСТРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Тирон Т.П., студ. 4 курса
Руководители: **Флисюк Е.В.**, докт. фарм. наук, профессор
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация;
Белокуров С.С., канд. фарм. наук, доцент
Алтайский государственный медицинский университет
656038, Алтайский край, г. Барнаул пр. Ленина, д. 40 Российская Федерация
E-mail: tatyana.tiron@spcpu.ru

В работе были проведены исследования по получению извлечений и сухих экстрактов из корней цикория обыкновенного и плодового тела чаги. Разработаны показатели качества на полученные сухие экстракты.

На основе полученных сухих экстрактов была разработана технология быстрорастворимого напитка, который обладает гастропротекторным эффектом.

Ключевые слова: *цикорий обыкновенный, чага, СВЧ-сушка, гранулирование, экстракция, быстрорастворимые напитки, гастрит.*

Введение. Образ жизни современного человека: с перекусами на ходу и неправильным питанием, – далек от идеального. Пытаясь не выпасть из насыщенного рабочего ритма, многие люди бесконтрольно принимают лекарства, потому как времени на полноценное лечение болезни просто нет. Кроме этого, существуют еще и вредные привычки: употребление алкогольных напитков, курение, нерегулярное питание. Такой образ жизни может стать причиной появления гастрита – одного из самых распространенных заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Гастрит – это часто встречающееся заболевание, протекающее с воспалением внутренней поверхности желудка. Наиболее распространенной причиной гастрита считается микроорганизм Helicobacter pylori,

Данный микроорганизм обнаружен не так давно, но это явилось новым словом в терапии и предупреждении язвы желудка, гастрита и рака желудка. Хеликобактериоз разрушает некоторые участки слизистой желудка, проникая иногда в довольно глубокие слои, что уже более напоминает язву.

Кроме этого, гастрит может быть спровоцирован и ожогом слизистой желудка агрессивными химикатами. Это бывает чаще всего у тех лиц, которые страдают алкоголизмом либо при ненамеренном выпивании каких-либо ядовитых веществ (уксус, щелочь). Употребление таких препаратов как ацетилсалициловая кислота (и иные противовоспалительные средства) тоже нередко вызывает гастрит.

Ряд нестероидных противовоспалительных средств (индометацин, диклофенак, аспирин) провоцируют воспалительный процесс не столько напрямую, но и разрушают протекторные способности слизистой оболочки органов пищеварения. В связи с этим гастрит может быть спровоцирован не только оральным употреблением этих препаратов.

Часто гастрит является следствием нарушения работы иммунной системы. Иногда защитные силы организма направляются не на борьбу с патогенной микрофлорой, а на борьбу с собственными тканями (аутоиммунные заболевания). Если такая реакция направлена на слизистую желудка, развивается аутоиммунный гастрит. В появлении подобной формы заболевания не последнее значение имеет генетическая предрасположенность, а также иные повреждающие факторы

Нередко гастрит вызывается нерациональным питанием: еда на ходу, плохого пережеванная еда, нарушает целостность слизистой оболочки желудка, заглатывание чересчур холодной или горячей еды вызывает термические поражения слизистой, поедание слишком острой и соленой еды также вызывает раздражение слизистой, но наиболее вероятно развитие заболевания у людей, находящихся в состоянии нервно-психического напряжения, пренебрегающих здоровым питанием, пьющих и курящих.

В настоящее время одним из ключевых подходов к профилактике данного заболевания является коррекция пищевого поведения человека, внедрение в его рацион продуктов питания и биологически активных добавок к пище (БАД), которые содержат группы биологически активных веществ, способствующих, с одной стороны, нормализации микрофлоры кишечника, с другой стороны, обладающих обволакивающим эффектом для защиты поврежденных участков слизистой оболочки желудка от повреждающих факторов желудочного сока [1].

Наиболее удобной формой таких продуктов питания и БАД к пище являются быстрорастворимые гранулируемые порошки для приготовления напитков в дозированных формах (например саше). В данной форме они позволяют обеспечить быстроту и удобство применения при необходимости провести коррекцию вкуса и аромата, а также снимают психологический барьер применения лекарственного препарата [2].

Перспективным лекарственным растительным сырьем (ЛРС), которое будет оказывать вышеописанные эффекты будут корни цикория обыкновенного (Cicorium intubus L.) и плодовое тело чаги (Inonotus obliquus L.).

Основным действующим веществом корней цикория обыкновенного является инулин. Инулин – это полисахарид, который пребиотическими свойствами регулирует и поддерживает физиологическое равновесие симбиотической кишечной флоры, избирательно стимулируя метаболическую активность и рост лактобацилл и бифидобактерий. Последние имеют способность синтезировать фермент, позволяющий им утилизировать фруктоолигосахариды, в том числе инулин. Количество бифидобактерий в кишечнике увеличивается при ежедневном употреблении инулина. Количественный рост популяции бифидобактерий подавляет развитие патогенных бактерий (энтеробактерии, патогенные клостридии, кишечные палочки), грибов и вирусов, что способствует лучшему выполнению целого ряда биологических функций организмом человека и приводит к улучшению состава кишечной флоры.

В случае плодового тела чаги основной группой БАВ, обладающей противоязвенной активностью, является хромогенный комплекс, который способствует пролиферации эндотелия кишечника, а также образованию защитной пленки на пораженных участках кишечника.

Цель работы. На основании вышеизложенного целью данной работы стала разработка состава и технологии быстрорастворимого напитка, обладающего гастропротекторной активностью.

Материалы и методы

В качестве сырья для получения сухих экстрактов использовали корни цикория обыкновенного и плодовое тело чаги, купленное у ООО «Хорст». Сырье было заготовлено соответственно в августе и марте 2021 года и соответствовало требованием нормативной документации (НД).

Получение извлечений из корней цикория обыкновенного и плодового тела чаги проводили методом ультразвуковой экстракции. Ультразвуковую экстракцию проводили с помощью ультразвуковой установки И100-6/4 (рис.1) («Уль-

тразвуковая техника Инлаб», г. Санкт-Петербург, Россия). Экстракты получали при температуре 60±2 ºС В качестве экстрагентов в случае корней цикория обыкновенного использовали воду очищенную, в случае плодового тела чаги была использована последовательная экстракция водой очищенной, 40% раствором этанола и 90 % раствором этанола. Соотношение сырье: экстрагент составляло 1:20 (по массе).

Навеску растительного сырья (10 г) помещали в стакан и заливали 200 см^3 экстрагента. Далее осуществляли обработку ультразвуком.

Для проведения ультразвуковой экстракции насадку генератора погружали в стакан. Интенсивность ультразвукового воздействия на твердое растительное сырье составляло 22 кГц. Экстракцию проводили в течение 30 мин [3].

Рисунок 1. Ультразвуковая установка И100-6/4

Для очистки от балластных веществ полученные извлечения отстаивали при температуре 5±2 ºС в течение 24 часов. Затем полученные извлечения снимали с осадка и использовали для получения сухих экстрактов.

Сухие экстракты из полученных извлечений получали методом СВЧ-сушки в тонком слое. Сушку проводили следующим образом: 50 мл извлечения было помещено на керамический поддон. После чего этот поддон с жидким экстрактом помещали в лабораторную установку, мощность СВЧ излучения, которой была задана и составляла 900 Вт. Извлечения сушили в течение 5 минут. Каждую минуту СВЧ генератор отключали. Данные манипуляции проводились во избежание процесса карамелизации экстракта. Влага, которая высвобождалась в процессе сушки, удалялась с помощью вентиляционной системы, установленной в сушилке. По окончанию сушки извлечение снимали с поддона шпателем и измельчали в ступке. Полученные экстракты представлены на рисунке 2.

Рисунок 2. Сухие экстракты чаги и цикория

Полученные экстракты были подвергнуты испытаниям на влажность, гранулометрический состав согласно Государственной Фармакопеи XIV издания. Так же было проведено количественное определение действующих веществ в полученных экстрактах. В сухом экстракте корней цикория обыкновенного определяли содержание инулина. В сухом экстракте чаги определяли количество хромогенного комплекса [4].

Результаты и обсуждение

Результаты изучения показателей качества сухих экстрактов цикория и чаги представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели качества полученных экстрактов

Объект	Фракционный состав, %						Остаточная влага %	Сыпучесть, г/с	Насыпная масса, кг/м^3	Прессуемость, кг	Содержание действующих веществ, %
	>0,5 мм	1,0-0,5 мм	0,5-0,25 мм	0,25-0,1 мм	0,1-0,063 мм	<0,063 мм					
Экстракт цикория	0	0,5	6,4	36,3	30,8	20,6	2,03±0,24	4,3±0,84	420±10	0	75,5±0,23
Экстракт чаги	38,3	48,4	9,2	4,1	0	0	4,8	0,5±0,09	640±23	0	27,8± 0,58

В связи с неудовлетворительными технологическими показателями, а также возможном отсыревании полученных сухих экстрактов, было принято решение получать быстрорастворимый напиток методом влажного гранулирования. Состав и показатели качества полученных гранулятов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Состав и показатели качества полученных гранулятов

Состав гранулируемой массы		Увлажнитель	Фракция с размером гранул 0,2-3,0 мм, %	Сыпучесть, г/с	Прочность на истирание, %	Прессуемость, кг
Состав №1		96% спирт этиловый	55±3	6,8±0,4	64±5	2,0±0,1
Экстракт цикория	2,0	3% раствор желатина	60±3	3,5±0,3	88±3	4,2±0,2
Экстракт чаги	0,2					
Сахар свекловичный	0,5	1% МЦ	66±3	7,8±0,3	60±5	3,7±0,1
Состав №2		96% спирт этиловый	50±3	7,0±0,4	58±5	3,3±0,1
Экстракт цикория	2,0	3% раствор желатина	62±3	4,0±0,3	79±3	4,2±0,2
Экстракт чаги	0,2					
Лактоза	0,5	1% МЦ	75±3	5,0±0,3	85±5	5,1±0,1
Состав №3		96% спирт этиловый	40±3	7,8±0,4	54±5	3,4±0,1
Экстракт цикория	2,0	3% раствор желатина	65±3	5,5±0,3	78±3	5,1±0,2
Экстракт чаги	0,2					
Мальтодекстрин	0,5	1% МЦ	84±3	5,8±0,3	95±5	6,3±0,1

В результате, анализируя данные таблицы 2, мы можем сделать вывод, что наиболее лучшими технологическими свойствами обладает состав №3. Так же хотелось бы отметить, что в связи с нейтральностью вкусов полученных сухих экстрактов, необходимости в коррегирования вкуса полученного сухого напитка нет, при этом мальтодекстрин в составе помимо функции филлера выполняет функцию подсластителя с неярко выраженной сладостью, что придает напитку приятный вкус.

Заключение

Таким образом, полученный напиток состава № 3 обладает всеми нужными характеристиками для дальнейшего внедрения его на производство. Для этого необходимо будет провести масштабирование процесса получения гранулята, определение срока годности и показателей качества готового продукта.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Диагностика и лечение язвенной болезни у взрослых (Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российского общества колоректальных хирургов и Российского эндоскопического общества) / В.Т. Ивашкин [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2020. Т. 30. N 1. С. 49-70. https://doi.org/10.22416/1382-4376-2020-30-1-49-70

2. Белокуров С.С., Кулькова В.О. Изучение технологических свойств экстракта корней цикория обыкновенного сухого и создание на его основе БАД к пище // IV Гаммермановские чтения: сборник научных трудов 30-31 января 2019 г. М.: 2018. С. 30-31.

3. Белокуров, С.С. Флисюк Е.В., Смехова И.Е. Выбор метода экстрагирования для получения извлечений из семян пажитника сенного с высоким содержанием биологически активных веществ // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2019. Т. 8. N 3. С. 21-25. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2019-8-3-35-39

4. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М., 2018. [Электронный ресурс] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14

SUMMARY

DEVELOPMENT OF COMPOSITION AND TECHNOLOGY OF INSTANT DRINK WITH GASTROPROTECTIVE ACTIVITY

Tiron T.P., 4th year student
Scientific supervisor: **Flisyuk E.V.** Doctor of Pharmacy, professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, prof. Popova st., 14, Russian Federation;
Belokurov S.S. Candidate of pharmaceutical science, associate professor
Altai State Medical University
656038, Altai Territory, Barnaul, Lenin Ave., 40 Russian Federation
E-mail: tatyana.tiron@spcpu.ru

In the work, studies were carried out to obtain extracts and dry extracts from the roots of common chicory and the fruiting body of chaga. Quality indicators for the obtained dry extracts have been developed.

On the basis of the obtained dry extracts, the technology of an instant drink was developed, which has a gastroprotective effect.

Keywords: *chicory, chaga, microwave drying, granulation, extraction, instant drinks, gastritis.*

REFERENCES

1. Diagnosis and Treatment of Peptic Ulcer in Adults (Clinical Guidelines of the Russian Gastroenterological Association, Russian Society of Colorectal Surgeons and the Russian Endoscopic Society) / V.T. Ivashkin [et al.] // Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2020. Vol. 30(1). P. 49-70. (in Russian) https://doi.org/10.22416/1382-4376-2020-30-1-49-70

2. Belokurov S.S., Kulkova V.O. The study of the technological properties of dry chicory root extract and the creation of dietary supplements for food on its basis // IV Hammerman readings: collection of scientific papers January 30-31, 2019 M.: 2018. P. 30-31. (in Russian)

3. Belokurov S.S., Flysyuk E.V., Smekhova I.E. Choice of Extraction Method for Receiving Extraction from Seeds of Payne Hay with the High Content of Biologically Active Substances. // Drug development & registration. 2019. Vol. 8(3). P. 21-25. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2019-8-3-35-39 (in Russian)

4. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. XIV ed. Moscow, 2018. [Internet] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (in Russian)

УДК 615.31

ПРИМЕНЕНИЕ КРЕМНИЯ И ЕГО СОЕДИНЕНИЙ В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАЦИИ

Ткачева А.В., студ. 1 курса
Руководитель: **Фадеева Д.А.,** к. фарм. н., доцент (ORCID: 0000-0002-5539-1390)
Белгородский государственный национальный исследовательский университет
308015, Белгород, ул. Победы, д.85, Российская Федерация
E-mail: annatkaceva970@gmail.com

В данной статье рассматривается биологическая роль кремния и его соединений в организме человека. Особое внимание уделено возможности использования соединений кремния в фармацевтической промышленности. В ходе изучения литературы пришла к выводу: применение кремния и его соединений набирает значительные обороты в фармацевтической промышленности и медицине, благодаря уникальным свойствам элемента.

Ключевые слова: *соединения кремния, макроэлемент, лекарственное средство, антацидное средство, детоксикационные свойства, кремнийорганические соединения, энтеросорбент, наночастицы пористого кремния, кремнезем, наноконтейнеры, токсические вещества.*

На сегодняшний день использование кремния его соединений в фармацевтической промышленности и медицине актуально. В связи с ростом заболеваемости населения, применение данного микроэлемента необходимо, так как он обладает рядом свойств и особенностей, отличающих его от других элементов. С его использованием возможно лечение многих вирусных заболеваний, сахарного диабета, атеросклероза и т.д.

Цель работы: Изучение распространения кремния и его соединений в растительном мире и в организме человека; его использование в борьбе с инфекционными, дерматологическими, сосудистыми и другими заболеваниями; применение в фармации.

Задачи работы: определить значимость кремния в организме человека; отметить соединения кремния, используемые в изготовлении лекарственных средств; указать препараты на основе кремния, применяемые в медицине.

Кремний – элемент четвертой группы главной подгруппы Периодической системы химических элементов Дмитрия Ивановича Менделеева. Данный элемент входит в состав растительных и животных организмов. Известно, что в земной коре на долю кремния приходится 25,7%, то есть по концентрации он «занимает второе место» после кислорода (49,5 %). Кремний оказывает положительное воздействие на процесс усвоения различных соединений, включая и витаминные соединения, на обмен веществ: белковый, углеводный, липидный. Данный элемент способствует образованию в организме человека гормонов, ферментов, аминокислот благодаря связыванию с белковыми структурами [1].

Соединения кремния содержатся в тканях организма человека в следующих формах:

1) Нерастворимые кремнеполимеры. Представителями данного списка являются: аморфный кремнезем, нерастворимые силикаты, поликремневые кислоты и кварц.

2) Неорганические соединения, способные хорошо растворяться в воде и проникать через клеточную мембрану: Ионы орто- и олигокремневых кислот, ортокремневая кислота.

3) Кремнийорганические соединения и комплексы, растворимые в органических растворителях и содержащие группировки Si-O-C. К таким соединениям относятся: холин, липиды, фосфолипиды, протеины, холестерин и другие стерины.

Атомы кремния имеют четное число протонов и нейтронов, что обеспечивает их стабильность в отличие от атомных ядер элементов, имеющих нечетное число протонов и нейтронов. Так же стабильность атомов кремния связана с

многообразием его соединений как в виде минералов, так и в растительном и животном организмах. В состав клеточной протоплазмы хвощей входят органические соединения кремния, способные легко усваиваться человеком вместе с пищей. Известно, что накапливать кремний способны диатомовые водоросли, губки, радиолярии [2].

В стволе бамбука осуществляется синтез чистой кремниевой кислоты – табашир, которая используется в качестве лекарственного средства. Также кремний содержится и в крапиве, которая, в свою очередь, применяется в народной медицине.

Кремний выполняет ряд следующих функций в организме человека:

1) Способствует лучшему усвоению ионов кальция, а следовательно, и росту костей. Предупреждает развитие остеопороза;

2) Способствует укреплению и эластичности сосудов;

3) Снижает риск сердечно-сосудистых заболеваний;

4) Снижает вероятность Болезни Альцгеймера;

5) Стимулирует деятельность иммунной системы;

6) Участвует в усвоении организмом большого количества минеральных солей и витаминов;

7) Замедляет процессы старения;

8) Способствует улучшению состояния кожи, волос и ногтей;

9) Оказывает влияние на работу нервной системы и головного мозга;

10) Препятствует возникновению онкологических заболеваний, диабета, зоба, туберкулеза и других заболеваний;

11) Выполняет барьерную функцию, препятствуя проникновению холестерина в плазму крови;

12) Основная функция кремния- участие в скреплении субъединиц волокнистых тканей организма (коллагена и эластина) вместе, придавая им силу и упругость.

Особенностью кремния и его соединений является формирование в водной среде организм биоэлектрически заряженных систем, способных «приклеивать» к своей поверхности вирусы герпеса, гепатита, гриппа, а также дезактивация данных вирусов [2].

Кремний является важнейшим микроэлементом. Его содержание в организме взрослого человека примерно 1 грамм. В большей степени он сконцентрирован в коже. Кремний также содержится в соединительной ткани, трахеи, стенках аорты, легких, связках, костях, волосах, ногтях, лимфоузлах, селезенки, головном мозге, гипофизе и щитовидной железе.

Наибольшее количество кремния содержится в голубой, лечебной и пищевой глине. Она нетоксична и безвредна, а также содержит кремний в виде легко усваиваемых организмом соединений.

Значительная концентрация кремния в топинамбуре, злаковых, бобовых, орехах и семенах, фруктах (персиках, абрикосах, инжире, грушах, бананах и т.д.), ягодах (клубнике, землянике, облепихе, смородине красной, рябине черноплодной), вине и виноградном соке, ламинарии, овощах (луке репчатом, моркови, свекле, картофеле).

Минеральные воды также богаты соединениями кремния (диоксид кремния) и отличаются довольно высокой физиологической активностью. Они усиливают активность окислительных ферментов печени, благоприятно воздействуют на вегетативную нервную систему, тормозят моторную функцию тонкого кишечника, усиливают сердечную деятельность. Известно применение кремнистых минеральных вод при воспалительных заболеваниях мочеполовой системы [3].

Кремний способен хорошо усваиваться с клетчаткой, молибденом, фтором, магнием. Данное взаимодействие дает больший эффект по сравнению с отдельным действием каждого элемента и соединения. При взаимодействии с алюминием концентрация кремния в организме снижается. Так снижению концентрации элемента способствует прием рафинированных пищевых продуктов, т.е. продуктов, в которых отсутствуют необходимые организму питательные вещества.

Нарушение обменного процесса соединений кремния может вызвать ряд патологических заболеваний. Именно соединения кремния служат неким барьером, способствующим задерживать распространение дегенеративных процессов, облегчают удаление с мочой конечных продуктов метаболизма, токсичных веществ [3].

Недостаток кремния в организме (гипоэлементоз) может вызвать ухудшение и выпадение волос, расстройство гормонального баланса, развитие раздражительности и апатии, бессонницу и значительное ослабление иммунитета, кальциноз сосудов, остеопороз, хрупкость аорты и кровеносных сосудов. Дефицит кремния увеличивает вероятность развития раковых опухолей.

Избыток кремния (гиперэлементоз) в организме человека приводит к образованию камней в почках. Развитие данной болезни обусловлено повышенной активностью процессов кристаллизации солей в моче. Так же является опасным большое содержание пыли двуокиси кремния в атмосфере. В процессе дыхания данное соединение попадает в легкие человека и приводит к развитию заболевания- Силикоза.

Оптимальной дозой поступления в организм человека кремния следует считать 50-100 мг в день. Из общего количества поступающего кремния усваивается лишь 4%. В крови содержание элемента постоянно изменяется и регулируется почками [4].

При атеросклерозе содержание кремния в артериях значительно снижается. Для лечения данной болезни вводят следующие соединения: силикат натрия, комплексы метилсиликоната натрия или калия в совокупности с лимонной или салициловой кислотами, фенилполисилоксан [4].

Хвощ полевой, как источник кремния

Биологическая роль кремния в живых организмах стала изучаться еще с 1789 г. Многие ученые отмечали, что данный химический элемент в будущем будет эффективно применяться в изготовлении лекарственных средств. Как упоминалось выше, источником кремния является хвощ полевой.

Рисунок 1. Хвощ полевой

В народной медицине он используется как мочегонное средство, а также при нарушении свертываемости крови. Также хвощ полевой применяется при лечении туберкулеза, возникновение которого обусловлено потерей организмом 45% кремния.

Экстракты полевого хвоща способствуют увеличению эластичности тканей, улучшению работы мышц, сухожилий. Такие экстракты нашли широкое применение и в косметологии: производство кремов, питательных масок, паст и др. Кремнийсодержащие растения являются важным сырьем в фармацевтической промышленности [4].

Применение кремния при онкологических заболеваниях

В связи с участившимися в наше время случаями онкологических заболеваний, ученые непрерывно проводят эксперименты с ионами металлов, снабжая их соответствующими антителами. Ионы способны проникать в раковые клетки и за счет антител уничтожать их.

Однако основной проблемой данного эксперимента является – побочные действия ионов металлов. Так как металлы не безвредны, они могут вызвать мутации клетки, воздействовать локально на молекулу ДНК, привести к гибели клетки. В результате могут возникнуть боли и некроз тканей. Самым страшным исходом в данной ситуации является – перерождение клеток в раковые.

Положительно стало сказываться применение пористого кремния. Это обусловлено тем, что его частицам свойственна биодеградация, то есть, после своей деятельности они распадаются. Продуктом распада кремния является кремниевая кислота, оказывающая влияние на укрепление костей и рост соединительных тканей [5].

Проблемой лечения онкологических заболеваний следует считать то, что раковые клетки очень устойчивы. Эти клетки следует не только уничтожать, но и регулировать по какому механизму они наиболее эффективно способны исчезнуть. В данном случае применяется апоптоз. Это часто встречающийся механизм гибели клеток, запрограммированный их природой. Для запуска этого процесса используются наноконтейнеры на основе наночастиц пористого кремния, заполненные доксорубицином (противораковым препаратом).

Исследования показывают, что в результате длительного воздействия наночастиц пористого кремния, он не является токсичным даже при высоких концентрациях. Поры наноконтейнеров заполняются лекарством с эффективностью 48%. Контейнеры не являются токсичными, а также позволяют регулировать количество доставляемого в раковую клетку лекарства. Они выпускают лекарство и растворяются. Лекарство, доставленное таким образом более эффективно по сравнению с лекарством, доставленным без контейнера [5].

Благодаря способности поверхности пористого кремния переносить практические любые модификации, он нашел применение в качестве сенсоров, используемых для обнаружения опухолей малых размеров и остатков опухолевой ткани, не удаленных в процессе хирургической операции [5].

Использование пористого кремния в лечении сахарного диабета

Известен интересный метод лечения сахарного диабета. Он заключается в следующем:

1) Создание контейнера на основе пористого кремния, обладающего иммуноизолирующими свойствами;

2) Поры созданного контейнера являются некими барьерами, пропускающими инсулин, глюкозу и другие продукты обмена, но не проницаемы для антител, макрофагов, цитотоксичсеких продуктов.

Также частицы кремния нашли практическое применение в ортопедии и тканевой инженерии. Кремний способствует восстановлению соединительной ткани, стимулирует рост остеобластов, влияя на фазу минерализации костей.

Соль Шюсллера

В ходе исследований в конце 19- ого века немецкий врач Вильгельм Хайнрих Шюсслер обнаружил двенадцать минеральных солей, применяемых для лечения многих заболеваний.

Шюсслер в своих работах отметил значимость микроэлементов в жизнедеятельности клеток. Он указал, что отсутствие какой-либо из 12 солей сказывается на усвоении клетками кислорода, то есть может привести к хронической гипоксии.

Позже другими учеными были введены еще 12 солей. Все 24 соли используются в фармации и медицине и по сей день. Производители лекарственных препаратов используют обозначение определенной соли из 24 на упаковке [6].

Широко применяются соли Шюсслера в гомеопатии.

Соль №1 – Устраняет проблемы с кожей, ногтями и костями;

Соль №2 – Участвует в минерализации костей и зубов;

Соль №3 – Используется при воспалительных процессах и ранах;

Соль №4 – Применяется для слизистых оболочек;

Соль №5 – Участвует в укреплении мышц и нервов;

Соль №6 – Применяется при хронических заболеваниях и воспалениях кожи;

Соль №7 – Применяется при болях и спазмах;

Соль №8 – Регулирует водный обмен;

Соль №9 – Нормализует обмен веществ;

Соль №10 – Участвует в стимуляции выделительных процессов;

Соль №11 – Укрепляет сухожилия, хрящи и кости;

Соль №12 – Устраняет гнойные заболевания.

Кремния диоксид коллоидный, как составляющее лекарственных препаратов.

Кремния диоксид коллоидный – неорганический энтеросорбент, в основу которого входит кремнезем с размерами частиц до 0,09 мм. Присоединяя гидроксильные группы, формирует сложную структуру, благодаря чему притягивает в местах связи вещества, оказывающие негативное воздействие на организм. Данному соединению свойственны выраженные сорбционные и детоксикационные свойства. Основной функцией кремния диоксида коллоидного является: связывание в просвете желудочно-кишечного тракта и выведение из организма эндогенных и экзогенных токсических веществ различной природы (патогенные бактерии, соли тяжелых металлов, антигены, лекарственные препараты и яды, алкоголь, избыток билирубина, мочевины и холестерина).

Данное средство не расщепляется и не всасывается в желудочно-кишечном тракте. Назначается при острой и хронической интоксикации различной этиологии, острых кишечных инфекциях, гнойно-септических заболеваниях, острых отравлениях сильнодействующими и ядовитыми веществами, включая алкоголь, лекарственные препараты, алкалоиды, соли тяжелых металлов.

Популярно применение кремния диоксида коллоидного в фармации для стабилизации суспензий и линиментов, а также в качестве наполнителя таблеток и супозиториев, загустителя мазевых основ. Также он используется в порошке Полисорб МП в качестве действующего вещества

Полисорб МП применяется в пред- и послеоперационной период терапии онкологических больных, способствует устранению последствий лучевой и химической терапии. Препарат имеет антитоксическое действие по отношению к таким веществам, как: этанол и метанол. Полисорб МП поглощает этанол в желудке и кишечнике, препятствуя его первичному всасыванию.

Кроме Полисорба МП кремния диоксид коллоидный содержится в следующих препаратах: Асорб, Алесорб, Альфасорб, Новосорб, Сорбоксан. Благодаря своим свойствам и широкому спектру действий на организм человека данное соединение нашло широкое применение в медицине и фармации.

Белая глина – естественный источник кремния

Белая глина – каолиновая глина, формула которой $Al_2O_3 * 2SiO_2 * 2H_2O$ благодаря своим сорбентным свойствам применяется в виде порошка при желудочно- кишечных заболеваниях и интоксикациях.

Каолин может использоваться как дополнение к пище, так как содержит большое количество макроэлементов.

Магния трисиликат

Магния трисиликат – белый аморфный порошок, не имеющий вкуса и запаха, не растворим в воде и спирте. Относится к группе веществ с эмульгирующими характеристиками. Формула данного вещества: $Mg_2Si_3O_8$. Молекулярная масса – 260, 86 г/моль. Имеет широкий спектр применений:

1) Может употребляться как добавка к пище- поглощает жирные кислоты и удаляет примеси;

2) Может быть использован в качестве антацида. Эффект от данного вещества наступает медленно, однако по длительности действия он превосходит другие антациды. При попадании в желудок он имеет желеобразную консистенцию, обладающую обволакивающим действием. Нейтрализует соляную кислоту и защищает слизистую оболочку желудка от действия пепсина. Принимается при язвенных болезнях и заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Для этих же целей используется в ветеринарии;

3) В фармакологической промышленности магния трисиликат используют как основную добавку к детским присыпкам;

4) Используется также в препаратах перорального приема, с целью улучшить скольжение в желудочно-кишечном тракте;

5) Входит в состав биологически активных добавок.

Магния трисиликат является вспомогательным веществом многих лекарственных препаратов (Гестид, Альмаг, Хофитол). Выпускается под следующими наименованиями: Магносил, Магсорбент, Банацид и т.д.

Аттапулгит

Аттапулгит – глинистый минерал, состоящий из алюмосиликата магния. Кристаллы данного вещества способны принимать форму иголок, волокон или волокнистых образований. Аттапулгит обладает выраженными коллоидными свойствами:

1) Имеет высокую дисперсность;

2) Устойчив к воздействию высоких температур;

3) Устойчив к воздействию солей и щелочей;

4) Имеет высокую адсорбционную и отбеливающую способность.

Широко применяется аттапулгит в фармацевтической промышленности. Применяется при диареи в силу своей способности адсорбировать токсины, бактерии и газы из желудочно-кишечного тракта. Способствует уменьшению спазмов кишечника за счет выраженного вяжущего эффекта.

Применение полисилоксанов и их производных в медицине, фармации

Полисилоксаны, или силиконы представители полимеров, имеющие в своем составе кремний-кислородную основу с органическими группами. Обычно такими группами являются метильные группы, присоединенные к атомам кремния. Так как силиконы – это неорганические полимеры, следовательно, в основных цепях данных молекул отсутствуют атомы углерода [7].

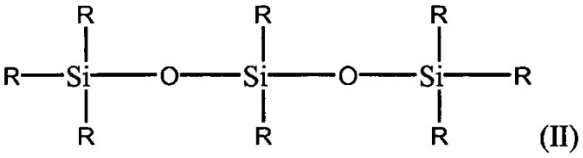


Рисунок 2. Общая формула полисилоксанов

Где R – это органическая группа.

Полисилоксаны сочетают в себе уникальные свойства, которые обуславливают их высокую востребованность в разных областях (медицине, фармации, косметологии, электропромышленности, авиации и т.д.)

Свойства силиконов:

1) Гидрофобность

2) Эластичность

3) Долговечность

4) Диэлектрические свойства

5) Способность сохранять свои свойства при резко меняющихся температурах или повышенной влажности

6) Биосовместимость

7) Химическая и термическая стабильность

8) Низкое поверхностное натяжение

Полисилосканы – класс полимеров, проявляющий широкий спектр свойств, варьирующийся от жидкостей до гелей и эластомеров. Специфические свойства силиконов зависят от боковой цепи и степени сшивания. Полисилоксаны являются неразлагаемыми и нетоксичными материалами [8].

Благодаря широким свойствам силиконов, они используются в производстве интраокулярных линз, повязок, листов для лечения шрамов, грудных имплантатах (жидкий силикон).

Наиболее интересны изделия из полисилаксанов в области медицины (протекторы молочной железы, искусственные суставы, зубопротезные вкладыши). У таких изделий проявляется так называемый градиент свойств. Это значит, что изделие может быть изготовлено из однокомпонентного материала, но его свойства будут изменяться в зависимости от местоположения данной части образца. Например, поверхность изделия, вступающего в контакт с мягкими тканями человека, имеет близкую к ним твердость, а его рабочая поверхность- повышенную твердость, износостойкость, прочность.

Силиконовые материалы так же используются в изготовлении сердечных клапанов и компонентов для диализа почек, оксигенаторов крови и аппаратов для шунтирования сердца благодаря их гемосовместимости. Значительное ортопедическое применение полисилоксанов – это имплантация суставов на руках и ногах. На данном этапе силиконы широко используются в качестве косметических имплантатов в эстетической и реконструктивной пластической хирургии. Протезные силиконовые имплантаты доступны для груди, щек, подбородка, икр, ягодиц.

Гели на основе полисилоксана благодаря высокой кислородопроницаемости силикона и клиническим характеристикам полиакрилатных гидрогелей, позволяют изготавливать мягкие газонепроницаемые контактные линзы для длительного ношения. Однако силиконовые гели придают поверхности линзы высокую гидрофобность и меньшую «смачиваемость», что часто приводит к дискомфорту и сухости во время ношения.

Полисилоксаны являются одним из наиболее тщательно протестированных и важных биоматериалов.

Полиметилсилоксан – производное полисилоксана. Полиметилсилоксан обладает выраженным сорбционным и детоксикационным свойствами. В просвете ЖКТ связывает и выводит из организма эндогенные и экзогенные токсические вещества различной природы, включая бактерии и бактериальные токсины, антигены, пищевые аллергены, лекарственные средства и яды, соли тяжелых металлов, радионуклиды, алкоголь; сорбирует также некоторые продукты обмена веществ организма, в том числе избыток билирубина, мочевины, холестерина и липидных комплексов, а также метаболиты, ответственные за развитие эндогенного токсикоза. Полиметилсилоксан не уменьшает всасывания витаминов и микроэлементов, способствует восстановлению нарушенной микрофлоры кишечника и не влияет на его двигательную функцию [9].

Использование полиметилсилоксана в производстве косметики

Полиметилсилоксан (ПМС) применяется в косметической промышленности, наделяя уникальными свойствами продукцию по уходу за кожей и волосами. Данный полимер создает безопасный слой, защищающий поверхность кожи от влаги и растворенных в ней раздражающих веществ. Такой состав обеспечивает возможность коже дышать и получать полезные вещества.

Силиконы применяются в изготовлении:

1) Защитных средств для кожи, создающих тончайшую дышащую пленку- кремов, лосьонов.

2) Лосьонов для загара.

3) Средств по уходу за волосами- силикон способен удерживать в них необходимое количество влаги, пигмента, что особенно является актуальным для окрашенных волос.

4) Тональных основ- для равномерного распределения пигмента на коже лица.

5) Помады- для придания ей эффекта «стойкости».

6) Туши для ресниц- для обеспечения равномерного нанесения состава на ресницы, а также для придания им здорового блеска.

7) Лаки для ногтей – летучий силикон быстро испаряется, способствуя скорейшему высыханию состава.

Косметические средства, имеющие в своем составе силикон, нетоксичны и неактивны. Они не вступают в реакцию с другими компонентами, входящими в состав крема или лосьона. В создании качественной устойчивой косметики у полиметилсилоксана нет равных.

Заключение

«Никакой организм не сможет существовать без кремния» – В.И. Вернадский.

Кремний – удивительный химический элемент жизни. Интерес ученых к лечебным свойствам кремния и его биологической роли в организме не утихает и по сей день. Данный микроэлемент распространен как в растительном, так и в животном мире. Препараты на основе кремния обладают антацидными и детоксикационными свойствами, что способствует востребованности элемента и его соединений в фармацевтической промышленности.

В своей работе я обратила внимание на свойства кремния, отличающие его от других элементов, и пришла к выводу: кремний – один из основных химических элементов, используемых при лечении и предотвращении многих заболеваний. За использованием кремния стоит великое будущее!

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.29 Неорганические лекарственные вещества

ЛИТЕРАТУРА

1. Белостоцкая И.С. Химия кремния: учебное пособие. М., 2008г. 64 с.

2. Швецов Б.С. Введение в химию кремния. М., 1934г. 224 с.

3. Воронков М.Г., Лукевиц Э.Я. Биологически активные соединения кремния // Успехи химии. 1969. N 12. С. 2173-2193

4. Кремний – элемент жизни. Экология и медицина / Н.А. Семенова и др.. СПб. : Диля, 2008. 448 с.

5. Трофимов В.В., Федчишин О.В. Применение гидроксиапатита и кремнийорганических соединений в стоматологической имплантологии // Актуальные проблемы клинической медицины: материалы X научно-практической конференции. Иркутск, 1999. 127 с.

6. Теслин Е.В. Соли Шюсслера. Описание, функции, роль в гомеопатии. 2014.

7. Росин И.В. Общая и неорганическая химия. Москва: Бакалавр, 2017. 1344 с.

8. Гордов В.В. Синтез и свойства карбоксилсодержащих полидиметилсилоксанов: автореферат диссертации … М., 2018. 26 с.

9. Адрианов К.А. Кремнийорганические соединения: Монография. М.: ГНТИХЛ, 1955. 520 с.

10. Неумывайкин И.П. Кремний. Мифы и реальность. М., 2013. 160 с.

11. Воронков М.Г., Кузнецов И.Г. Кремний в живой природе. Новосибирск. 1984. 155 с.

12. Воронков М.Г., Зелчан Г.И., Лукевиц З.Я. Кремний и жизнь. Биохимия, фармакология и токсикология соединений кремния. 2-е изд., перераб. и доп. Рига : Зинатне. 1978. 587 с.

13. Пористый кремний и его применение в биологии и медицине / О.И. Ксенофонтова [и др.] // Журнал технической физики. 2014. Т. 84. N 1.

14. Мануйлов Л.А., Клюковский Г.И. Физическая химия и химия кремния. 3-е изд. М.: Высшая школа, 1962. 311 с.

15. Кремний – 2014. // Сборник тезисов X Конференции по актуальным проблемам физики, материаловедения, технологии и диагностики кремния, нанометровых структур и приборов на его основе. Иркутск, 7-12 июля, 2014. Иркутск. 2014.

16. Коломийцева М.Г., Габович Р.Д. Микроэлементы в медицине. Т. 8. М.: Медицина, 1970. 287с.

SUMMARY

APPLICATION OF SILICON AND ITS COMPOUNDS IN MEDICINE AND PHARMACY

Tkacheva A.V., 1st year student

Scientific supervisor: **Fadeeva D.A.,** Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor (ORCID: ID 0000-0002-5539-1390)

Belgorod State National Research University

85 Pobedy str., Belgorod, 308015, Russian Federation

E-mail: annatkaceva970@gmail.com

This article discusses the biological role of silicon and its compounds in the human body. Special attention is paid to the possibility of using silicon compounds in the pharmaceutical industry. In the course of studying the literature, I came to the

conclusion: the use of silicon and its compounds is gaining significant momentum in the pharmaceutical industry and medicine, due to the unique properties of the element.

Keywords: *silicon compounds, macronutrient, drug, antacid, detoxifying properties, organosilicon compounds, enterosorbent, porous silicon nanoparticles, silica, nanocontainers, toxic substances.*

REFERENCES

1. Belostotskaya I.S. Chemistry of silicon : textbook. Stipend. Moscow, 2008. 64 p. (in Russian)
2. Shvetsov B.S. Introduction to silicon chemistry. Moscow, 1934. 224 p. (in Russian)
3. Voronkov M.G., Lukevits E.Ya. Biologically active compounds of silicon // Uspekhi khimii. 1969. N 12. 2173-2193 p. (in Russian)
4. Silicon is an element of life. Ecology and medicine / Semenova N.A. [et al.]. Saint Petersburg: Dily, 2008. 448p. (in Russian
5. Trofimov V.V., Fedchishin O.V. Application of hydroxyapatite and organosilicon compounds in dental implantology // Actual problems of clinical medicine: Materials of the X scientific and practical conference. Irkutsk. 1999. 127 p. (in Russian)
6. Teslin E.V. Schussler Salts. Description, functions, role in homeopathy. 2014. (in Russian)
7. Rosin I.V. General and inorganic chemistry. Moscow : Bachelor, 2017. 1344 p. (in Russian)
8. Gordov V.V. Synthesis and properties of carboxyl-containing polydimethylsiloxanes: dissertation abstract… Moscow. 2018. 26 p . (in Russian)
9. Adrianov K.A. Organosilicon compounds. Monograph. Moscow: GNTIHL, 1955. 520 p. (in Russian)
10. Neumyvaykin I.P. Silicon. Myths and reality. Moscow, 2013. 160 p. (in Russian)
11. Voronkov M.G., Kuznetsov I.G. Silicon in living nature. Novosibirsk, 1984. 155 p. (in Russian)
12. Voronkov M.G., Zelchan G.I., Lukevits Z.Ya. Silicon and life. Biochemistry, pharmacology and toxicology of silicon compounds. 2nd ed., reprint. and additional. Riga: Zinatne, 1978. 587 p. (in Russian)
13. Porous silicon and its application in biology and medicine / O.I. Ksenofontova [et al.] // Journal of Technical Physics. 2014. Vol. 84(1). (in Russian)
14. Manuilov L.A., Klyukovsky G.I. Physical chemistry and chemistry of silicon. 3rd ed. Moscow: Higher school, 1962. 311 p. (in Russian)
15. Silicon - 2014 // Collection of abstracts. X Conferences on current problems of physics, materials science, technology and diagnostics of silicon, nanometer structures and devices based on it. Irkutsk, July 7-12, 2014. Irkutsk, 2014. (in Russian)
16. Kolomiytseva M.G., Gabovich R.D. Trace elements in medicine. Vol. 8. Moscow: Medicine, 1970. 287 p. (in Russian)

УДК 66:661.122

ПРИМЕНЕНИЕ РОТОРНО-ПУЛЬСАЦИОННЫХ АППАРАТОВ РОЛИКОВОГО ТИПА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОЦЕССОВ ДИСПЕРГИРОВАНИЯ И ГОМОГЕНИЗАЦИИ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Тодиева В.В., студ. 2 курса
Руководитель: **Оображей Л.М.,** зав. кафедрой Технической механики и инженерной графики, доцент, канд. тех. наук
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: viktoriya.todieva@spcpu.ru

Было проведено рассмотрение конструкций роторно-пульсационных аппаратов роликового типа, и определены перспективы применения их для проведения процессов диспергирования и гомогенизации в фармацевтической промышленности.

Ключевые слова: *роторно-пульсационные аппараты, аппараты роликового типа, мягкие лекарственные формы.*

Роторно-пульсационный аппарат (РПА) предназначен для тонкого измельчения, многократного перемешивания многокомпонентных сред с целью приготовления высокодиспергированных, гомогенизированных жидких эмульсий и суспензий [2]. РПА эффективны в приготовления мягких лекарственных форм с аморфными твердыми частицами. Недостатками роторно-пульсационных аппаратов является невозможность получить высокую степень дисперсности для сред с содержанием высокопрочной твердой фазой. Поэтому в рабочее пространство вводятся дополнительные диспергирующие элементы, такие как цилиндрические подшипники качения, которые превосходно справляются с этой задачей. РПА роликового типа эффективны за счет оказания непосредственного механического воздействия на частицы обрабатываемой среды, а в РПА такого воздействия нет.

Конструкции аппаратов

По схеме работы роторно-пульсационный аппарат бывает погружного и проходного типа. Первые конструктивно похожи на блендеры и не обеспечивают достаточно однородной обработки всей массы продукта. Поэтому их применяют при небольших объемах обрабатываемых сред. А РПА проходного типа используются при больших объемах, за счет того, что вся среда пропускается через аппарат.

Типовая конструкция роликового диспергатора состоит из корпуса 1 и крышки 2. На внутренней поверхности корпуса выполнена эксцентричная его оси роликовая дорожка 3. В корпусе 1 выполнены канал 4 для подвода рабочей среды в рабочую зону роликов 5 и расточка 6 под уплотнения, подшипник 7 и соединение со штангой 8. В корпусе 1 размещен приводной вал 9, на котором жестко закреплен ротор 10, снабженный радиальными пазами 11 под ролики 5. Ролики 5 выполнены пустотелыми для обеспечения принудительного барботажа в них жидкости и размещены в радиальных пазах 11 и между торцами крышки 2 и корпуса 1 с зазором 0,05-0,50 мм для квитанционного перетока рабочей среды из одной части рабочей зоны роликов. В крышке 2 выполнены отверстия 12 для отвода рабочей среды из рабочей зоны роликов к потребителю. [4]

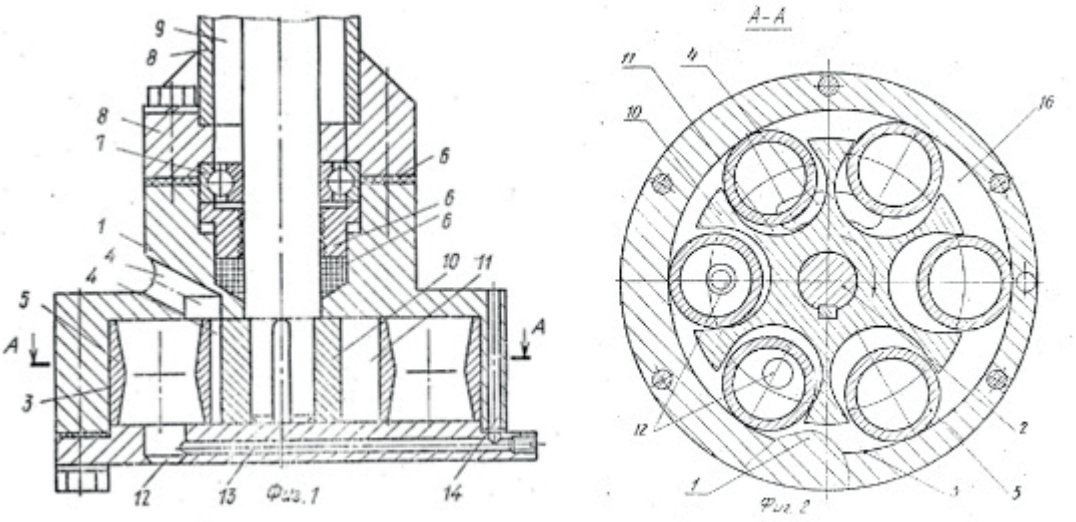


Рисунок 1. РПА роликового типа

Конструктивное оформление рабочих органов РПА роликового типа очень разнообразно по количеству и пространственному расположению цилиндров, числу прорезей и наличию дополнительных рабочих элементов, обеспечивающих определенные преимущества применяемой конструкций. Степень измельчения дисперсных материалов зависит от величины поверхности контакта обрабатываемой среды с рабочими элементами аппарата.

При добавлении подпружиненных колец, взаимосвязанных с противолежащими торцами роликов, обеспечивается увеличение поверхности контакта обрабатываемой среды с рабочими элементами аппарата, при этом также увеличивается степень смешения, дисперсность и однородность дисперсных систем.

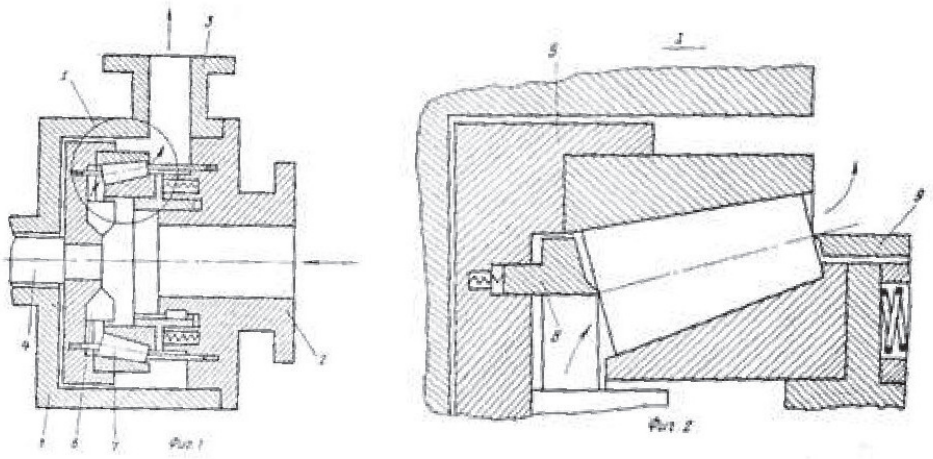


Рисунок 2. РПА роликового типа с подпружиненном кольцом

Роторный аппарат включает цилиндрический корпус 1, снабженный входным патрубком 2, выходным патрубком 3 и смонтированным коаксиально, приводным валом 4. На валу 4 смонтирована втулка 5, крыльчатка 6 и роликовый подшипник 7. Втулка 5 содержит подпружиненное кольцо 8, взаимосвязанное с торцами роликов подшипника 7, соединено с наружной обоймой подшипника 7 и взаимосвязанное с приводным валом 4. На входном патрубке 2 выполнено подпружиненное кольцо 9, взаимосвязанное с противолежащими торцами роликов подшипника 7. Роторный аппарат работает следующим образом. Обрабатываемая суспензия поступает по входному патрубку 2 во внутренний объем корпуса. Далее за счет вращающейся крыльчатки 6, суспензия перемещается внутри корпуса 1 в радиальном направлении, а при взаимодействии с подпружиненным кольцом 8 ориентируется вдоль конической поверхности роликов подшипника 7

от одного торца до противолежащего торца по спирали, при взаимодействии с подпружиненным кольцом 9 суспензия выводится из корпуса 1 по выходному патрубку 3. [5]

При добавлении между внутренней и наружной обоймами подшипников обечайки с направляющими, расположенными на обеих сторонах обечайки по винтовой линии достигается ускорение процесса диспергирования или гомогенизации, а также повышение производительности аппарата за счет сокращения кратности обработки.

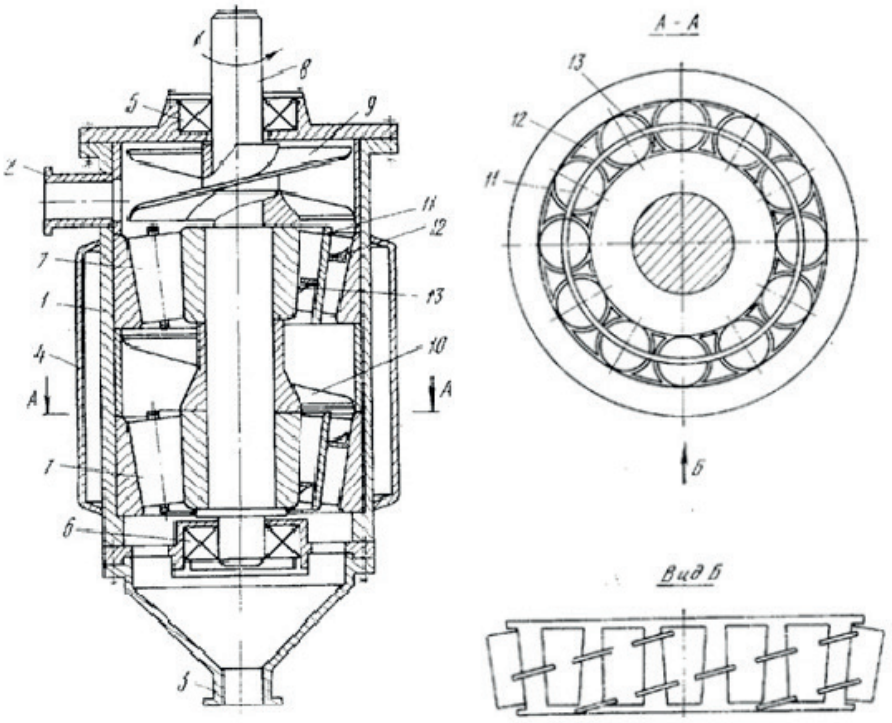


Рисунок 3. РПА роликового типа с обечайкой с направляющими

Обрабатываемая суспензия через патрубок 2 поступает во внутренний, объем аппарата, под действием крыльчатки 9, закрепленной на валу 8, перемешиванием в осевом направлении по отношению к аппарату и поступает в кольцевое пространство между обоймами подшипника. Направляющие 12, установленные на наружной поверхности и обечайки 11, препятствуют проскоку суспензии и ориентируют под рабочую поверхность роликов. В то же время второй ряд направляющих перемещает суспензию далее по оси аппарата, и она поступает в зону перетира другого ролика и так далее до выхода из активной зоны подшипника. Направляющие 13, установленные на внутренней поверхности обечайки, препятствуют проскоку суспензии и ориентируют ее в зону перетира по внутренней обойме подшипника, а также частично возвращают из внутренней зоны перетира в наружную. Таким образом суспензия подвергается многократному воздействию в активной зоне подшипника. Время пребывания суспензии или пасты в зоне перетира зависит от угла наклона направляющих. Под действием крыльчатки 10, находящейся между подшипниками, паста поступает в активную зону другого подшипника, где процесс обработки повторяется, и готовая паста выводится из аппарата через патрубок 3. [6]

При добавлении зубьев-вкладышей, выполненных в виде цилиндрических тел, одна из торцовых поверхностей которых имеет форму сферы, и снабжённых устройством, обеспечивающим их вращение вокруг собственной оси, происходит увеличение процесса диспергирования в гетерогенных системах. Устройство, обеспечивающее вращение цилиндрических тел может быть выполнено в виде установленных на них зубчатых колес, взаимодействующих с зубчатой кольцевой рейкой, размещенной на внутренней кольцевой поверхности одного из вращающихся цилиндров. Наличие в аппарате вращающихся вокруг своей оси цилиндрических тел, имеющих сферическую торцовую поверхность, дополнительно ускоряют процесс измельчения частиц твердой фазы в гетерогенной системе, так как цилиндрические тела, которые не только перемещаются относительно боковой стенки цилиндра, но и вращаются вокруг своей оси, оказывают на частицы твердой фазы более интенсивное механическое воздействие.

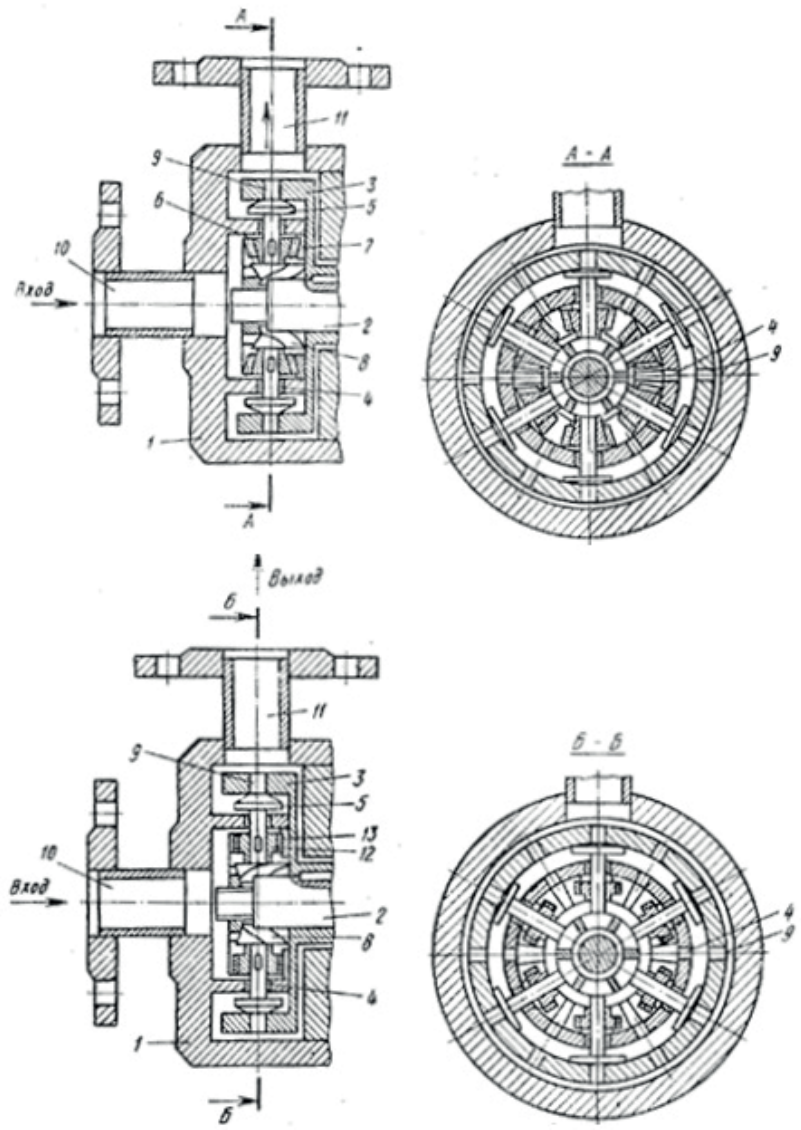


Рисунок 4. РПА роликового типа с зубьями-вкладышами

Обрабатываемая среда поступает по входному патрубку 10 во внутреннее пространство корпуса 1 за счет центробежных сил, возникающих при вращении цилиндра 3 и крыльчатки 8, она перемещается в радиальном направлении и попадает через отверстия 4 корпуса 1 в пространство между неподвижным корпусом 1 и вращающимся цилиндром 3, где установлены цилиндрические тела 5. Тела 5 получают вращение вокруг своей оси от зубчатого колеса 6, взаимодействующего с кольцевой зубчатой рейкой 7, установленной на торцовой поверхности цилиндра 3 и вращающейся вместе с ним. При этом обрабатываемая среда подвергается перемешиванию и интенсивному механическому истиранию между цилиндрической стенкой вращающегося цилиндра 3 и торцовой поверхностью вращающихся вокруг своей оси цилиндрических тел 5. За счет выполнения зубчатых колес б и рейки 7 косозубыми на цилиндрические тела 5 действует сила, направленная вдоль их оси, которая при вращении цилиндра 3 постоянно поджимает тела 5 к его стенке, что обеспечивает надежный контакт торцовой поверхности тел 5 с поверхностью цилиндра 3. Далее обрабатываемая среда из кольцевого пространства между корпусом 1 и цилиндром 3 центробежной силой вытесняется через отверстия 9 цилиндра 3 в выходной патрубок 11. [3]

РПА роликового типа бывают и ступенчатого типа, что приводит к повышению качества диспергирования и гомогенизации за счет исключения прямого проскока твердых частиц без воздействия переменного давления, механического раздавливания и истирания, надежности и работоспособности всей конструкции за счет увеличения числа зон измельчения и увеличения пути и времени воздействия разрушающих факторов на обрабатываемый продукт.

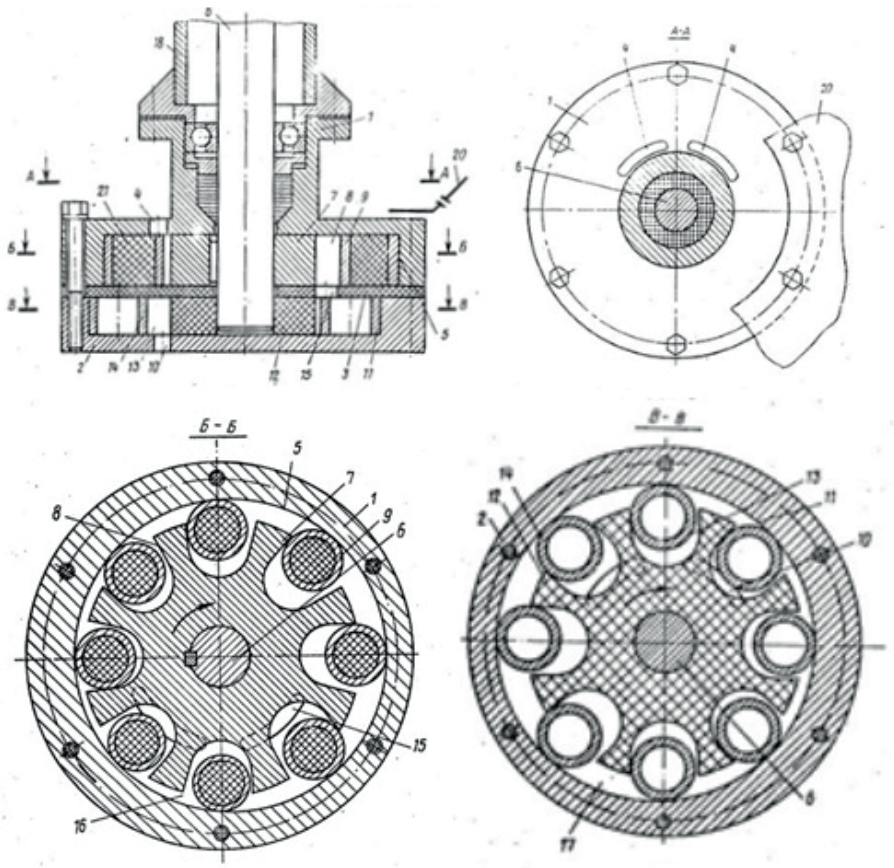


Рисунок 5. РПА роликового типа ступенчатого типа

Аппарат содержит корпус, состоящий из верхней части статора 1 и нижней части – статорной крышки 2, перфорированную перегородку 3, ведущий 7 и ведомый 12 роторы с радиальными пазами 8 и 13 и рабочими органами 9 и 14. Статор имеет входные отверстия 4, крышка 2 – выходные отверстия 10, а перфорированная перегородка-отверстия 15. Рабочая среда последовательно проходит через ведущий 7 и ведомый 12 роторы и обрабатывается в радиальных пазах 8 и 13 при помощи рабочих органов – роликов 9 и 14. На первом полуобороте ведущего ротора 7 происходит засасывание рабочей среды, а на втором передавливание ее в полость ведомого ротора 12. На первом полуобороте ведомого ротора 12 происходит измельчение твердых компонентов рабочей среды, а на втором выдавливание ее на выход к потребителю. Центробежная сила на роликах 9 возникает при вращении ведущего ротора 7 с помощью приводного вала 6, а на роликах 14 от вращения ведомого ротора 12 от нагнетаемой ведущим ротором 7 рабочей среды. При этом ролики 9 и 14 прижимаются к своим беговым дорожкам 5 и 11, катясь по ним, и к пазам 8 и 13, проскальзывая в них. Увлекаемая роликами 9 и 14 рабочая среда и ее твердые компоненты, попавшие в зону качения или проскальзывания роликов 9 и 14, раздавливаются и истираются ими механически до тонкой структуры, Полости 16 и 17 делятся роликами 9 и 14 на камеры, объем которых за один оборот роторов 7 и 12 меняется от минимального до максимального. Увеличение объема полости 16 вызывает всасывание в ее новых порциях рабочей среды через входные отверстия 4. Следующее за увеличением уменьшение объема полости 16 вызывает выдавливание обрабатываемой рабочей среды через переточные отверстия 15 разделительной перегородки 3 в полость 17 на вход ведомого ротора 12. Поступающая под давлением в полость 17 обрабатываемая рабочая среда создает крутящий момент на ведомом роторе 12 это вызывает его вращение относительно поверхности приводного вала 6. При этом обрабатываемая рабочая среда перемещается из зоны увеличивающихся объемов камер полости 17 в зону уменьшения объемов камер полости 17. При дальнейшем вращении ведомого ротора 12 рабочая среда выдавливается в виде готового продукта через выходные отверстия 10 статорной крышки 2 в емкость 19, 5. [7]

Заключение

Ввиду высокой эффективности применения роторно-пульсационных аппаратов роликового типа в проведении процессов диспергирования и гомогенизации сред с высоким содержанием частиц твердой фазы повышенной прочности (мазей, паст, линиментов и проч.) необходимо дальнейшее изучение процессов, происходящих в них, а также разработка новых, высокоэффективных конструкций аппаратов.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балабудкин М.А. Роторно-пульсационные аппараты в химико-фармацевтической промышленности. М.: Медицина, 1983.
2. Чуешов В.И., Мандрыка Л.А., Пашнев П.Д. Оборудование и основы проектирования химико-фармацевтических производств. Харьков, 2001.
3. Роторно-пульсационный аппарат: пат. SU 895484 A2 СССР N 2920625. заявл. 31.03.80. опубл. 07.01.82.
4. Роликовый диспергатор: пат. SU 1 604 448 A1 СССР N 4492495; заявл. 29.08.88; опубл. 07.11.90, Бюл. N 41.
5. Роторный аппарат: пат. SU 632385 A1 СССР N 2496649. заявл. 13.06.77. опубл. 15.11.78, Бюл. N 42.
6. Роторный аппарат: пат. SU 860848 A1 СССР N 2858767. заявл. 27.12.79. опубл. 07.09.81, Бюл. N 33.
7. Роторный роликовый диспергирующий аппарат: пат. SU 1 586 762 A1 СССР N 4478619. заявл. 29.08.88. опубл. 23.08.90, Бюл. N 31.
8. Ображей Л.М. Оборудование для проведения механических процессов в фармацевтических производствах. СПб., 2015.

SUMMARY

Todieva V.V., stud. 2 courses
Supervisor: **Obrazhei L.M.**,
head. Department of Technical Mechanics and Engineering Graphics, Associate Professor, Ph.D. those. Sciences
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: viktoriya.todieva@spcpu.ru

The designs of roller-type rotary-pulsation apparatuses were considered, and the prospects for their application for carrying out dispersion and homogenization processes in the pharmaceutical industry were determined.

Keywords: *rotary pulsation devices, roller type devices, soft dosage forms.*

REFERENCES

1. Balabudkin MA. Rotary-pulsation devices in the chemical-pharmaceutical industry. Moscow: Medicine, 1983. (in Russian)
2. Chueshov V.I., Mandryka L.A., Pashnev P.D. Equipment and fundamentals of designing chemical and pharmaceutical industries. Kharkov, 2001. (in Russian)
3. Rotary pulsation apparatus: Pat. SU 895484 A2 USSR N 2920625. dec. 31.03.80. Publ. 07.01.82. (in Russian)
4. Roller disperser: Pat. SU 1 604 448 A1 USSR N 4492495. dec. 29.08.88. Publ. 07.11.90, Bull. N 41. (in Russian)
5. Rotary apparatus: Pat. SU 632385 A1 USSR N 2496649. dec. 13.06.77. Publ. 15.11.78, Bull. N 42. (in Russian)
6. Rotary apparatus: Pat. SU 860848 A1 USSR N 2858767. dec. 27.12.79. Publ. 07.09.81, Bull. N 33. (in Russian)
7. Rotary roller dispersing apparatus: Pat. SU 1 586 762 A1 USSR N 4478619. dec. 29.08.88. Publ. 08/23/90, Bull. N 31. (in Russian)
8. Obrazei L.M. Equipment for mechanical processes in pharmaceutical industries. St. Petersburg, 2015. (in Russian)

УДК 613:495

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И СОСТАВА ОЧИЩАЮЩЕГО СРЕДСТВА-СКАТКИ ДЛЯ РУК, НЕ ТРЕБУЮЩЕГО СМЫВАНИЯ

Туманова А.П., студ. 4 курса (ORCID: 0000-0002-3222-3888)
Руководитель: **Басевич А.В.**, доц., к. фарм. н. (ORCID: 0000-0002-6864-6794)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: aleksandra.tumanova@spcpu.ru

Статья посвящена изучению актуальности использования очищающих средств и особенностей действия средств-скаток, а также разработке технологии и рецептуры очищающего средства-скатки для рук, не требующего смывания.

Ключевые слова: *очищение, уход за руками, средство-скатка, выбор компонентов, технологические свойства, антисептические средства, средства для гигиены.*

В организме и на руках человека находится порядка 2 кг микробов, а в самых глубоких слоях кожи обитает до 20% всех микроорганизмов, живущих на руках. Микрофлора кожи рук может быть резидентной – постоянной и транзиторной – временной, может приносить пользу человеку, улучшая здоровье и поддерживая иммунитет или являться источником инфекционных болезней и аллергических реакций.

При обычном мытье рук невозможно удалить бактерии из глубоких слоев кожи, для этого необходимо прибегать к способам очистки специальными средствами [1].

В настоящее время, когда весь мир находится в тяжелой эпидемиологической ситуации, по рекомендациям ВОЗ наиболее эффективным способом профилактики COVID-19 является регулярная обработка рук спиртосодержащими антисептиками. Люди стали злоупотреблять антисептическими средствами, но при их использовании страдает верхний слой кожи, то есть резидентная микрофлора, что приводит к нарушению нормального баланса микробиоты.

Чистые руки – это руки, на которых отсутствуют не только транзиторные микроорганизмы, но еще и загрязнения, содержащие вещества немикробной природы. Кроме того, во многих странах наблюдается дефицит воды, особенно за пределами больших городов, поэтому актуальна разработка средств, которые являются щадящими для кожи рук и не требуют смывания водой при использовании [2].

После изучения рынка гигиенических и косметических средств со схожей способностью к очищению, было обнаружено, что подобных средств единицы, более того в основном они используются для выравнивания микрорельефа кожи лица и выполняют функцию мягкого пилинга, направленного на удаление ороговевших клеток кожи, остальные косметико-гигиенические средства требуют полного или частичного смывания с использованием воды.

В условиях, когда нет возможности использовать мыло или же нет доступа к воде, можно воспользоваться очищающим средством-скаткой.

Принцип действия средства-скатки основан на абсорбции с поверхности кожи различных загрязнений и отмерших клеток, за счет входящей в состав целлюлозы, которая при трении рук образует «катышки», легко убирающиеся без применения воды с поверхности кожи (рис. 1).

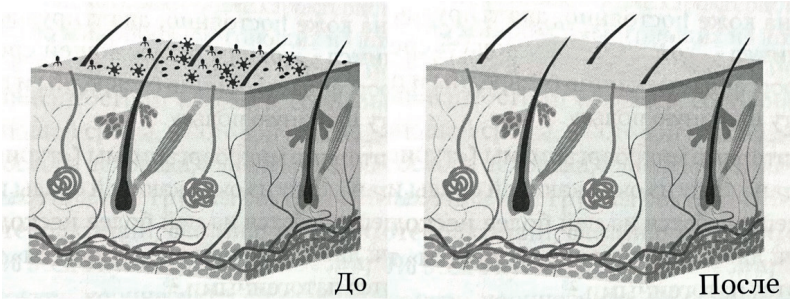


Рисунок 1. Действие средства-скатки

Достоинством данного средства является щадящее воздействие на кожу, эффективное удаление загрязнений при отсутствии использования воды.

Таким образом, целью данной работы является разработка состава и технологии производства очищающего средства для рук, не требующего смывания.

Для реализации поставленной цели были сформированы следующие задачи:

- изучения рынка современных очищающих средств;
- изучение основных и вспомогательных компонентов состава очищающих средств;
- разработка состава очищающего средства-скатки;
- разработка технологии производства, проекта спецификации качества очищающего средства;
- проведение оценки образцов средства.

Грамотным подходом при разработке состава косметического средства, в частности очищающего средства, является проведение многофакторного эксперимента с целью установления влияния различных вспомогательных веществ и их количеств на свойства конечного разрабатываемого продукта и выбора оптимального состава, отвечающего требованиям ГОСТ 31696-2012 «Продукция косметическая гигиеническая моющая».

Экспериментальная часть

Материалы и методы

На основании анализа литературных данных и изучения составов пилингов-скаток на основе микрокристаллической целлюлозы, а также составов других очищающих средств, зарегистрированных на рынке, был составлен перечень возможных веществ-компонентов, предлагаемых к применению в разработке состава очищающего средства-скатки, не требующего смывания.

В качестве объектов изучения использовали: воду деминерализованную (BWT, Россия), целлюлозу микрокристаллическую (экспериментальный образец, Россия), эуксил K_{100} (Schülke & Mayr GmbH, Германия), глицерин (Акрихимфарм, Россия), cutina GMS V (BASF, Германия), lanette D (BASF, Германия), cosmedia SP (BASF, Германия), водорастворимое масло оливы (Res Pharma, Италия), cetiol CC (BASF, Германия), myritol 318 (BASF, Германия), этиловый спирт 96% (Гатчинский спиртовой завод, Россия), отдушку (Leko Style, Россия).

Методика получения средства-скатки: фаза А – в расчетном количестве горячей воды растворяют консервант и глицерин при температуре 80°С при перемешивании (130 об/мин). Затем вводят расчетное количество эмульгатора, перемешивают, оставляют на 20 минут. Фаза В: расчетное количество cutina GMS V, lanette D, водорастворимого масла оливы, cetiol CC и myritol 318 нагревают до температуры 80°С, добавляют к фазе А при перемешивании в течение 5 минут (130 об/мин). Затем массу постепенно охлаждают на воздухе до температуры 50°С (20 об/мин), далее вводят микрокристаллическую целлюлозу при гомогенизации. При температуре не более 30°С, вводят отдушку и спирт этиловый.

Определение показателей качества средства проводили в соответствии с требованиями ГОСТ 31696-2012 «Продукция косметическая гигиеническая моющая» по следующим показателям [3]: внешний вид, цвет, запах, водородный показатель pH и потребительские свойства, а именно очищающая способность, увлажнение, способность впитываться в кожу, скатываемость.

В качестве модельного загрязнителя использовали 10% водный раствор активированного угля, нанесенный и высушенный на поверхности кожи.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования были определены основные компоненты состава. Все вещества-кандидаты были разделены на группы по назначению (таблица).

Таблица – Перечень возможных веществ-компонентов

Назначение	Вещество
Эмоленты	Глицерин растительный, cetiol CC, гиалуроновая кислота, д-пантенол, пропиленгликоль, водорастворимое масло оливы, водорастворимое масло арганы, myritol 318, бетаин, лецитин, церамиды, акваксил
Структурообразователи	Cutina GMS V, lanette O, lanette D, lanette SX, cosmedia SP, лецигель
Скрабирующая/скатывающая основа	Микрокристаллическая целлюлоза, полученная газофазным гидролизом, микрокристаллическая целлюлоза, полученная кислотным гидролизом, NaКМЦ
Консерванты	Estelab CPN, protectol PE, эуксил $K_{100,}$ sensicare C1000
Активные компоненты	Витамин Е, календула, экстракт магнолии, экстракт черемухи, алоэ-вера экстракт водный, водорастворимое масло зародышей пшеницы, экстракт зеленого чая, моркови экстракт пропиленгликолевый
Регуляторы pH	Лимонная кислота, сорбиновая кислота, гидроксид калия, гидроксид натрия
Отдушки/Эфирные масла	Отдушки «фруктовые», «цветочные», эфирное масло лаванды, укропа
Растворители	Вода очищенная, спирт этиловый, изопропиловый спирт

Было установлено, что самым оптимальным компонентом основы является микрокристаллическая целлюлоза, полученная газофазным гидролизом в количестве не менее 5% и не более 16%. Выявлено, что микрокристаллическая целлюлоза, полученная кислотным гидролизом по свойствам скатки уступает МКЦ, полученной газофазным гидролизом по скорости удаления остатков «катышек» с кожи. Более того для получения скатки-суспензии, на основе МКЦ, полученной газофазным гидролизом необходимо затратить меньше воды, чем для получения такой же консистенции из МКЦ, полученной кислотным гидролизом. Гель, образовавшийся при использовании NaКМЦ в качестве основы, липнет к рукам, оставляет неприятное ощущение на коже, требует смывания. Таким образом, была установлена нецелесообразность использования NaКМЦ и МКЦ, полученной кислотным гидролизом в качестве основы.

В ходе работы было разработано несколько составов с использованием разных технологий получения очищающего средства-скатки.

Была определена зависимость скатывающей способности и скорости удаления средства с рук от количества спирта этилового, а также от количества добавленной целлюлозы. Спирт этиловый вводили в количестве от 1% до 10%. В итоге проведения эксперимента наиболее интересным показал себя состав с самой большой концентрацией спирта, средство прекрасно легко скатывалось, не впитываясь в кожу. Было выявлено, что при введении менее 5% компонента основы, средство снижает способность скатываться и образует жидкую суспензию, при использовании более 16% микрокристаллической целлюлозы в составе, образуется очень сухая масса, способная травмировать кожу. После чего была установлена целесообразность введения глицерина и myritol 318 в качестве увлажняющих компонентов, поскольку они обладают свойством хорошо впитывается, не оставляют после себя жирного и тяжёлого ощущения на коже и в сочетании с остальными ингредиентами, продукт соответствует целевым параметрам.

Сравнивая аналогичные средства для удаления загрязнений из других отраслей, можно отметить, что средств с подобным составом обнаружено не было.

В ходе разработки был определен итоговый перечень компонентов и предложена процессуальная схема (рис. 2).

Рисунок 2. Процессуальная схема

По внешнему виду средство-скатка представляет собой белую матовую пастообразную массу без комочков и механических включений.

Разработана балльная шкала оценивания потребительских свойств:

II. Потребительские свойства

Очищающая способность. Шкала оценивания:

1 – совсем не очищает;

2 – очищает, но не до конца;

3 – прекрасно очищает, не оставляя после себя никаких следов загрязнений

Увлажнение кожи. Шкала оценивания:

1 – нет ощутимых отличий от кожи до применения;

2 – ощущается незначительное отличие от кожи до применения;

3 – кожа более увлажненная, чем до применения

4 – очень увлажненная

Способность впитываться в кожу. Шкала оценивания:

1 – средство полностью впитывается

2 – незначительно впитываться в начале нанесения

3 – совсем не впитывается

Скатываемость. Шкала оценивания:

1 – совсем не скатывается;

2 – процесс скатывания более 1 минуты;

3 – хорошо скатывается, но «катышки» сложно убрать с рук;

4 – прекрасно скатывается, не оставляя на руках «катышек»

Согласно представленной шкале оценивания, на добровольцах (студентах 4 курса) были апробированы средства разрабатываемых составов. Результаты очищающей способности представлены на рис. 3. В качестве модельного загрязнителя был использован 10% раствор активированного угля и чернила. По всем проверяемым показателям, добровольцы выбрали состав, содержащий 12% целлюлозы в соотношении с 10% этилового спирта.

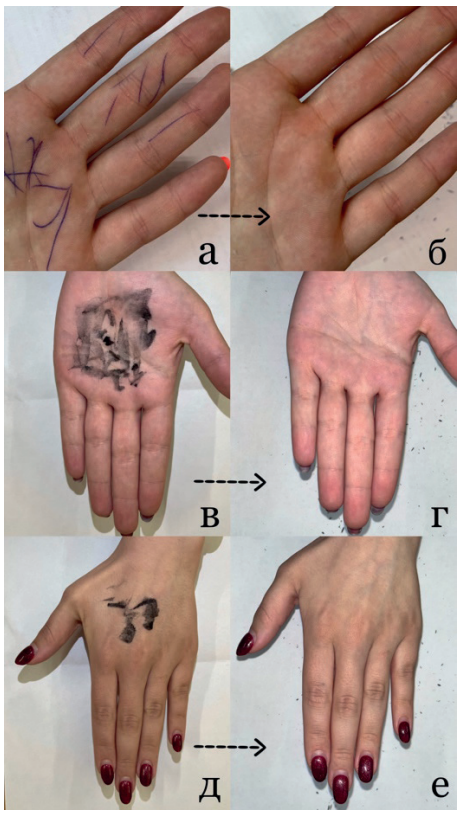


Рисунок 3. Кожа рук до и после использования средства-скатки для удаления модельных загрязнений (а,б – загрязнение чернилами, в,г – загрязнение 10% раствором активированного угля)

Таким образом, средство показало хорошие очищающие способности как для обычных поверхностных механических загрязнений, так и въевшихся механических загрязнений.

Заключение

В ходе выполнения работы был изучен рынок очищающих средств, была выявлена потребность и актуальность в производстве средств для рук, не требующих смывания. Наиболее эффективными являются средства, включающие в состав мягкие скрабирующие абсорбирующие компоненты, такие как производные целлюлозы.

С учетом вышеизложенного был разработан состав средства-скатки на основе микрокристаллической целлюлозы отечественного производства и спирта этилового. Установлена зависимость очищающих свойств и легкости удаления средства-скатки от количества спирта этилового. Разработана процессуальная схема очищающего средства-скатки, балльная шкала оценки потребительских свойств, в соответствии с которой проведена оценка средства-скатки различных составов. Показано, что данное средство достаточно эффективно удаляет как поверхностные механические загрязнения, так и въевшиеся механические загрязнения.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.47.35 Косметика

76.33.26 Общая гигиена

ЛИТЕРАТУРА

1. Ратькин И.В., Дорофеева Е.Д.. Исследование наличия микроорганизмов на руках человека // Юный ученый. 2017. N 5(14). С. 86-94.

2. Питьевая вода // Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс] URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water

3. ГОСТ 31696-2012 Продукция косметическая гигиеническая моющая. Общие технические условия [Электронный ресурс] URL.: https://docs.cntd.ru/document/1200098761

SUMMARY

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY AND COMPOSITION OF CLEANSER PEELING – ROLL FOR HANDS THAT DOES NOT REQUIRE TO BE WASHED AWAY

Tumanova A.P., 4th year student (ORCID: 0000-0002-3222-3888)
Scientific supervisor: **Basevich A.V.**, Associate Professor, Candidate of Pharm. Science (ORCID: 0000-0002-6864-6794)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: aleksandra.tumanova@spcpu.ru

The article is devoted to the study of the relevance of the use of cleansers and the features of the action of rolling agents as well as the development of technology and composition of a cleanser peeling – roll for hands, that does not require to be washed away.

Keywords: *cleansing, hand care, roll-up product, choice of components, technological properties, hygiene products.*

REFERENCES

1. Ratkin I.V., Dorofeeva E.D. Study of the presence of microorganisms on human hands // Young scientist. 2017. N 5(14). P. 86-94. (in Russian)
2. Drinking water // World Health Organization [Internet] URL: https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water (in Russian)
3. GOST 31696-2012 Cosmetic hygienic washing products. General specifications [Internet] URL: https://docs.cntd.ru/document/1200098761 (in Russian)

УДК 007.5

ПРИМЕНЕНИЕ РОБОТОВ-МАНИПУЛЯТОРОВ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Туруспаева Ж.Ж., студ. 2 курса
Руководитель: **Недосекова Т.С.**, кандидат технических наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: turuspaeva2002@mail.ru

В данной работе рассматривались возможности применения роботов-манипуляторов в фармацевтической промышленности. Проведен анализ основных типов высокотехнологичных роботов, выпускаемых в настоящее время. Определены преимущества промышленного робота-манипулятора на фармацевтическом производстве Роботизированные установки полностью автоматизирует процесс от загрузки и дозирования лекарственных средств и до нанесения покрытий на таблетки и финишной обработки продукции с нулевым участием человека, что исключает ошибки, свойственные человеку при выполнении рутинной работы, а также позволяет обеспечить уровень стерильности до самого высокого класса А и SAL.

Ключевые слова: *робот-манипулятор, фармацевтическая промышленность, робототехника, упаковка, сборка, дозировка, уровень стерильности.*

В нынешний информационный век развивается робототехника, которая приводит к автоматизации работы практически всех отраслей промышленной деятельности в том числе и фармацевтической промышленности, так как роботы и роботизированные установки заменяют людей при выполнении опасных, однотипных операций, при работе в агрессивных и высоко стерильных средах. Роботы-манипуляторы, благодаря встроенным датчикам, способны производить контроль над точностью и безопасностью дозирования, перекладки, упаковки лекарственных препаратов.

Современная медицина на данный момент нуждается в быстром и эффективном массовом производстве, которое могут обеспечить роботы-манипуляторы, внедренные в ходе автоматизации. На данный момент есть несколько производителей роботов-манипуляторов такие как: FANUC, Hanwha, ABB, SCARA, uFactory, TM Robotics, EPSON, Robotec. Данные производители выпускают высокотехнологичные установки для повышений функциональности, предотвращение рисков в процессе производства и увеличения производительности выпуска фармацевтических изделий. По этой причине число производителей, желающих автоматизировать производство с помощью роботов-манипуляторов, в фармацевтической отрасли увеличивается.

Целью и задачами данной работы является ознакомление с основными производителями роботов-манипуляторов, их классификацией, а также определение возможности их использования в фармацевтической промышленности.

Роботы-манипуляторы направленны на автоматизацию производственных процессов и замену ручного труда механическим. На предприятии фармацевтической промышленности использование роботов помогает оптимизировать:

• приемку сырья;
• лабораторные процедуры;
• управление упаковкой;
• вспомогательные процессы, менеджмент;
• производство: взвешивание, дозирование, смешивание, подготовку [1].

В настоящее время специалисты выделяют три основных вида промышленных роботов:

• Автоматические.

Программные роботы – работают на основе циклической программы, которая заранее вводится в блок памяти. Это самые простые и дешевые представители автоматических роботизированных устройств.

Адаптивные – благодаря встроенной системе датчиков и сенсоров могут переключать программу с учетом изменения внешних условий.

Обучаемые – управляющая программа корректируется в зависимости от хода технологического процесса. Затем робот функционирует с учетом внесенных изменений.

Интеллектуальные – последнее поколение устройств. Они имеют элементы искусственного интеллекта, поэтому могут сами анализировать окружающую среду и действовать с учетом полученных сведений.

• Биотехнические.

Манипуляторы или командные роботы. Управляются оператором дистанционно.

Копирующие. Повторяют действия оператора.

Полуавтоматические. Оператор задает движение основному органу, работа сочленений согласуется и корректируется системой управления.

• Интерактивные.

Автоматизированные. Автоматический режим работы чередуется с работой оператора.

Супервизорные. Автоматически выполняют заданный цикл, но переход от одного этапа работы к другому осуществляется через команды оператора.

Диалоговые. Работая в автоматическом режиме, в то же время взаимодействуют с оператором с помощью специального языка (например, голосовые команды).[3]

По назначению роботы условно делятся на несколько категорий:

1. Традиционные. Это своеобразные робо-руки, работающие на сервоприводах. Движения ограничиваются размерами самой руки и инструмента, который закрепляется на ней. Они поворачиваются и совершают сложные движения по разнообразным траекториям. К ним относятся пневмоприсоски, захваты, распылители краски, роботы для 3D-печати, сварки.

2. Роботы типа SCARA. Их особенность: высокая точность и повторяемость, наряду с меньшей областью работы и степенью свободы. Соответственно, используются в производствах, где важна точность, а не большая зона доступа (комплектация изделий и пр.)

3. Дельта-роботы. Совершают быстрые и точные движения, поэтому служат для выполнения фасовочных и монтажных работ в фармацевтике, электронной и пищевой промышленности [5].

4. Роботы для обслуживания станков. Их основные функции – выемка деталей из станков с ЧПУ, загрузка материала, техническое обслуживание: замена инструментов, смазка. Могут обслуживать несколько станков.

5. Коллаборативные роботы (коботы). Работают вместе с людьми, и полностью безопасны для них. Легко настраиваются на разные виды работ, их можно быстро обучить выполнять новые задачи. На данный момент считаются лучшими промышленными роботами.[3]

6. Шарнирный робот сконструирован по принципу человеческой руки. Он состоит из последовательности соединений, каждое из которых дает ему степень свободы (от 4 до 7 DOF). Эта очень гибкая структура дает ему возможность достичь любой позиции и ориентации в своем рабочем пространстве, несмотря на препятствия.[4]

Рассмотрим роботы-манипуляторы наиболее известных фирм производителей.

1. FANUC (рис. 1)

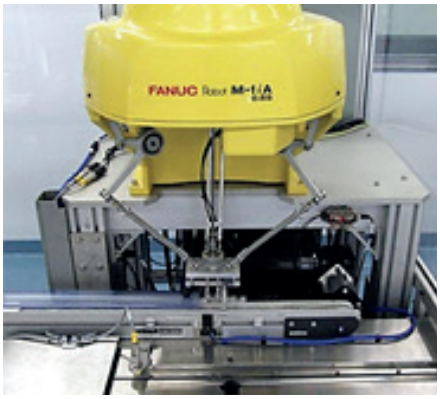


Рисунок 1. Fanuc Robot M-1 iA 0,5S

Упаковку лекарств компания TechLab доверила роботу производства FANUC. Робот использовался для загрузки предметов на подающий конвейер, который доставлял их к машине первичной упаковки. Это увеличило скорость упаковочной линии TechLab до 35 шт. / мин. и сократило количество необходимого персонала с семи-восьми операторов до двух. А комбинация двух роботов увеличила скорость упаковки препаратов до 90 шт./мин., а это более чем в два раза. [6]

2. Hanwha

Hanwha – продукция этой южнокорейской фирмы используется в Азии, Европе и США. Кобаты (коллаборативные роботы) становятся все популярнее, т.к. они дешевле в обслуживании и просты в управлении. Наибольшим спросом пользуется Hanwha HCR-5 cobot. Используется для упаковки и укладки в фармацевтической промышленности.

3. Universal Robots

Universal Robots основана в 2005 году. Она производит гибких коллаборативных роботов небольшого размера. Первая модель – UR5 – была выпущена в 2008 году. Кобаты Universal Robots используются при сборке, паллетизации, упаковке, литье, сварке. Они совместимы со станками с ЧПУ.

4. ABB

ABB – швейцарская фирма, которая выпустила на сегодняшний день более 160 тысяч роботов. Они используются в пищевых и мебельных производствах, в фармакологии, электронике и пр.

В России задействованы около 1,5 тыс. роботов этой фирмы. Например, они осуществляют контроль качества на предприятиях компании Novo Nordisk по производству продукции для лечения серьезных хронических заболеваний (Калужская область), автоматизируют производственные процессы завода «МолПродукт» (Московская область) и т.д.

5. Kawasaki (рис. 2)

Рисунок 2. Kawasaki MC004N

Компания работает на рынке робототехники с 1969 года. Они подходят для работы в сложных условиях (агрессивные среды, высокие температуры). Разработанные специально для применения в медицине и фармацевтике, промышленные роботы Kawasaki серий MS и MC соответствуют всем требованиям технологического оборудования в области здравоохранения и фармацевтики по точности, стабильности и чистоте. Благодаря своим характеристикам эти роботы идеально подходят для решения широкого спектра задач по сборке, дозировке, контролю и перемещению материалов в фармацевтике и медицинской отрасли.

6. SCARA

Разработаны специально для максимально гибкого и быстрого выполнения работ по сбору и обработке мелких деталей в различных отраслях, включая фармацевтику. Уникальная конструкция с механизмом шарнирного параллелограмма и очень большая рабочая зона делают этих роботов идеальными для автоматизации сложных задач, которые не могут быть выполнены с помощью традиционных роботов с последовательным подключением или роботами SCARA. Невероятная универсальность в широком спектре областей применения. Высокое ускорение на малой площади. Сбор и обработка нескольких деталей. Интеллектуальное программирование в автономном режиме [3].

7. UNITECHNOLOGIES SA (рис. 3)

Рисунок 3. Робот-дозатор OEM

Робот-дозатор OEM для системного интегратора управляемый компьютером OEM-робот-дозатор для интегратора может использоваться для полуавтоматических или полностью автоматических объемных дозировочных операций.

3 оси OEM-робота полностью программируются с помощью программного обеспечения mta MotionEditor, включая такие параметры дозирования как объем дозирования, скорость дозирования, соотношение смешивания, а также другие параметры дозирования, например, неограниченное количество точек, линейных или круговых гранул. [6]

8. Компания Robotec (рис. 4)

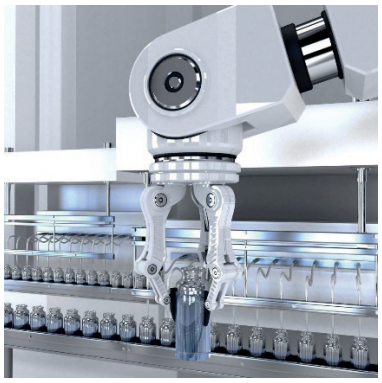


Рисунок 4. Робот для чистого производства

Robotec оптимизирует инвестиции клиента, создавая высокотехнологичные установки для чистых помещений «Clean Room».

Роботизированные манипуляторы соответствуют требованиям GMP и могут быть адаптированы под потребности вашего производства.

«Clean Room»: технологическая безопасность и хорошая репутация производителя.

Роботы для чистого производства. Когда производство и упаковка продукции требуют условий чистого помещения или стерильности «Clean Room», риск финансовых и репутационных потерь из-за попадания мельчайших частиц может быть огромен.

Источниками загрязнений в «чистых помещениях» являются:

1. Оборудование, не подходящее для условий «Clean Room»;
2. Человек, который ежеминутно генерирует миллионы частиц, включая биологически активные.

Роботы для чистого (стерильного) производства собираются по специальной технологии, тестируются и проходят сертификацию IPA. Установка снабжена системой внутренней вакуумной очистки, которая всасывает частицы в процессы работы, устраняя риски загрязнения из рабочей зоны. Робот работает в изолированной чистой комнате в полностью автономном режиме. В процессе участвует оператор, который находится вне комнаты на удаленном расстоянии от рабочего процесса, требующего определенной категории чистоты или стерильности [2].

Использование промышленных роботов-манипуляторов на фармацевтическом производстве дает целый ряд преимуществ:

- Ощутимая экономия площади производства
- Исключение ошибок, свойственных человеку при выполнении рутинной работы
- Круглосуточный режим работы промышленного робота
- Возможность работы в помещениях с неблагоприятной внешней средой
- Возможность интеграции в работающие производства
- Оперативность монтажа и наладки оборудования
- Снижение затрат на оплату труда персонала
- Увеличение производительности выпуска медицинской продукции
- Высокий уровень стерильности [7].

Надо учесть также, что в современном мире роботы-манипуляторы быстро совершенствуются, появляются новые модели. которые способствуют к улучшению качества, увеличению выпуска фармацевтической продукции и исключению ошибок свойственных человеку. Вероятно, в скором времени все стадии производства фармацевтической промышленности благодаря роботам-манипуляторам будут полностью автоматизированны.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

55.30.51 Применение роботов и манипуляторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Промышленные роботы, захваты, решения для производств // Technored [Электронный ресурс] URL: https://technored.ru/catalog/avtomatizaciya_proizvodstva/farmacevticheskoj_promyshlennosti.html (Дата обращения 23.02.2022).

2. Роботизированные решения для «чистых помещений» // Robotec [Электронный ресурс] URL: https://robotec.ru/solutions/17-robotizirovannye-resenia-dla-cistyh-pomesenij (Дата обращения 23.02.2022).

3. Промышленные роботы: виды промышленной робототехники в производстве – примеры применения // 3dtool [Электронный ресурс] URL: https://3dtool.ru/stati/promyshlennye-roboty-dlya-proizvodstva/(Дата обращения 25.02.2022).

4. Как правильно выбрать промышленного робота. Производств // Guide.Directindustry [Электронный ресурс] URL: https://guide.directindustry.com/ru/kak-pravilno-vybrat-promyshlennogo-robota/#4 (Дата обращения 23.02.2022).

5. Роботы DELTA: идеальное решение для сбора и упаковки // Fanuc [Электронный ресурс] URL: https://www.fanuc.eu/ua/ru/роботы/страница-фильтра-роботов/delta-robots (Дата обращения 28.02.2022).

6. Робототехника в медицине // Yvision.kz [Электронный ресурс] URL: https://yvision.kz/post/933720 (Дата обращения 28.02.2022).

7. Автоматизация пищевой промышленности и фармацевтики // Sixdof [Электронный ресурс] URL: https://sixdof.ru/products/pishhevaya-promyshlennost-i-farmacevtika/ (Дата обращения 23.02.2022).

SUMMARY

APPLICATION OF ROBOTIC MANIPULATORS IN THE PHARMACEUTICAL INDUSTRY

Turuspayeva Zh.Zh., 2nd student
Scientific supervisor: **Nedosekova T.S.**, Cand. of Technical Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: turuspaeva2002@mail.ru

In this work, the possibilities of using robot manipulators in the pharmaceutical industry were considered. The analysis of the main types of high-tech robots currently produced was carried out. The robotic plants completely automate the process from the loading and dosing of drugs to the coating of tablets and finishing of products with zero human participation, which eliminates human errors during routine work, and also allows to ensure the level of sterility up to the highest class A and SAL.

Keywords: *robot manipulator, pharmaceutical industry, robotics, packaging, assembly, dosage, sterility level.*

REFERENCES

1. Industrial robots, stocks, solutions for production // Technored. [Internet]. URL: https://technored.ru/catalog/avtomatizaciya_proizvodstva/farmacevticheskoj_promyshlennosti.html (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

2. Robotic solutions for «clean spaces» // Robotec. [Internet]. URL: https://robotec.ru/solutions/17-robotizirovannye-resenia-dla-cistyh-pomesenij (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

3. Industrial robots: prominent industrial robotics in production – examples // // 3dtool. [Internet]. URL: https://3dtool.ru/stati/promyshlennye-roboty-dlya-proizvodstva/ (Accessed 25.02.2022). (in Russian)

4. Like a great-grandson industrial robot. Proizvstv // Guide.Directindustry. [Internet]. URL: https://guide.directindustry.com/ru/kak-pravilno-vybrat-promyshlennogo-robota/#4 (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

5. DELTA robots: ideal solution for collection and packaging // Fanuc. [Internet]. URL: https://www.fanuc.eu/ua/ru/роботы/страница-фильтра-роботов/delta-robots (Accessed 28.02.2022). (in Russian)

6. Robotics in medicine // Yvision.kz. [Internet]. (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

7. Automation of petty industry and pharmaceuticals // Sixdof. [Internet]. URL: https://sixdof.ru/products/pishhevaya-promyshlennost-i-farmacevtika/ (Accessed 23.02.2022). (in Russian)

УДК 61:615.1

РАЗРАБОТКА ТЕСТА РАСТВОРЕНИЕ ДЛЯ ФИЛАМЕНТОВ – ПОЛУПРОДУКТА ПОЛУЧЕНИЯ ТАБЛЕТОК ИНДАПАМИДА

Уфимцева М.С., студ. 5 курса
Руководители: **Смехова И.Е.**, докт. фарм. наук, профессор (ORCID: 0000-0002-0013-4784, ResearcherID: D-1365-2015);
Калинина О.В., старший преподаватель
Консультант: **Терентьева О.А.**, канд. фарм. наук, старший преподаватель (ResearcherID: P-9219-2017)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ufimceva.mariya@pharminnotech.com

Проведена разработка методик контроля качества для полупродуктов в технологии таблеток – филаментов, в т.ч. теста «Растворение» и оценка филаментов по критерию «Однородность дозирования».

Ключевые слова: *филаменты, полимеры для 3D печати, индапамид, тест «Растворение», «Однородность дозирования», экструзия горячего расплава.*

Последние десятилетия характеризуются появившейся и активно развивающейся тенденцией к персонализированной медицине, когда для лечения конкретного пациента нужен индивидуальный лекарственный препарат с уникальными

характеристиками, такими как дозировка, параметры высвобождения или лекарственная форма. С развитием инновационных технологий, таких как 3D печать, появляются новые горизонты в том числе и для фармацевтического дела: с использованием аддитивных технологий возможно производство известных нам лекарственных форм, но в совершенно новом исполнении. Примером могут служить филаменты – полупродукты для производства таблеток. Филамент представляет собой полимерную нить, несущую в себе активную фармацевтическую субстанцию, которую возможно использовать для создания таблеток на 3D принтере. В связи с появлением подобного подхода, становится актуальной проблема разработки методик контроля качества для полупродуктов будущих лекарственных форм.

Одним из методов оценки качества классических твердых дозированных лекарственных форм является тест «Растворение», характеризующий степень и скорость высвобождения активной фармацевтической субстанции из лекарственного препарата в стандартных условиях. В текущий момент времени испытание «Растворение» является обязательным этапом оценки качества большинства твердых дозированных лекарственных форм.

Целью работы является разработка теста «Растворение» для филаментов – полупродукта получения таблеток индапамида.

Задачи, поставленные в рамках данной работы: выбор метода и условий проведения теста «Растворение» филаментов: аппарата, скорости его вращения, среды растворения, исследуемого образца; разработка методов анализа количественного содержания индапамида в филаментах; проведение сравнительного теста кинетики растворения филаментов и традиционно получаемых таблеток индапамида.

Индапамид относится к производным сульфонамида с индольным кольцом, и по фармакологическим свойствам близок к тиазидным диуретикам, которые ингибируют реабсорбцию ионов натрия в кортикальном сегменте петли нефрона. При этом увеличивается выделение почками ионов натрия, хлора и в меньшей степени ионов калия и магния, что сопровождается увеличением диуреза и антигипертензивным эффектом. Антигипертензивная активность индапамида связана с улучшением эластических свойств крупных артерий, уменьшением артериолярного и общего периферического сосудистого сопротивления. Уменьшение общего периферического сопротивления сосудов обусловлено несколькими механизмами: снижением чувствительности сосудистой стенки к норадреналину и ангиотензину II; повышением синтеза простагландинов, обладающих вазодилатирующей активностью; угнетением притока ионов кальция в гладкомышечные элементы сосудистой стенки [4].

Благодаря перечисленным выше эффектам индапамид широко используется в монотерапии артериальной гипертензии, а также совместно с другими антигипертензивными лекарственными средствами [4].

Объектами исследования служили филаменты, содержащие 2% индапамида, получаемые методом экструзии горячего расплава. В качестве носителя индапамида в технологии филаментов использовались полимеры Soluplus и Kollidon VA 64. В филаментах с Kollidon VA 64 дополнительно был введен стеарат магния (0,5%) (таблица 1).

Таблица 1 – Составы исследуемых филаментов

Вещество	Состав 1 (%)	Состав 2 (%)
Kollidon VA 64	98	0
Soluplus	0	98
Стеарат магния	0,5	0
Индапамид	2	2
Описание	Прозрачные бесцветные филаменты с розоватым оттенком	Прозрачные филаменты с белым оттенком

Исследование проводили на приборе Guoming RC-6 (Китай), аппарат – лопастная мешалка; скорость вращения – 100 об/мин. Растворение проводили согласно ОФС 1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм», ФС.3.1.0038.18 «Индапамид, таблетки» [1, 3]. В качестве среды растворения использовали раствор кислоты хлористоводородной 0,1 М. Объем среды – 500 мл. Температура среды 37± 0,5°С.

Отбор проб проводили через 10, 15, 20, 30, 45 и 60 минут. Количество перешедшего в среду растворения индапамида определяли спектрофотометрически на спектрофотометре «СФ-2000» (Россия) при длине волны 240 и 275 нм в кварцевой кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали среду растворения.

Отработка методики проведена на таблетках, покрытых пленочной оболочкой, под торговым названием Арифон (производства «Лаборатории Сервье Индастри», Франция), содержащие 2,5 мг индапамида [4].

Начальным этапом работы послужила отработка методики теста «Растворение» для таблеток Арифон. Было проанализировано 12 образцов таблеток. Профили высвобождения активной фармацевтической субстанции (АФС) из таблеток представлены на рисунке 1.

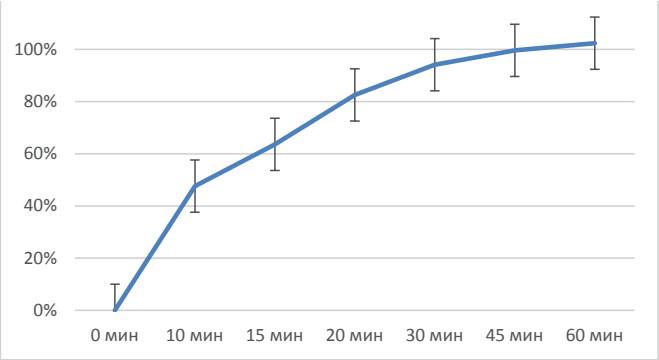


Рисунок 1. Профиль высвобождения индапамида из таблеток Арифон

По оси ординат – количество высвободившегося индапамида, %; по оси абсцисс – время эксперимента, мин

По результатам проведенного теста было установлено, что к 60 минуте из таблеток Арифон высвобождается около 102% индапамида, что соответствует требованиям ФС.3.1.0038.18 «Индапамид, таблетки».

Стоит отметить, что в настоящее время отсутствует какая-либо нормативная документация по оценке качества филаментов, именно поэтому и была поставлена цель разработки методики теста Растворение для филаментов путем адаптации существующей методики теста «Растворение» для таблеток, содержащих индапамид.

С целью оценки совместимости полимеров Soluplus и Kollidon VA 64 с субстанцией индапамида были сняты ультрафиолетовые спектры поглощения физических смесей полимеров с АФС, а также спектр субстанции индапамида.

Было установлено, что ультрафиолетовый спектр поглощения 0,001% раствора субстанции индапамида в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты в области длин волн от 220 нм до 350 нм имеет максимум и плечи при 242 нм, при 279 нм и 287 нм (рис. 2) [2].

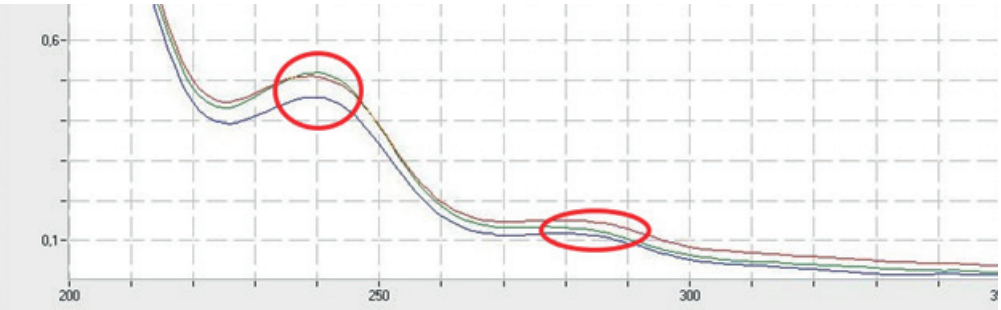


Рисунок 2. Спектр поглощения субстанции индапамида

По оси ординат – оптическая плотность раствора; по оси абсцисс – длина волны, нм

Для анализа физических смесей полимеров Soluplus и Kollidon VA 64 с индапамидом были приготовлены 0,5% растворы в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты. Полученные УФ-спектры представлены на рисунках 3 и 4, соответственно.

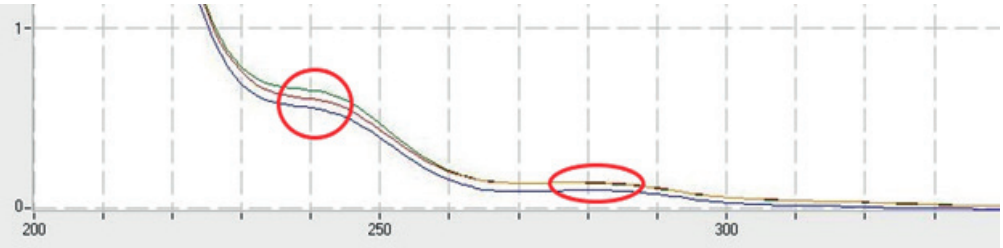


Рисунок 3. Спектр поглощения физической смеси полимера Kollidon VA 64 с индапамидом

По оси ординат – оптическая плотность раствора; по оси абсцисс – длина волны, нм

На спектре физической смеси полимера Kollidon VA 64 с индапамидом зафиксирован максимум при 242 нм, плечи при 279 и 287 нм, характерные для субстанции индапамида (рис. 3).

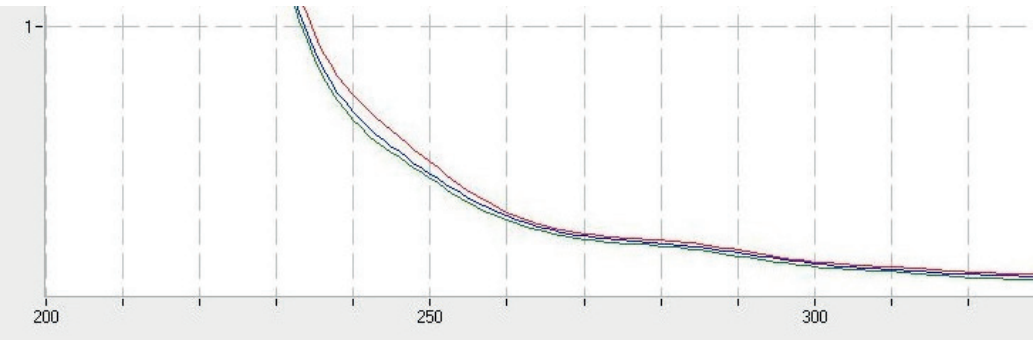


Рисунок 4. Спектр поглощения физической смеси полимера Soluplus с индапамидом

По оси ординат – оптическая плотность раствора; по оси абсцисс – длина волны, нм

На спектре поглощения физической смеси полимера Soluplus с индапамидом отсутствует максимум при 242 нм (Рисунок 4), что может свидетельствовать о взаимодействии индапамида с полимером Soluplus в кислой среде с образованием нового соединения, не имеющего аналогичного индапамиду максимума. Поэтому, использование полимера Soluplus как носителя АФС для производства филаментов, содержащих индапамид, не является приемлемым в технологии полупродуктов для получения твердых дозированных лекарственных форм. На рисунках 5 и 6 приведены структурные формулы индапамида и полимера Soluplus, соответственно [5, 6].

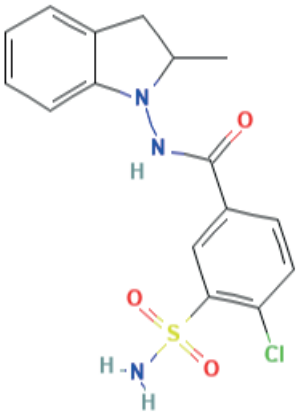


Рисунок 5. Структурная формула индапамида

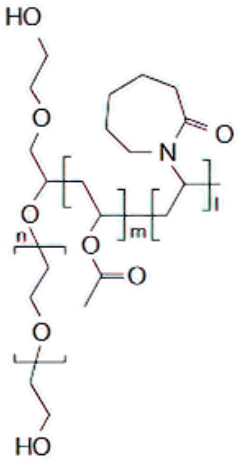


Рисунок 6. Структурная формула полимера Soluplus

Для филаментов на основе полимера Kollidon VA 64 была проведена оценка однородности дозирования. В связи с тем, что нити филаментов имели неодинаковый диаметр по своей длине, было принято решение, навески для исследования брать по массе. Навеска представляла собой отрезки филамента около 10 мм длиной, взятые из различных участков нити филамента. Результаты были получены на 12 образцах навесок (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты оценки однородности филаментов на основе полимера Kollidon VA 64

Навеска, №	Масса навески, мг	Количество индапамида, мг	Количество индапамида, %
1	50,7	0,97	1,92
2	60,0	1,13	1,88
3	64,4	1,22	1,90
4	55,0	1,05	1,91
5	66,0	1,12	1,71
6	53,4	1,22	2,29
7	50,4	1,05	2,08
8	50,0	1,20	2,40
9	50,0	1,12	2,24
10	50,5	1,02	2,02
11	50,3	1,01	2,01
12	50,8	1,09	2,16
	Среднее значение	**1,10**	**2,04**
	Стандартное отклонение	**1,08**	**0,19**

Было установлено, что содержание индапамида в филаментах на основе полимера Kollidon VA 64 составляет 2.04%±7.3%.

Благодаря полученным результатам можно утверждать, что образцы филаментов на основе полимера Kollidon VA 64 однородны.

Для разработки методики теста «Растворение» для филаментов, содержащих индапамид, за основу была взята методика теста «Растворение» для таблеток индапамида (ФС.3.1.0038.18 «Индапамид, таблетки»). Для оценки высвобождения АФС из филаментов брали навески массой около 0,25 г. Навески представляли собой отрезки нити полимера по 10 мм длиной, как было описано выше для исследования однородности дозирования. Испытание проводилось для полимера Kollidon VA64, содержащего 2% индапамида.

Результаты высвобождения субстанции индапамида приведены на рисунке 7.

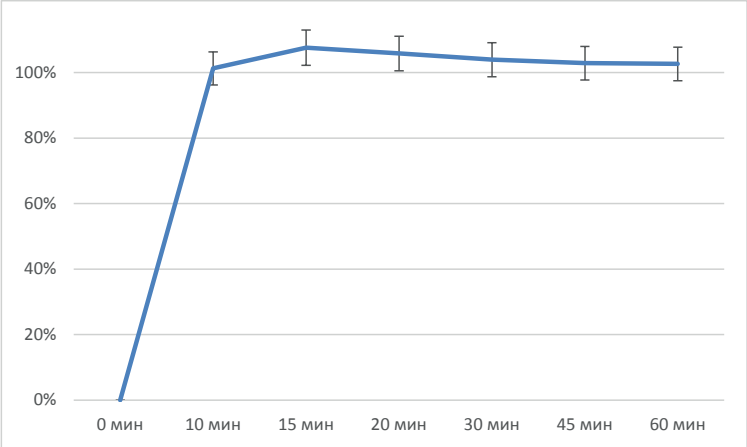


Рисунок 7. Профиль высвобождения индапамида из филаментов на основе полимера Kollidon VA 64

По оси ординат – количество высвободившегося индапамида, %; по оси абсцисс – время эксперимента, мин

По результатам проведенного теста было установлено, что уже к 10 минуте из филаментов на основе полимера Kollidon VA 64 высвобождается около 100% индапамида.

Таким образом, разработана методика теста «Растворение» для филаментов – полупродукта получения таблеток индапамида. Проведен выбор аппарата (лопастная мешалка), скорость вращения вращающих элементов (100 об/мин), среды растворения (0,1 М раствор кислоты хлористоводородной). Полученные результаты высвобождения индапамида из филаментов (около 100% к 10 минуте теста) позволяют говорить о конкурентоспособности подобных полупродуктов для производства таблеток. Показана однородность дозирования индапамида в филаментах на основе полимера Kollidon VA 64.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.33 Биофармация

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Растворение для твердых лекарственных форм. ОФС 1.4.2.0014.15 // Государственная Фармакопея. Т. II. XIV издания. 2018. С. 2164-2182.
2. Индапамид. ФС.2.1.0017.15 // Государственная Фармакопея РФ. Т. 3. XIV изд. 2018. С. 3888-3894. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol3/625/
3. Индапамид, таблетки. ФС.3.1.0038.18 // Государственная Фармакопея РФ. Т. 3. XIV изд. 2018. С. 3902-3908. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol3/639/
4. Индапамид // РЛС [Электронный ресурс] URL: https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_387.htm (дата обращения: 01.03.2022).
5. Indapamide // Pubchem [Электронный ресурс] URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3702 (дата обращения: 01.03.2022).
6. Technical Information Soluplus // Basf pharma [Internet] URL: https://pharma.basf.com (дата обращения: 01.03.2022).

SUMMARY

DEVELOPMENT OF A DISSOLUTION TEST FOR FILAMENTS – A SEMI-PRODUCT FOR OBTAINING INDAPAMIDE TABLETS

Ufimceva M.S., 5th year student
Scientific supervisors: **Smekhova I.E.,** Doctor of Pharmacy, Professor
(ORCID: 0000-0002-0013-4784, ResearcherID D-1365-2015); **Kalinina O.V.,** Senior Lecturer
Scientific advisor: **Terenteva O.A.,** Candidate of pharmaceutical sciences, Senior Lecturer (ResearcherID P-9219-2017)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: ufimceva.mariya@pharminnotech.com

Quality control methods for intermediate products in the technology of tablets – filaments have been developed, incl. Dissolution test and evaluation of filaments according to the criterion «Uniformity of dosing».

Keywords: *filaments, polymers for 3D printing, indapamide, Dissolution test, Dosing uniformity test, hot melt extrusion.*

REFERENCES

1. Dissolution for solid dosage forms. OFS 1.4.2.0014.15 // State Pharmacopoeia. XIV edition. Vol. II. 2018. P. 2164-2182. (in Russian)
2. Indapamid. FS.2.1.0017.15 // State Pharmacopoeia RF. XIV ed. Vol. 3. 2018. P. 3888-3894. [Internet] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol3/625/ (in Russian)
3. Indapamide, tablets. FS.3.1.0038.18 // State Pharmacopoeia RF. XIV ed. Vol. 3. 2018. P. 3902-3908. [Internet] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol3/639/ (in Russian)
4. Indapamide // RLS [Internet] URL: https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_387.htm (Accessed: 01.03.2022). (in Russian)
5. Indapamide // Pubchem [Internet] URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3702 (Accessed: 01.03.2022).
6. Technical Information Soluplus// Basf pharma. [Internet] URL: https://pharma.basf.com (date of access: 03/01/2022).

УДК 663.18

АНАЛИЗ ТРЕБОВАНИЙ К ПРОЕКТИРОВАНИЮ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ ПО ВЫПУСКУ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Федорова А.С., магистр 1 года обучения
Руководитель: **Конон А.Д.**, кандидат технических наук, доцент НОЦ Иммунобиотехнологии,
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: fedorova.aleksandra@spcpu.ru

Рассмотрены современные требования к проектированию производственных комплексов по выпуску иммунобиологических препаратов. Проанализированы современные требования к биологической безопасности при работе с ПБА III-IV групп патогенности. Подобраны методы обеззараживания и утилизации производственных стоков после производства иммунобиологических препаратов.

Ключевые слова: *производство иммунобиологических препаратов, биологическая безопасность, ПБА III-IV групп патогенности, обеззараживание и утилизация отходов класса Б.*

Производство высококачественных медицинских иммунобиологических препаратов (далее МИБП) в условиях, соответствующих международным стандартам, является одной из важнейших задач здравоохранения России. От успешности

решения этой проблемы зависит не только степень обеспечения санитарно-эпидемиологической безопасности населения страны, но и здоровье нации в целом [1].

На сегодня тема проектирования производства МИБП становится все более актуальной и востребованной. Пандемия COVID-19 заставила фармацевтическую отрасль во всем мире в кратчайшие сроки переориентироваться на разработку новых технологий производства вакцин. Установлена особенность внебольничных пневмоний у пациентов с лабораторно подтверждённым COVID-19 – высокая частота микст-инфекций вирусной и бактериальной этиологии, преобладающим этиологическим агентом является *Streptococcus spp* [2]. Возникла острая необходимость в поиске возможностей по проектированию и открытию новых производственных участков и цехов по выпуску МИБП.

Цель данной статьи – рассмотреть современные требования по проектированию производственных комплексов по выпуску МИБП для дальнейшего применения при создании проекта цеха по производству вакцины для профилактики *Streptococcus pneumonia*.

Данная цель позволяет сформулировать задачи:

- осуществить обзор нормативной документации, необходимой для проектирования цеха по выпуску МИБП, в том числе цеха по производству вакцины для профилактики *Streptococcus pneumonia*;
- рассмотреть требования к биологической безопасности при работе с ПБА III-IV групп патогенности;
- предложить процесс обеззараживания и утилизации производственных стоков после производства иммунобиологических препаратов.

Приоритетом для проектирования являются правила GMP. Прежде всего необходимо выполнить проект таким образом, чтобы соблюдались все требования размещения производственных помещений в соответствии с последовательностью технологических процессов. Предусмотреть мероприятия по предотвращению перекрестной контаминации: изолированные помещения на каждый производственный процесс, перепады давления между коридором и производственными помещениями, очистка отходящего воздуха из каждого помещения, отсутствие рециркуляции воздуха, где это недопустимо и т.д. [3].

Таким образом, в основе проектирования зданий фармацевтического производства лежит совместная работа специалиста в области технологии производства лекарственных препаратов и проектировщика, решающего объёмно-планировочные вопросы, базирующиеся на стандартах GMP для получения качественной готовой продукции, что неразрывно связано со здоровьем и безопасностью населения.

В основе стандартов GMP лежит принципиально новый подход к обеспечению качества ЛС, а именно, переход от контроля качества готовой продукции к обеспечению ее качества на протяжении всего процесса производства. При этом объектом контроля в первую очередь становятся сам процесс производства и различные производственные факторы (помещения, оборудование, системы, персонал и т.д.).

Также основными документами при проектировании цеха по производству МИБП, выдвигающими требования к проекту цеха, персоналу, оборудованию, помещениям, контролю качества, документации, самоинспекции являются ГОСТ Р 52249 (ОСТ 42-510-98) и Санитарные правила 3.3.2.1288-03, СанПиН 2.1.3684-21 и отчасти Госты ИСО 9000 [4,5,6,7].

В правилах GMP содержится комплекс стандартов, которые отражают общие требования и рекомендации к критическому оборудованию, помещениям, процессам, персоналу и методам их аттестации. Особенностью же нормативных документов по производству МИБП является то, что в них должно быть предусмотрено описание мер предосторожности при производстве, хранении и реализации продукции, имеющей контакт с патогенными биологическими агентами. Поэтому к персоналу, помещениям, оборудованию, системам вентиляции, системе стоков, аттестации при производстве МИБП Санитарными правилами установлены требования, учитывающие указанные особенности производства данной группы препаратов. Таким образом, чтобы осуществить организацию производства препаратов, в зависимости от вида продукции (химико-фармацевтические препараты, МИБП) необходимо учесть требования разных стандартов, создав при этом сочетанную систему надлежащей практики.

Проблема биологической безопасности вызывает все большую тревогу населения и ученых в связи с реальным ростом биологических угроз.

Обеспечение безопасности должно играть существенную роль в микробиологической промышленности. Предприятия, производящие МИБП с использованием микроорганизмов III-IV групп патогенности или применяющие микроорганизмы выше указанных групп патогенности при разработке и контроле МИБП, являются потенциальными источниками повышенной биологической опасности и обязаны обеспечить меры по защите персонала, населения и окружающей среды. К числу таких производств относится получение вакцин, сывороток, антибиотиков, аминокислот, белков, ферментов и т.д. вредные патогенные и биологические воздействия на человека, контакт с патогенными организмами может произойти в процессе выделения и роста микроорганизмов в производственных процессах, лабораторных условиях и при ферментации.

Попробуем обобщить свод нормативной документации и обратимся к требованиям к проектированию предприятий и лабораторий. Согласно СП 1.3.2322-08, в производственных зонах и лабораториях, проводящих работу с ПБА III – IV групп патогенности должны быть предусмотрены следующие помещения:

В «чистой» зоне должны быть расположены:

- комната (гардероб) для верхней одежды;
- помещения для проведения подготовительных работ (препараторская, моечная, приготовление и розлив питательных сред и др.);

- стерилизационная;
- помещение с холодильной камерой или холодильниками для хранения питательных сред и диагностических препаратов;
- комната для работы с документацией и литературой;
- комната для надевания рабочей одежды;
- подсобные помещения;
- туалет.

В «заразной» зоне:
- помещение для приема и регистрации материала;
- боксированные помещения или помещения, оснащенные боксами биологической безопасности;
- комнаты для проведения исследований;
- термостатная комната;
- автоклавная для обеззараживания.

В лабораториях, проводящих исследования с ПБА IV группы патогенности, в «заразной» зоне располагаются:
- комната для посевов;
- комната для проведения исследований с ПБА;
- комната для обеззараживания и стерилизации;

Во вновь строящихся и реконструируемых лабораториях и производственных зонах следует предусмотреть:
- оборудование душевой;
- устройство автономной приточно-вытяжной вентиляции с установкой фильтров тонкой очистки воздуха, выбрасываемого из «заразной» зоны (или оборудование этих помещений боксами биологической безопасности) [9].

Таким образом, чтобы обеспечить в производственной зоне и лаборатории требования биологической безопасности, необходимо предусмотреть поточность технологических процессов, поточность персонала, зонирование производственных помещений, возможность обработки помещений и оборудования дезинфицирующими и моющими средствами, а также своевременное проведение дезинфекционных мероприятий [8].

В результате обзора вышеуказанных требований и логической последовательности производственных операций, нами была спроектирована структура цеха по производству вакцины для профилактики *Streptococcus pneumonia***.** К производству вакцины предъявляют особые требования для снижения риска контаминации микроорганизмами, частицами и пирогенами. Поэтому технологические стадии проводятся в «заразной» и «чистой» зонах.

Технологические стадии, проводимые в «заразной» зоне:
- хранение Главной посевной культуры;
- приготовление Рабочей посевной культуры;
- получение Производственной культуры;
- инактивация Посевной культуры.

Дальнейшие стадии технологического процесса проводятся в «чистой» зоне.

В марте 2021 года в России начал действовать новый СанПиН 3.684-21 медицинские отходы. Документ изменил правила обращения с медицинскими отходами, скорректировал требования к сбору медицинских отходов и обеззараживанию, скорректировал порядок утилизации медицинских отходов. Кроме того, классификация медицинских отходов СанПиН 2 1 3684 21 также изменилась.

Все отходы, образующиеся в «заразной» производственной зоне и лаборатории, считаются эпидемиологически опасными, т. е. относятся к классу В, и должны подвергаться обеззараживанию. В группу В включили отходы, которые потенциально могут быть инфицированы возбудителями III-IV групп патогенности

Твердые отходы, которые образуются в «заразной» зоне производства и лаборатории, собирают в одноразовые пакеты или контейнеры желтого цвета или имеющие желтую маркировку, подвергают дезинфекции химическими или физическими методами.

Жидкие отходы из «заразной» зоны обеззараживаются физическим методом.

Лабораторную посуду с культурами микроорганизмов, как правило, обеззараживают в паровых стерилизаторах [8].

Таким образом, обязательному обеззараживанию подлежат медицинские отходы класса В: метод выбирают, исходя из возможностей организации.

• Если на территории нет специального участка или централизованной системы, отходы обеззараживают в месте их образования.

• Медотходы класса В, прошедшие обеззараживание, в закрытых одноразовых емкостях в специальных контейнерах можно хранить до вывоза в отдельном помещении для временного хранения отходов.

Заключение

Делая вывод, хотелось бы сказать, что проектирование цеха по выпуску иммунобиологических препаратов – сложный и кропотливый процесс, требующий одновременной проработки проектных работ и мероприятий по исследованию технологических процессов. Данный анализ требований к проектированию производственных комплексов по выпуску иммунобиологических препаратов будет применен при дальнейшем проектировании цеха по производству вакцины для профилактики *Streptococcus pneumonia.*

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00 Биотехнология
62.01.82 Проектирование, строительство и реконструкция предприятий
62.13.27 Оптимизация биотехнологических процессов

ЛИТЕРАТУРА

1. Проектирование фармацевтических предприятий / Г.С. Абдрасилова [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2017. N 5/2. С. 362-366.

2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: государственный доклад [Электронный ресурс] URL.: https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/5fa/gd-seb_02.06-_s-podpisyu_.pdf

3. Основы проектирования химических производств: учебник для вузов / под ред. А.И. Михайличенко. М.: Академкнига, 2010. 371 с.

4. ОСТ 42-510-98 Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств (GMP) [Электронный ресурс] URL: https://zakonbase.ru/content/part/89553

5. Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза: решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 №77 [Электронный ресурс] URL: https://www.alta.ru/tamdoc/16sr0077/

6. ГОСТР 522492-009. Правила производства и контроля качества лекарственных средств Good manufacturing practice for medicinal products (GMP) // Национальный стандарт Российской Федерации. [Электронный ресурс] URL: https://docs.cntd.ru/document/1200071754

7. СП 3.3.2.1288-03 Надлежащая практика производства медицинских иммунобиологических препаратов: санитарно-эпидемиологические правила [Электронный ресурс] URL.: https://files.stroyinf.ru/Index2/1/4293748/4293748912.htm

8. СанПиН 2.1.3684-21 Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий [Электронный ресурс] URL: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202102050027

9. ГОСТ Р ИСО 9000 Системы менеджмента качества Основные положения и словарь [Электронный ресурс] URL: https://docs.cntd.ru/document/1200124393

10. Биологическая безопасность в диагностических лабораториях медицинских организаций. [Электронный ресурс] URL: https://www.profiz.ru/sec/1_2019/bezopasnost_LPU/

SUMMARY

ANALYSIS OF REQUIREMENTS FOR THE DESIGN OF INDUSTRIAL COMPLEXES FOR THE PRODUCTION OF IMMUNOBIOLOGICAL DRUGS

Fedorova A.S., Master of 1-year of study
Supervisor: **Konon A.D.,** Candidate of Technical Sciences, Associate Professor of the REC of Immunobiotechnology,
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: fedorova.aleksandra@spcpu.ru

Modern requirements are considered for the design of industrial complexes for the production of immunobiological drugs. Modern requirements for biological safety when working with PBA of pathogenicity groups III-IV are analyzed. The methods of disinfection and disposal of industrial effluents after the production of immunobiological preparations have been selected.

Keywords: *production of immunobiological preparations, biological safety, PBA of pathogenicity groups III-IV, disinfection and disposal of class B waste.*

REFERENCES

1. Abdrasilova G.S., Barakova A.Sh., Murzagalieva E.T., Tuyakaeva A.K. Designing pharmaceutical enterprises // International Journal of Applied and Fundamental Research. 2017. N 5/2. P. 362-366. (in Russian)

2. On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2020: The State Report [Internet] URL.: https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/5fa/gd-seb_02.06-_s-podpisyu_.pdf (in Russian)

3. Fundamentals of chemical production design: Textbook for universities / Ed. A.I. Mikhaylichenko. Moscow: Akademkniga. 2010. 371 p. (in Russian)

4. OST 42-510-98 Rules for the organization of production and quality control of medicines (GMP) [Internet] URL: https://zakonbase.ru/content/part/89553 (in Russian)

5. On Approval of the Rules of Good Manufacturing Practice of the Eurasian Economic Union: Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 77 dated 03.11.2016 [Internet] URL: https://www.alta.ru/tamdoc/16sr0077/ (in Russian)

6. GOSTR 52249— 2009. Rules for the production and quality control of medicines Good manufacturing practice for medicinal products (GMP) // National Standard of the Russian Federation. [Internet] URL: https://docs.cntd.ru/document/1200071754 (in Russian)

7. Sanitary and epidemiological rules of SP 3.3.2.1288-03 Good practice of production of medical immunobiological preparations [Internet] URL: https://files.stroyinf.ru/Index2/1/4293748/4293748912.htm (in Russian)

8. SanPiN 2.1.3684-21 Sanitary and epidemiological requirements for the maintenance of territories of urban and rural settlements, for water bodies, drinking water and drinking water supply, atmospheric air, soils, residential premises, operation of industrial, public premises, organization and conduct of sanitary and anti-epidemic (preventive) measures [Internet] URL: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202102050027 (in Russian)

9. GOST R ISO 9000 Quality management systems. Basic provisions and dictionary [Internet] URL: https://docs.cntd.ru/document/1200124393 (in Russian)

10. Biological safety in diagnostic laboratories of medical organizations. [Internet] URL: https://www.profiz.ru/sec/1_2019/bezopasnost_LPU/ (in Russian)

УДК: 615.451.22

ИЗУЧЕНИЕ СУСПЕНДИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ КРАХМАЛА

Царегородцев А.М., студ. 3 курса, **Валеева М.Е.**, студ. 3 курса
Руководитель: **Эрдни-Гаряев С.Э.**, ассистент каф. физической и коллоидной химии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: aleksandr.caregorodcev@spcpu.ru

Проведен расчет молекулярной массы крахмала чистого для анализа (ч.д.а.) вискозиметрическим методом, а также определена седиментационная устойчивость суспензии из таблеток атенолола в водных растворах крахмала различных концентраций.

Установлено, что седиментационная устойчивость суспензии атенолола достигается при концентрации крахмала 0,5%.

Ключевые слова: *суспензия, вязкость, крахмал, молекулярная масса, седиментационная устойчивость, атенолол.*

Представленные в настоящее время лекарственные формы промышленного производства для медицинского и ветеринарного применения не удовлетворяют потребности по жизненным показаниям пациентов, в частности в сверхмалых дозировках в педиатрической практике [1].

В клинической и ветеринарной практике известны случаи применения лекарственных препаратов по незарегистрированным показаниям, например, применение антигипертензивного препарата атенолола из группы b-адреноблокаторов [2-4].

Согласно данным государственного реестра лекарственных средствв настоящее время зарегистрированы только таблетированные формы атенолола, что очевидно вызывает затруднения правильного дозирования при делении таблетки, а также приеме лекарства пациентом (затруднение проглатывания твердой лекарственной формы новорожденными или животными).

С другой стороны, возможным решением обеспечения доступности применения атенолола в клинической и ветеринарной практике может являться его использование в виде суспензии. Суспензии – жидкая лекарственная форма, представляющая собой гетерогенную дисперсную систему, содержащую одно или несколько твердых действующих веществ, распределенных в жидкой дисперсионной среде. Суспензии могут быть готовыми к применению, а также готовиться непосредственно перед применением из порошков, гранул, таблеток и воды или другой подходящей жидкости, указанной в фармакопейной статье или нормативной документации [5]. К достоинствам суспензий можно отнести: удобство приема, способность изменения вкуса и запаха, высокий терапевтический эффект.

Таким образом, фармацевтическая разработка суспензий атенолола является актуальной задачей.

Суспензии, с точки зрения коллоидной химии – это микрогетерогенные системы с жидкой дисперсионной средой и твердой дисперсной фазой. Размер частиц твердой фазы колеблется в пределах 10^{-7} – 10^{-4} м. В следствие малой дисперности суспензии имеют малую седиментационную устойчивость.

На каждую частицу в системе действует сила тяжести и сила Архимеда. Поскольку эти силы направлены в разные стороны, сила седиментации является разностью этих сил. Также в процессе движения частиц возникает сила трения, которая описывается законом Стокса:

$$v = \frac{2g(\rho - \rho_0)r^2}{9\eta},$$

где v – скорость осаждения частиц; g – ускорение свободного падения; r – радиус частиц; ρ – плотность частиц; ρ_0 – плотность среды; η – вязкость среды.

При установлении стационарного режима силы седиментации и трения выравниваются, движущая сила частиц становится равна нулю. С этого момента частицы начинают оседать с равномерной скоростью, и зависимость этой скоро-

сти от других факторов можно описать выше приведенным уравнением. Исходя из формулы можно определить, что на скорость седиментации влияет:

– размер частиц;

– вязкость среды;

– разность плотностей жидкой и твердой фазы.

Целью данной работы является изучение суспендирующих свойств водных растворов крахмала в зависимости от их концентраций.

Для достижения данной цели нами были поставлены следующие задачи:

– Определение молекулярной массы крахмала вискозиметрическим методом;

– Исследование седиментативной устойчивости суспензий в зависимости от концентрации крахмала.

Материалы и методы

Объекты исследования

Лекарственный препарат атенолол в таблетированной форме, производства АО «Органика». Состав на 1 таблетку: атенолол – 100 мг, магния гидроксикарбонат – 160 мг, крахмал картофельный – 118 мг, желатин – 18 мг, магния стеарат – 2 мг, стеариновая кислота – 2 мг.

Аппаратура

Динамическую вязкость измеряли с помощью стеклянного капиллярного вискозиметра ВПЖ-4 0,62 мм.

pH растворов измеряли с помощью pH-метра Mettler Toledo FP20-standard со стеклянным комбинированным электродом.

Электропроводность растворов измеряли с помощью кондуктометра Mettler Toledo F30-Standard с кондуктометрическим термодатчиком LE703.

Растворы и реагенты

В качестве суспендирующего агента использовали крахмал растворимый – порошок белого цвета, растворимый в горячей воде с образованием опалесцирующего раствора; молекулярная масса составляет 162·n, где n – число остатков глюкозы.

Водные растворы крахмала готовили по следующей методике [6]:

Точную навеску 0,8 г (1,0, 1,2, 1,4 и 1,6 г) растворимого крахмала размешивали с 20 см^3 воды до получения однородной смеси, медленно вливали, перемешивая, в 180 см^3 кипящей воды и кипятили 2-3 мин. Раствор фильтровали через плотный обеззоленный фильтр, трижды промытый горячей водой.

Суспензию атенолола готовили по следующей методике: таблетку атенолола измельчали в ступке до состояния мелкодисперсного порошка, далее полученный порошок переносили в мерный цилиндр и прибавляли 20 мл водного раствора крахмала и тщательно перемешивали до состояния суспензии. Далее проводили сравнение времени истечения на вискозиметре суспензий атенолола с водными растворами крахмала.

Седиментационную устойчивость суспензий атенолола исследовали по методике [номер ссылки на ОФС суспензии выше]: суспензию атенолола тщательно взбалтывали и переносили из мерной колбы в стеклянную пробирку. Мерную колбу осматривали. На дне и стенках мерной колбы не наблюдалось агрегатов и агломератов частиц дисперсной фазы. Далее, проводили наблюдение признаков седиментации и образования агрегатов и агломератов в течение времени, необходимого для осуществления приема (введения) лекарственного препарата. Как правило, для суспензий, предназначенных для парентерального применения и приема внутрь, капель глазных суспензионного типа оно должно быть не менее 2-3 мин.

Все применяемые реактивы были марки ч.д.а. Все растворы готовились на дистиллированной воде с удельной электропроводностью 1-2·10^{-6} См·см$^{-1}$.

Вискозиметрический метод определения молекулярной массы высокомолекулярных соединений (ВМС) основывается на определении реологических свойств коллоидных растворов, а конкретно относительной, приведенной и характеристической вязкости. Исследуемый раствор в объеме 20 мл заливали в трубку вискозиметра. Создавали разряжение в другой трубке визкозиметра, с капилляром, доводя объем исследуемого раствора крахмала. В процессе измеряли время истечения раствора.

Относительная вязкость определяется как отношение вязкостей раствора и растворителя.

$$\eta_{\text{отн}} = \frac{\eta}{\eta_0} = \frac{\tau\rho}{\tau_0\rho_0} \approx \frac{\tau}{\tau_0},$$

где τ_0, ρ_0 и τ, ρ представляют собой время истечения и плотность растворителя (воды) и раствора крахмала соответственно. Последнее допущение имеет место, т.к. мы работаем с очень малыми концентрациями, и плотности практически не оказывают влияния. На основании относительной вязкости для каждой концентрации можно определить приведенную вязкость:

$$\eta_{\text{прив}} = \frac{\eta_{\text{отн}} - 1}{\text{c}},$$

где c представляет собой массовую концентрацию раствора (%). После определения приведенной вязкости для растворов крахмала построили градуировочный график $\eta_{\text{прив}}$ = f(C), который экстраполируется до пересечения с осью

ординат. Значение при с = 0 является характеристической вязкостью [η]. Затем молекулярная масса определяется по уравнению Марка–Куна– Хаувинка:

$$[\eta] = KM^{\alpha},$$

где М – молекулярная масса ВМС; α – константа уравнения, зависящая от формы макромолекулы (для крахмала равна 0,62); К – константа, зависящая от химического соединения (для крахмала равна $1{,}32 \cdot 10^{-4}$). Для расчета молекулярной массы удобно перевести уравнение в логарифмическую форму:

$$M = 10^{\frac{\log[\eta] - \log K}{\alpha}}$$

Результаты и обсуждение

Рассмотрим результаты определения молекулярной массы крахмала вискозиметрическим (рис. 1).

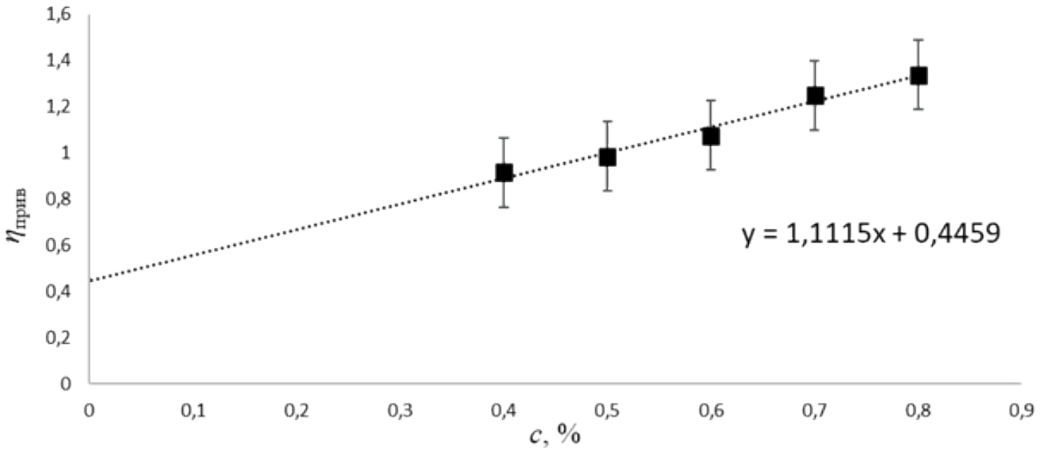


Рисунок 1. Зависимость приведенной вязкости от массовой концентрации крахмала

На основании экспериментальных данных в MS Excel была построена линия тренда, которая описывается уравнением: y = 1,1115x + 0,4459. Исходя из этого можно определить характеристическую вязкость – она равна 0,4459. Используя полученное значение можно определить молярную массу полученного крахмала по выше описанным формулам. Она составила $4{,}91 \cdot 10^{5}$ Да – это значение входит в диапазон возможных молекулярных масс крахмала.

На рисунке 2 показаны результаты опыта по времени истечения растворов крахмала и суспензий атенолола.

Анализируя график, можно утверждать, что время истечения, и, соответственно, вязкость, выше у суспензий, приготовленных из крахмального раствора и таблеток атенолола. Такое увеличение оказывает вспомогательные вещества, и, возможно, субстанция атенолола. Для оценки соотношения данных явлений требуются дальнейшие исследования.

Результаты определения устойчивости суспензий на основе крахмала представлены в таблице 1.

Подтверждается зависимость устойчивости суспензий от вязкости, т.к. параметры седиментационной неустойчивости исключаются с ростом концентрации суспендирующего агента.

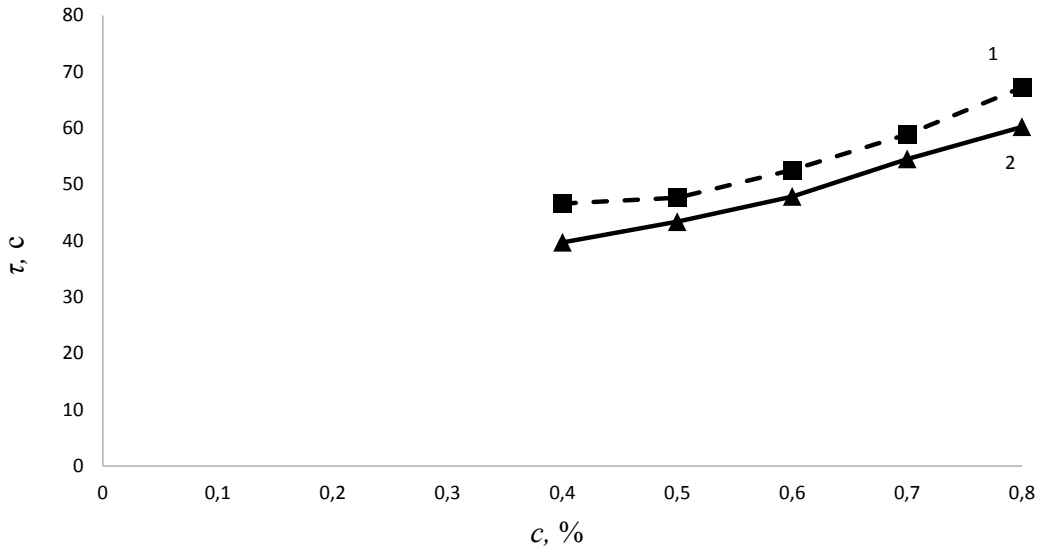


Рисунок 2. Зависимость времени истечения от концентрации крахмала:
1 – суспензия атенолола; 2 – чистый раствор крахмала

Таблица – Результаты опыта по устойчивости суспензий

Концентрация крахмала	0,4 %	0,5 %	0,6 %	0,7 %	0,8 %
Образование агрегатов в течение 3-х минут	+	+	-	-	-
Седиментация в течение 3-х минут	+	-	-	-	-

В ходе исследования вискозиметрическим методом была определена молекулярная масса крахмала и установлены суспендирующие свойства его растворов различных концентраций на основании седиментационной устойчивости суспензий таблеток атенолола. Установлено, что седиментационная устойчивость суспензии атенолола достигается при концентрации крахмала 0,5%.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

10.00.0 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.39 Готовые лекарственные формы

ЛИТЕРАТУРА

1. Современные проблемы дозирования лекарственных средств для детей в Российской Федерации / Егорова С. Н. [и др.] // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2019. Т. 18. N 4. С. 220-228.

2. Масленникова И.Н., Бокерия Е.Л., Дегтярев Д.Н. Опыт применения атенолола у новорожденных с тетрадой Фалло // Неонатология: новости, мнения, обучение. 2020. Т. 8. N 1. С. 67-71. DOI: 10.33029/2308-2402-2020-8-1-67-71

3. Efficacy and safety of propranolol vs atenolol in infants with problematic infantile hemangiomas: a randomized clinical trial / Ji Y. [et al.] // JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery. 2021. Vol. 147(7). P. 599-607. DOI: 10.1001/jamaoto.2021.0454

4. Efficacy of atenolol as a single antihypertensive agent in hyperthyroid cats / R.A. Henik[et al.] // Journal of feline medicine and surgery. 2008. Vol. 10(6). P. 577-582. DOI: 10.1016/j.jfms.2007.11.008

5. Суспензии. 1.4.1.0014.15 // Государственная фармакопея Российской Федерации. Т. 2. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/119/

6. ГОСТ 4517-2016 Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов, применяемых при анализе. М.: Стандартинформ, 2019. 45 с.

SUMMARY

ANALYSIS OF SUSPENDING PROPERTIES OF AQUEOUS STARCH SOLUTIONS

Caregorodcev A.M., 3st year undergraduate, **Valeeva M.E.**, 3st year undergraduate
Scientific supervisor: **Erdni-Garyaev S.E.**, assistant of department
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: aleksandr.caregorodcev@spcpu.ru

The calculation of the molecular weight of pure starch for analysis by the viscometric method was carried out, and the sedimentation stability of the suspension of atenolol tablets in aqueous starch solutions of various concentrations was determined.

It was found that the sedimentation stability of the atenolol suspension is achieved at a starch concentration of 0.5%.

Keywords: *suspension, viscosity, starch, molar mass, sedimentation stability, atenolol.*

REFERENCES

1. Modern problems of dosage of medicines for children in the Russian Federation / S.N. Egorova [et al.] // Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. 2019. Vol. 18(4). P. 220-228. (in Russian)

2. Maslennikova I.N., Bokeria E.L., Degtyarev D.N. Experience of using atenolol in newborns with a Fallot notebook // Neonatology: news, opinions, training. 2020. Vol. 8(1). P. 67-71. DOI: 10.33029/2308-2402-2020-8-1-67-71 (in Russian)

3. Efficacy and safety of propranolol vs atenolol in infants with problematic infantile hemangiomas: a randomized clinical trial / Ji Y. [et al.] // JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery. 2021. Vol. 147(7). P. 599-607. DOI: 10.1001/jamaoto.2021.0454

4. Efficacy of atenolol as a single antihypertensive agent in hyperthyroid cats / R.A. Henik[et al.] // Journal of feline medicine and surgery. 2008. Vol. 10(6). P. 577-582. DOI: 10.1016/j.jfms.2007.11.008

5. Suspenzii. 1.4.1.0014.15 // The State Register of Medicines of the Russian Federation. Vol. 2. XIV ed. 2018. [Internet]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/119/ (in Russian)

6. GOST 4517-2016 Reagents. Methods of preparation of auxiliary reagents and solutions used in the analysis. Moscow: Standartinform, 2019. 45 p. (in Russian)

УДК 61:615.453.6

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ИНДАПАМИДА

Церковная К.М., аспирант 1 года обучения, **Коцур Ю.М.**, соискатель
Руководитель: **Флисюк Е.В.**, д. фарм. н., профессор
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ksenia.kirillova@spcpu.ru

Для активной фармацевтической субстанции индапамид, обладающей антигипертензивным действием, произведена оценка технологических свойств на основании экспериментально определенных величин сыпучести, насыпной плотности, пористости, прессуемости и потери в массе при высушивании; а также по рассчитанным числу Хауснера и индексу Карра. Технологические свойства субстанции индапамид оцениваются как неудовлетворительные и определяют необходимость подбора оптимального состава вспомогательных веществ в ходе дальнейшей фармацевтической разработки твердой лекарственной формы, содержащей индапамид.

Ключевые слова: *артериальная гипертензия, индапамид, фармацевтическая разработка, технологические свойства, сыпучесть, прессуемость.*

В настоящее время для терапии артериальной гипертензии (АГ) рекомендуется использование пяти основных классов антигипертензивных препаратов: ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ), блокаторы кальциевых каналов (БКК), блокаторы рецепторов ангиотензина II (БРА), β-адреноблокаторы (ББ), тиазидные и тиазидоподобные диуретики (ТД) [1].

Индапамид является тиазидоподобным диуретиком, обладающим сосудорасширяющим действием, антипротеинурической активностью и способностью уменьшать гипертрофию левого желудочка.

Данная активная фармацевтическая субстанция (АФС) обладает доказанной антигипертензивной активностью, выраженными органопротективными свойствами и способна образовывать рациональные комбинации для лечения АГ [2]. Более широкое использование в клинической практике индапамида, как препарата, обеспечивающего не только контроль артериального давления, но и реализующего плейотропные эффекты на уровне сердечно-сосудистой системы, будет обеспечивать улучшение прогноза пациента и снижение сердечно-сосудистого риска. В связи с этим изучение технологических свойств АФС индапамид с целью дальнейшей разработки состава и технологии комбинированной лекарственной формы для лечения АГ, содержащей индапамид как одно из действующих веществ, является актуальной тематикой.

В рамках фармацевтической разработки лекарственной формы должны быть изучены и научно обоснованы технологические параметры и характеристики фармацевтической субстанции.

Целью данной работы является изучение технологических свойств АФС антигипертензивного действия индапамид.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить показатели сыпучести, насыпной плотности, пористости, прессуемости, потери в массе при высушивании субстанции индапамид.
2. Рассчитать индекс Карра и число Хауснера для исследуемой АФС с целью оценки сыпучести и степени сжимаемости порошка субстанции.
3. Дать оценку технологическим свойствам субстанции на основании полученных экспериментальных данных и рассчитанных индексов.

Материалы и методы

Для выполнения экспериментальной части исследования использовалось следующее оборудование Центра коллективного пользования ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России: весы аналитические САРТОГОСМ CE224-C с точностью 0,1 мг, Россия; тестер сыпучести гранулированного материала ERWEKA GT, Германия; тестер насыпной плотности ERWEKA SVM 221, Германия; гидравлический пресс; тестер твердости таблеток ERWEKA TBH 125 TDP, Германия; сушильный шкаф с принудительной конвекцией JEIO TECH OF-12G, Южная Корея; эксикатор. Определение технологических свойств АФС проводилось согласно методикам, опубликованным в Государственной Фармакопее XIV издания, том 1, 2 [3].

Объектом исследования была выбрана АФС индапамид, структурная формула которой представлена на рисунке [4].

Индапамид представляет собой белый кристаллический порошок, растворимый в 96% спирте, очень мало растворимый в хлороформе и практически нерастворимый в воде.

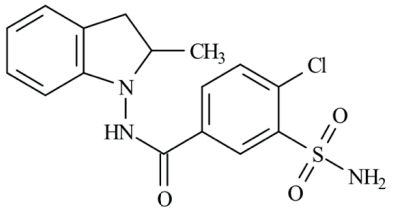


Рисунок. Структурная формула индапамида

Результаты и обсуждение

Определение сыпучести

Сыпучесть определяется как время, в течение которого определенная масса вещества проходит (протекает) через отверстие определенного размера.

Сыпучесть исследуемых АФС измеряли на тестере сыпучести гранулированного материала ERWEKA GT в соответствии с методикой, описанной в ОФС.1.4.2.0016.15 ГФ XIV, том 2 [3].

В сухую воронку прибора с диаметром сопла 15 мм с закрытым выходным отверстием помещали без уплотнения точную навеску АФС индапамида. Затем открывали отверстие, и световой датчик на выходе из воронки измерял время, за которое через отверстие пройдет весь образец. Оценка сыпучести была произведена в трех повторах. При отсутствии перемешивания сыпучесть для индапамида составила 0,0 с/100 г в трех измерениях. Данное значение оценивается как неудовлетворительное.

Определение насыпной плотности

Данное испытание позволяет определить насыпные объемы до и после уплотнения, способность к уплотнению, насыпную плотность субстанции и коэффициент прессуемости.

Определение насыпного плотности проводилось на тестере насыпной плотности ERWEKA SVM 221 в соответствии с ОФС.1.4.2.0016.15 ГФ XIV, том 2 [3].

В сухой цилиндр помещалась без уплотнения навеска индапамида (m = 12,20 г; V_0 = 50 мл). Частота колебаний составляла 250 колебаний в минуту. Был произведен один цикл соскоков цилиндра, так как разность между объемом при 500 и 1250 соскоках цилиндра не превышала 2 мл. В ходе испытания были получены результаты, зафиксированные в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты определения насыпной плотности

АФС	Насыпной объем, мл		Способность порошка к уплотнению ($V_0 - V_{1250}$), мл	Насыпная плотность, г/мл		Коэффициент прессуемости $100 \cdot (\frac{V_0 - V_{1250}}{V_0})$
	До уплотнения (V_0)	После уплотнения (V_{1250})		До уплотнения $D_\alpha = m/V_0$	После уплотнения $D_c = m/V_{1250}$	
Индапамид	50	31	19	0,24	0,39	38

Определив значения насыпной плотности до и после уплотнения, можно рассчитать индекс Карра и число Хауснера (таблица 2) и далее оценить сыпучесть и степень сжимаемости порошка субстанции согласно значениям, приведенным в Европейской фармакопее и USP (таблица 3) [5]. У сыпучих порошков взаимодействие между частицами меньше, и значения насыпной плотности до и после уплотнения будут ближе по величине. Соответственно, чем меньше индекс Карра и чем ближе число Хауснера к единице, тем лучше сыпучесть и сжимаемость субстанции. Согласно данным таблицы 2 и 3 можно сделать вывод, что сыпучесть и степень сжимаемости субстанции индапамид крайне плохая.

Таблица 2 – Расчет индекса Хауснера и индекса Карра

АФС	Насыпная плотность до уплотнения (D_α)	Насыпная плотность после уплотнения (D_c)	Число Хауснера $IH = D_c / D_\alpha$	Индекс Карра $CI = \frac{(D_c - D_\alpha)}{D_c} \cdot 100$, %
Индапамид	0,24	0,39	1,63	38,46

Таблица 3 – Оценка числа Хауснера и индекса Карра [5]

Индекс Карра (CI), %	Сыпучесть и степень сжимаемости	Число Хауснера (IH)
≤10	Отличная	1,00-1,11
11-15	Хорошая	1,12-1,18
16-20	Средняя	1,19-1,25
21-25	Удовлетворительная	1,26-1,34
26-31	Плохая	1,35-1,45
32-37	Очень плохая	1,46-1,59
≥38	Крайне плохая	≥1,60

Определение внутренней пористости

Внутренняя пористость – это относительный объем свободного пространства между частицами порошка. Значение внутренней пористости характеризует способность порошка к сжатию под давлением и рассчитывается по формуле [6]:

$$Ie = \frac{D_c - D_\alpha}{D_c \cdot D_\alpha},$$

где: Ie – внутренняя пористость; D_α – насыпная плотность до уплотнения; D_c – насыпная плотность после уплотнения.

Пористость АФС индапамид составила 1,60.

Определение прессуемости

Прессуемость – это способность частиц порошка к когезии под давлением. Иначе прессуемость определяется как способность частиц порошка под действием молекулярных, адсорбционных, электрических и механических сил к взаимному притяжению и сцеплению.

Около 0,3 г субстанции (точная навеска) прессовали в таблетку диаметром 9 мм на гидравлическом прессе при давлении равном 1200 кгс/см^2. Прессуемость оценивали на основании прочности полученной таблетки на раздавливание, с использованием тестера твердости таблеток ERWEKA TBH 125 TDP. Прочность таблетки индапамида составила 18 Н. Данный показатель позволяет оценить прессуемость субстанции как неудовлетворительную.

Определение потери в массе при высушивании

Потеря в массе при высушивании – это потеря в массе за счет гигроскопической влаги и летучих веществ, которую определяют в веществе при высушивании до постоянной массы.

Данное испытание проводилось в соответствии с методикой, указанной в ОФС.1.2.1.0010.15 (Способ 1), ГФ XIV, том 1 [3], с помощью следующего оборудования: весы аналитические САРТОГОСМ CE224-C с точностью 0,1 мг, сушильный шкаф с принудительной конвекцией JEIO TECH OF-12G, эксикатор. Анализ проводился в двух повторах.

Точные навески субстанций (0,5 г) помещали в предварительно высушенные до постоянной массы и взвешенные в условиях проведения испытания бюксы. Пробы сушили в сушильном шкафу в течение 2 часов с открытой крышкой бюкса при температуре (102,5±2,5) ºС. Затем открытые бюксы вместе с крышками помещали в эксикатор для охлаждения, после чего закрывали крышками и взвешивали. Образцы снова помещали в сушильный шкаф на 1,5 часа, охлаждали и взвешивали. Масса образцов была равна значениям, полученным после двух часов высушивания. Это свидетельствует о том, что масса достигла постоянного значения. Потеря в массе при высушивании вычислялась по формуле:

$$X = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100\%,$$

где: m_1 – масса бюкса, доведенного до постоянной массы, г; m_2 – масса бюкса с испытуемым образцом до высушивания, г; m_3 – масса бюкса с испытуемым образцом после высушивания в течение 3,5 часов, г.

Результаты определения потери в массе при высушивании представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Потеря в массе при высушивании

№ образца	Масса бюкса, доведенного до постоянной массы (m_1), г	Масса бюкса с испытуемым образцом до высушивания (m_2), г	Масса бюкса с испытуемым образцом после высушивания (m_3), г	Потеря в массе при высушивании (X), %	Среднее значение для АФС ($X_{ср}$), %
1	18,7684	19,2592	19,2506	1,75	1,79
2	19,0488	19,5400	19,5310	1,83	

Заключение

В ходе данного исследования изучены такие технологические свойства АФС индапамид, как: сыпучесть, насыпная плотность, пористость, прессуемость, потеря в массе при высушивании, а также рассчитаны индекс Карра и число Хауснера. На основании полученных экспериментальных данных и рассчитанных числовых характеристик, ключевые для дальнейшего таблетирования технологические свойства субстанции (сыпучесть и прессуемость) оцениваются как неудовлетворительные. В связи с этим, для получения таблеток, содержащих АФС индапамид, необходимо добавление значительного количества вспомогательных веществ, обладающих высокими показателями сыпучести и прессуемости, и разработка соответствующей технологической схемы.

Источник финансирования

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России: использовалось оборудование ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.00 Технология химико-фармацевтических средств

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации: утв. МЗ РФ. 2020. [Электронный ресурс] URL: https://scardio.ru/content/Guidelines/Clinic_rek_AG_2020.pdf

2. 2018 ЕОК/ЕОАГ рекомендации по лечению больных с артериальной гипертензией // Российский кардиологический журнал. 2018. Т. 23. N 12. С. 143-228. DOI 10.15829/1560-4071-2018-12-143-228.

3. Государственная фармакопея Российской Федерации. Т. 1,2. XIV изд. [Электронный ресурс] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14.

4. Индапамид. ФС.2.1.0017.15 // Государственная фармакопея Российской Федерации. Т. 3. XIV изд. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol3/625/

5. European Pharmacopoeia 9th ed. Strabourg: Council of Europe, 2016.
6. Kotsur Y.M., Flisjuk E.V. Application of the SeDeM Method for Optimization of Tablet Formulations (A Review) // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2021. DOI 10.1007/s11094-021-02413-0.

SUMMARY

RESEARCH OF TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF INDAPAMIDUM

Tserkovnaya K.M., 1st year postgraduate student, **Kotsur Y.M.**, applicant
Scientific supervisor: **Flisyuk E.V.**, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: ksenia.kirillova@spcpu.ru

This research is devoted to study the technological properties of antihypertensive pharmaceutical substance Indapamidum. The study examined the key properties, such as flowability, bulk density, porosity, compressibility and weight loss on drying. Besides, the Hausner Ratio and Carr Index were calculated. Technological properties can be assessed as insufficient and inacceptable. It is necessary to add the optimal quantity of excipients, to improve porosity and compressibility of tablet mass during further pharmaceutical development of solid dosage form with an active substance Indapamidum.

Keywords: *hypertension, indapamidum, drugs research and development, technological properties, flowability, compressibility.*

REFERENCES

1. Clinical guidelines Hypertension in adults, Ministry of Health of the Russian Federation, 2020. [Internet] URL: https://scardio.ru/content/Guidelines/Clinic_rek_AG_2020.pdf (in Russian).
2. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension // Russian Journal of Cardiology. 2018. Vol. 23(12). P. 143 – 228. (in Russian).
3. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Vol. 1,2. XIV ed. [Internet] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (in Russian).
4. Indapamidum. PM.2.1.0017.15 // State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Vol. 3. XIV ed. [Internet] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol3/625/ (in Russian).
5. European Pharmacopoeia 9th ed. Strabourg: Council of Europe, 2016.
6. Kotsur Y.M., Flisjuk E.V. Application of the SeDeM Method for Optimization of Tablet Formulations (A Review) // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2021. DOI 10.1007/s11094-021-02413-0.

УДК 57.088

МЕТОДЫ И ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ ОЧИСТКИ ВАКЦИН

Цыганкова Л.А., студ. 3 курса
Руководитель: **Рубцова Л.Н.,** канд. фарм. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: lada.tsigankova@gmail.com

В работе рассмотрены современные и инновационные методы, высокотехнологичное оборудование различных производителей, применяющиеся в процессе создания вакцин на стадии очистки вируса от загрязняющих белков, клеточного детрита и прочих балластных веществ. Сделаны выводы о разнообразии современных методик и оборудования, об их эффективности, а также об интенсивном развитии технологий в данной области, активном поиске улучшений и новых прогрессивных методов.

Ключевые слова: *вакцины, очистка вакцин, производство вакцин, вирусы, повышение выхода, целевой продукт, фильтрация, центрифугирование.*

Вакцины – это иммунобиологические препараты, обеспечивающие создание искусственного специфического иммунитета организма. Для этого в вакцине содержится агент, который распознается организмом как угроза, в ответ на которую он выделяет антитела, борясь с заражением. Таким образом, введение вакцины позволяет подготовить организм к возможному последующему появлению антигена и борьбе с ним.

В связи с современными пандемическими вызовами по CoViD-19, тематика создания и совершенствования методов производства вакцин является актуальной для рассмотрения. Каждый день только в России коронавирусом заражается около 180000 человек, около 600 человек умирают (данные на февраль 2022 года), и самым надежным способом избежать заражения или легко перенести заболевание на сегодняшний день является вакцинация.

В настоящее время в России иммунобиологические препараты (МИБП) производят на 50 фармацевтических производствах. До появления CoViD-19 общий объем производимых МИБП в рублевом эквиваленте в РФ был равен 4,06 % от суммарного объема всех лекарственных препаратов. Производимые вакцины занимали 80 % в доле МИБП. В нашей стране в настоящее время производят более 50 вакцин, защищающих от 28 инфекционных болезней [1].

Отечественные предприятия модернизируют производство, так чтобы оно соответствовало жестким требованиям GMP. Например, институт полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П. Чумакова уже реализует свои препараты через международные организации.

Целью данной работы было представить наиболее современные методы и оборудование для очистки вакцин, их описание и принципы работы, а также более наглядно рассмотреть достоинства современного биотехнологического оборудования для очистки вакцин на примере конкретных моделей от ведущих производителей на рынке.

В задачи исследования входило общее рассмотрение стадий производства иммунобиологических препаратов, более конкретное рассмотрение стадии очистки (выделение этапов очистки), приведение инновационных и современных методик, их описания и оборудования для каждого из этапов очистки, а также приведение примеров моделей и производителей оборудования, активно использующегося в современной технологии очистки, с указанием их преимуществ.

Технологический процесс создания вакцины состоит из нескольких стадий. Каждая из стадий должна обеспечивать получение качественного полупродукта и, впоследствии, эффективного и безопасного продукта. Технология производства должна быть безопасной и экономически выгодной. Не может допускаться даже небольшая опасность вакцины для человека. Обеспечение качества вакцин достигается применением проверенных методов и технологий, а также современного, высокотехнологичного оборудования на каждом из этапов производства. Базовые этапы создания вакцин предполагают следующее [2]:

1. Разработка необходимого штамма;
2. Создание биомассы;
3. Разработка антигена;
4. Обезвреживание антигена;
5. Работы по очистке и созданию стерильности;
6. Розлив и упаковка;
7. Расширение масштабов выпуска вакцины

Антиген получают при помощи биосинтеза или химического синтеза. Высокий уровень выхода протективного антигена определяет выбранный метод культивирования патогена на определенной биомассе и предназначенного для этих целей оборудования.

Выделение и инактивация антигена предполагает различные физико-химические процессы. Следует отметить, что лучший технологический способ для этих целей должен предполагать наиболее щадящие варианты, также как и выбор стерилизации.

Интересно заметить, что синтетические вакцины не требуют использования громоздкого оборудования. Их антигены являются химически чистыми веществами и, в большинстве своем, не оказывают побочного действия.

Лекарственная форма для вакцины выбирается в зависимости от способа ее применения. Это могут быть аэрозоли, твердые формы с кислотоустойчивым покрытием, растворы, различные жидкости в шприцах-дозаторах или ампулах и т.д.

Немаловажную роль в процессе производства вакцин играет стадия очистки вакцины от побочных, загрязняющих компонентов (биомассы, питательной среды), которая производится сразу после культивации [3].

Выделение целевого продукта (очистка вакцины) проводится в несколько этапов, которые будут приведены ниже. Однако необходимо отметить, что некоторые этапы очистки могут быть опущены в связи с достаточной очисткой вакцины без какой-либо стадии. Комбинации стадий варьируются в зависимости от вида оборудования, методики, свойства вируса и вируссодержащей суспензии.

1. Сбор и фильтрация материала – первый этап (грубая очистка). На данном этапе необходимо обеспечить требуемый выход и качество продукта.

2. Улавливание материала – этап выделения, целью которого является практически полное улавливание продукта, минимальный захват побочных и загрязняющих веществ.

3. Замена буфера и концентрирование – процессы, осуществляющиеся при помощи ультрафильтрации на основании размера пор мембраны или предельной молекулярной массы, а также диафильтрации.

4. Конечная очистка (полное удаление загрязняющих компонентов и примесей) – заключительный этап выделения, состоящий в последовательном удалении остаточных примесей из продукта. В результате очистки должен достигаться максимальный выход продукта и заданная степень очистки.

Для каждого из приведенных этапов существуют определенные методы и оборудование, которые соответствуют сегодняшнему высокому уровню производства, обеспечивают эффективность технологического процесса. Высококачественное оборудование, которое предлагают современные производители, имеет высокую производительность, изготовлено из прочных, безопасных материалов, и его использование в технологическом процессе обеспечивает высокую скорость и качество производства, а также экономическую выгодность.

Для осуществления этапа сбора и фильтрации материала применим метод глубинной фильтрации. Он является инновационным, но, в то же время, простым в применении способом осветления растворов. Глубинная фильтрация – процесс

разделения неоднородных систем (суспензий), при котором частицы твёрдой фазы задерживаются в толще капиллярно-пористого тела фильтра. Фильтры обеспечивают удержание частиц от 0,5 до 100 мкм и имеют среднюю толщину около 45 мм. Такой толщины фильтр дает удержание частиц меньших, чем поры перегородки фильтра [4]. В процессе глубинной фильтрации удаляются липиды, коллоиды и другие загрязняющие частицы вакцины. В качестве современного оборудования предлагаются одноразовые глубинные фильтры Clarisolve®, Millistak+® POD и синтетические глубинные фильтры Millistak + ®HC Pro.

Инновационные глубинные фильтры Clarisolve® позволяют добиться быстрого и эффективного осветления сложных растворов с высокой клеточной плотностью, требующих предварительной обработки. Они устраняют необходимость в центрифугировании и уменьшают объемы промывки, в зависимости от марки материала, по сравнению с традиционными глубинными фильтрами. Также данные фильтры позволяют проводить одностадийное осветление предварительно обработанных растворов, содержащих большое количество твердых частиц, с переходом к стерилизующей фильтрации перед процессом очистки сразу после биореактора.

Одноразовые глубинные фильтры Millistak+® Pod подходят для применения на стадиях первичного и вторичного осветления. Эти одноразовые глубинные фильтры характеризуются гибкостью и простотой эксплуатации благодаря своей уникальной модульной конструкции, компактность которой максимизирует выход продукта и минимизирует занимаемое оборудованием место. Одноразовый формат исполнения модулей Pod защищает операторов от воздействия биологически опасных веществ и исключает затраты на массивные держатели, очистку (CIP) и валидацию процесса очистки.

Глубинные фильтры Millistak+® HC Pro (с синтетическими материалами высокой емкости) содержат более чистые и устойчивые материалы для глубинной фильтрации по сравнению с традиционными фильтрами на основе диатомита (DE) и целлюлозы (CE). Их преимущества в снижении экстрагируемого общего органического углерода (TOC) и необходимого объема промывки перед процессом до 50%, вдвое большая емкость фильтрации по сравнению с традиционными фильтрами при одинаковой удерживающей способности, а также более высокий уровень удаления примесных белков продуцента.

К разработкам в области применения фильтрации для очистки вакцин можно отнести особый метод, увеличивающий выход конечного продукта. Его суть заключается в последовательной фильтрации вируссодержащего компонента сквозь каскад мембран, поры которых составляют от 1,2 до 0,22 мкм. Две последние пластины для снижения сорбции вируса предварительно обрабатываются двухпроцентным раствором желатозы. Такой способ позволяет частично разрушить вирус и стерилизовать полуфабрикат. В готовый раствор выходит специфический растворимый антиген, который сохранил инфекционную и иммуногенную активность и готов для создания культуральной антирабической вакцины. До недавнего времени этот патент был действующим, но на данный момент не продлен.

Для первичной очистки применяются также процессы флокуляции и осаждения. Флокуляция – это прием, при котором происходит слипание мелких частиц в крупные хлопья-флоккулы. Этот двухэтапный процесс происходит при участии веществ-коагулянтов и флокулянтов (к примеру, веществом-флокулянтом является поли(диаллилдиметиламмония хлорид) раствор 10%). Является эффективным и недорогим методом очистки, используется как подготовительный этап к процессу центрифугирования.

Центрифугирование является еще одним распространенным методом первичного сбора материала. При помощи центрифугирования происходит отделение вирусов и примесных частиц по размеру и форме [5].

Наиболее эффективно применение ультрацентрифугирования. Этот процесс представляет собой осаждение целевого вируса в центрифужной пробирке и может быть легко отделен от супернатанта [6]. Преимущества метода ультрацентрифугирования – это:

1. Воспроизводимость и предсказуемость. Метод работает на надежных законах гидродинамики, которые можно заранее рассчитать и без применения стандартных образцов.

2. Отсутствие необходимости большого объема образца – легкость методики.

3. Контроль насыщения вирусом раствора. Путем взвешивания пробирок можно определить его количество и рассчитать объем жидкости для его повторного растворения.

4. Масштабируемость. Легкое осуществление данной процедуры предполагает увеличение числа пробирок и их объема.

5. Биобезопасность. Она поддерживается многоуровневым процессом и предполагает: герметичность, встраивание системы стерильных фильтров и определенную конструкцию роутера.

6. Экономные расходные материалы. Общие затраты на расходные материалы по сравнению с альтернативными методами невысоки, т.к. из материалов необходимы только различные пробирки [7].

Широкий выбор центрифуг и ультрацентрифуг различной вместимости и конструкций для осуществления очистки вакцин и других биотехнологических процессов предлагает немецкая фирма GEA. Их превосходство, во-первых, в гигиеническом дизайне: благодаря конструкциям CIP (clean-in-place) устраняется необходимость вскрытия или демонтажа отдельных машин. Конструкционные решения каждой из машин обеспечивают эффективный слив, отсутствие мертвых зон, гладкую поверхность и оптимальное смачивание, и очищение поверхности контакта с продуктом во время процесса CIP. Преимущества производителя также в обеспечении эффективности и гибкости процесса путем внедрения системы SIP (sterilization-in-place). Это предотвращает высвобождение и распространение токсичных бактерий / микроорганизмов, защищая как операторов, так и окружающую среду. Важным преимуществом оборудования GEA является высокая эффективность: изобретенный и запатентованный компанией гидрогерметичный способ обработки продукта обеспе-

чивает минимальные усилия сдвига. В результате значительно повышается жизнеспособность и активность белков при одновременном повышении эффективности процесса.

Хочется отметить компанию Beckman Coulter, Inc., которая производит центрифуги, обеспечивающие качественную очистку за короткий промежуток времени, для любого из этапов выделения.

В области методов очистки вакцин существуют различные новые разработки, в том числе и относящиеся к применению ультрацентрифуг. К примеру, создан патент на способы очистки инактивированных и фрагментированных вирусов. Например, методы, предполагающие ультрацентрифугирование в сегменте концентрации сахара. Препарат с вирусом сначала добавляют к градиенту сахара и центрифугируют, затем экстрагируют, чтобы получить чистый вирус. При этом применяют различной плотности буферные растворы сахара, чтобы повысить выход вируса и свести к минимуму агрегацию вируса в сахарозной фракции пика [8].

Для второго этапа выделения – улавливания – используются различные виды хроматографии в зависимости от свойств целевого компонента. Антитела улавливаются в основном аффинными смолами, такими как A-белок и G-белок, а также некоторыми другими специально разработанными методами. Для улавливания белков, не являющихся антителами, чаще применяется ионообменная хроматография (IEX) [9]. Аффинная хроматография – процесс, в ходе которого целевой компонент (антитела) отделяется от других компонентов (примесей) и концентрируется за счет обратимого связывания или захвата целевого белка в колонке по специфическому механизму взаимодействия, в то время как остальные компоненты свободно проходят по колонке. Таким образом совершают несколько стадий, набирая целевой компонент, а затем он извлекается селективным вымыванием [10].

При использовании аффинной хроматографии могут возникать трудности, касающиеся, например, полноты связывания целевого компонента наполнителем колонки. Многие из этих проблем в настоящее время решаются с помощью встроенных систем УФ-спектроскопии, которые удовлетворяют текущим требованиям, но лишены других возможностей, присущих таким методам, как, например, ИКФС in-situ.

Для исследования отдельных молекул и организации их смесей применяется инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (ИКФС, FTIR). Данный метод анализа в настоящее время широко используется в научных и практических лабораториях. Он хорош тем, что в режиме реального времени можно вычислить направленность и профиль реакции, а также влияние ее параметров на целевой продукт [11]. Яркий пример системы ИК-Фурье – ReactIR швейцарского производителя METTLER TOLEDO.

Метод ионообменной хроматографии (IEX) состоит в том, что целевые продукты (белки, нуклеотиды и др.) отделяются от примесей за счет обратимого связывания или захвата целевой молекулы в колонке под действием силы электростатического взаимодействия с материалом твердой фазы (наполнителя), в то время как остальные компоненты свободно проходят через колонку. Ионообменная хроматография регулярно используется в качестве дополнительного или альтернативного метода очистки, и ее применение не ограничивается только улавливанием [12].

Компания Millipore® предлагает на рынке по этому направлению масштабируемые хроматографические модули одноразового использования и широкую линейку сорбентов. Среди сорбентов возможно выбрать ионообменные, катионообменные, анионообменные сорбенты. Портфолио сорбентов компании включает в себя продукты Eshmuno® и Fractogel®, в которых используется инновационная технология «щупальцеподобных» покрытий, помогающая увеличить эффективность процесса очистки. Мембранные адсорберы NatriFlo® обладают форматом устройства одноразового использования в пределах одной партии продукта для гибкого производства. Они обеспечивают эффективную очистку и расширенную совместимость с буферными растворами различной природы в широком диапазоне pH, что позволяет интенсифицировать технологический процесс. Несомненным преимуществом данных разработок является уменьшенный расход воды для инъекций, растворов для CIP и буферных растворов

В процессах выделения целевого продукта для концентрирования разбавленных потоков часто используется метод ультрафильтрации (UF). Он предназначен для разделения находящихся в растворе молекул за счет размера пор мембраны или по предельной молекулярной массе. Ультрафильтрация – это процесс разделения низкомолекулярных и высокомолекулярных веществ в жидкой фазе под действием разности давлений по обе стороны мембраны. По своим характеристикам занимает промежуточное положение между нанофильтрацией и микрофильтрацией. Ультрафильтрация подразумевает дифференциацию систем с меньшей молекулярной массой растворителя по сравнению с растворенными агентами. Во время ультрафильтрации через мембрану проходит вода, растворенные неорганические вещества с молекулярной массой меньше 500 единиц. Задерживаются при этом органические вещества с молекулярной массой более 4000, а также бактерии и частицы размером более 0,001 мкм [13].

Похожий метод концентрирования – метод диафильтрации (DF). Он является модифицированным методом ультрафильтрации, где для вымывания агентов используются жидкости с добавлением воды. Метод диафильтрации наиболее часто используется для перевода продукта в требуемый буферный раствор (например, из элюирующего буфера в буфер готового лекарственного препарата).

При ультрафильтрации и диафильтрации исходный поток обычно направлен параллельно, а не перпендикулярно поверхности мембраны. Такой метод называют тангенциальной фильтрацией (Tangential Flow Filtration; TFF). Этап замены буфера всегда связан с выполнением большого количества ручных операций. Однако, несмотря на это, его практически не пытаются оптимизировать.

Детектор для ВЭЖХ обычно используется для контроля уровня концентрирования продукта. Такая методика является разновидностью УФ-спектроскопии [14]. Однако несмотря на эффективность, в процессе замены буфера могут возникать некоторые сложности, к примеру, задержка с получением результатов измерений, которые выполняются автономно и могут стать лимитирующей стадией, или накопление потерь продукта при отборе проб.

Заключительный этап очистки вакцинных препаратов состоит из многих операций, представляющих собой последовательное повторение вышеуказанных методов до достижения необходимой чистоты препарата. Очистка начинается с осветления, затем используется тот или иной метод улавливания, выполняются промежуточные этапы и в конце заключительные, представляющие собой завершающую хроматографическую очистку, нано- и стерилизующее фильтрование.

Измерения ИКФС in situ устраняют задержки, связанные с пробоподготовкой, улучшая тем самым процесс завершающей хроматографической очистки благодаря возможности оперативного качественного и количественного определения компонентов, включая буферы, целевой компонент и примеси во время промежуточной очистки. За счет этого улучшается качество разделения, различения агрегатов и фрагментов, а также ускоряется концентрирование в режиме реального времени.

Встроенные процессно-аналитические системы более эффективны на поздних этапах очистки, когда концентрация загрязнений в полуочищенной матрице, как правило, выше, и становится легче отслеживать целевой продукт.

Примером технологии очистки вирусов может служить запатентованный метод очищения концентрата вируса гриппа. Он включает микро- и ультрафильтрацию в тангенциальном потоке [15]. Таким образом, в результате оптимизации технологического процесса получают препарат вируса гриппа в концентрации около 80 %.

Другим ярким примером изобретения в области очистки вакцин является запатентованный метод высокой очистки вирионных концентратов. Суть метода заключается в микрофильтрации вируссодержащей аллантоисной жидкости (ВАЖ). После чего осуществляется концентрация ВАЖ при помощи ультрафильтрации. Далее проводится очистка концентрата. Для этого используется ультрацентрифугирование в градиенте плотности сахарозы. Данный способ поражает своей эффективностью. Он позволяет повысить качество очистки и увеличить выход конечного продукта – вирусных антигенов с одного куриного эмбриона [16].

В работе были рассмотрены современные и инновационные биотехнологические методы, применяемые для очистки вакцинных препаратов, а также оборудование для указанной цели, активно применяющееся на сегодняшний день. Можно сделать вывод о том, что оборудование и методы, технологии очистки вакцин являются передовыми и эффективными благодаря многолетним и новейшим разработкам, и это позволяет обеспечить качество, безопасность вакцин путем подбора подходящих методик и их выполнения, использования необходимого оборудования из огромного выбора, предлагаемого ведущими компаниями-производителями. Наличие патентов на новые методики в данной области говорит о постоянном совершенствовании уже существующих технологий с целью улучшения эффективности, безопасности, экономичности производства.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.01.00 Общие вопросы химической технологии и химической промышленности

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Медуницин Н.В. Вакцинология. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Триада-Х, 2004. 448 с.

2. Береговых В.В., Мешковский А.П. Нормирование фармацевтического производства. Обеспечение качества продукции. М., 2001.

3. Мухачева А.В., Мовсесянц А.А., Алсынбаев М.М. Выбор оптимальных методов очистки белковых веществ, входящих в состав вакцины антирабической культуральной концентрированной очищенной инактивированной (КОКАВ) // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014. N 3(76)

4. Тверской В.А. Мембранные процессы разделения. Полимерные мембраны. М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2008. 59 с.

5. D. N. Taulbee, M. Mercedes Maroto-Valer, in Encyclopedia of Separation Science [Электронный ресурс], 2000 - режим доступа к энциклопедии: https://www.academia.edu/27995503/Encyclopedia_of_separation_science_CENTRIFUGATION.

6. Боуэн Т. Введение в ультрацентрифугирование, пер. с англ. М., 1973.

7. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот, Электрофорез и ультрацентрифугирование. М., 1981.

8. Наука и техника биоразделений / Р.Г. Харрисон [и др.] Нью-Йорк: Издательство Оксфордского университета, 2003.

9. Способ очистки вирусов путем ультрацентрифугирования в градиенте концентрации сахара (варианты) : Патент № 2503719 Российская Федерация, МПК C12N7/00 (2006.01), A61K 39/12 (2006.01), A61K 39/145 (2006.01). № 2009144980/10. заявл. 30.04.2008. опубл. 10.01.2014 / Райтер М.[и др.]. Бюл. N 1. 20 с.

10. Использование ионообменной хроматографии для очистки вируса гриппа NIBRG-121xp (H1N1) / О. В. Червякова [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2011. N 1(9).

11. Bailon P. Affinity chromatography: methods and protocols. Totowa, 2000.

12. Infrared spectroscopic mapping of single nanoparticles and viruses at nanoscale resolution / M. Rehm [et al.] // Nano Lett. 2006. N 6. P. 1307–1310.

13. Смирнова Е.Е., Кисель А.В. Ионообменная хроматография. Общие сведения и понятия // Вестник науки. 2019. N 3(12).

14. Pabby A., Rizvi S., Sastre A. Handbook of Membrane Separations. Chemical, Pharmaceutical, Food and Biotechnological Applications. CRC Press, 2015. p. 51.

15. Применение ультрафильтрации для концентрирования и очистки антигенов / А.В. Комиссаров [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. 2015. N 1.

16. Способ очистки вируса гриппа : Патент № 2493872 Российская Федерация, МПК C12N7/02 (2006.01), A61K39/145 (2006.01). N 2012134031/15 : заявл. 08.08.2012 : опубл. : 27.09.2013 / Н.В. Загидуллин [и др.]. Бюл. N 27. 10 с.

17. Способ получения высокоочищенных вирионных концентратов: Патент № 2535153 Российская Федерация, МПК C12N7/02 (2006.01), A61K39/145 (2006.01), A61P31/16 (2006.01). N 2013140659/15: заявл. 04.09.2013 : опубл. : 10.12.2014 / В.П. Трухин [и др.]. Бюл. N 34. 10 с.

SUMMARY

METHODS AND EQUIPMENT FOR VACCINE PURIFICATION

Tsygankova L.A., 3rd year student
Scientific supervisor: **Rubtsova L.N**., Cand. of Pharm. Sciences, associate professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: lada.tsigankova@gmail.com

The paper considers modern and innovative methods, high-tech equipment of various manufacturers used in the process of vaccines production at the stage of virus purification from polluting proteins, cellular detritus and other ballast substances. The results are summed up about the variety of modern techniques and equipment, their effectiveness, as well as about the intensive development of technologies in this area, the active search for improvements and new progressive techologies.

Keywords: *vaccines, vaccine purification, vaccine production, viruses, yield increase, target product, filtration, centrifugation.*

REFERENCES

1. Medunitsin N.V. Vaccinology. 2nd edition, reprint. and additional. M.: Triad-X, 2004 448 p. (in Russian)

2. Beregovykh V.V., Meshkovsky A.P. Rationing of pharmaceutical production. Product quality assurance. M., 2001. (in Russian)

3. Mukhacheva A.V., Movsesyants A. A., Alsynbayev M. M. The choice of optimal methods of purification of protein substances that are part of the anti-rabies culture concentrated purified inactivated vaccine (COCAV) // Epidemiology and vaccine prevention. 2014. N 3(76). (in Russian)

4. Tverskoy V.A. Membrane separation processes. Polymer membranes. M.: M.V. Lomonosov MITHT, 2008. 59 p. (in Russian)

5. D. N. Taulbee, M. Mercedes Maroto-Valer, in Encyclopedia of Separation Science [Site], 2000 - Access: https://www.academia.edu/27995503/Encyclopedia_of_separation_science_CENTRIFUGATION.

6. Bowen T. Introduction to ultracentrifugation, translated from English, M., 1973.

7. Osterman L. A. Methods for the study of proteins and nucleic acids, Electrophoresis and ultracentrifugation, M., 1981.

8. Science and Technology of Bio-divisions / R.G. Harrison [et al.] New-York: Oxford University Press, 2003.

9. Method of virus purification by ultracentrifugation in a sugar concentration gradient (variants) : Patent No. 2503719 Russian Federation, IPC C12N7/00 (2006.01), A61K 39/12 (2006.01), A61K 39/145 (2006.01). N 2009144980/10 : application 30.04.2008 : publ. 10.01.2014 / M. Reiter [et al.]. Byul. N 1. 20 p. (in Russian)

10. The use of ion exchange chromatography for the purification of influenza virus NIBRG-121xp (H1N1) / O.V. Chervyakova [et al.] // Topical issues of veterinary biology. 2011. N 1(9). (in Russian)

11. Bailon P. Affinity chromatography: methods and protocols. Totowa, 2000.

12. Infrared spectroscopic mapping of single nanoparticles and viruses at nanoscale resolution / M. Rehm [et al.] // Nano Lett. 2006. N 6. P. 1307–1310

13. Smirnova E.E., Kisel A.V. Ion exchange chromatography. General information and concepts // Bulletin of Science. 2019. N 3(12). (in Russian)

14. Pabby A., Rizvi S., Sastre A. Handbook of Membrane Separations. Chemical, Pharmaceutical, Food and Biotechnological Applications. CRC Press, 2015, p. 51.

15. Application of ultrafiltration for concentration and purification of antigens / A.V. Komissarov [et al.] // Problems of particularly dangerous infections. 2015. N 1. (in Russian)

16. Method of influenza virus purification : Patent No. 2493872 Russian Federation, IPC C12N7/02 (2006.01), A61K39/145 (2006.01). N 2012134031/15 : application 08.08.2012 : publ. : 27.09.2013 / N.V. Zagidullin [et al.]. Byul. N 27. 10 p. (in Russian)

17. Method for obtaining highly purified virionic concentrates: Patent No. 2535153 Russian Federation, IPC C12N7/02 (2006.01), A61K39/145 (2006.01), A61P31/16 (2006.01). No. 2013140659/15: application 04.09.2013 : publ. : 10.12.2014 / V.P. Trukhin [et al.]. Byul. N 34. 10 p. (in Russian)

УДК 61:615.1

ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОЦЕССА МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЯ

Чебыкина А.А., студ. 4 курса (ORCID: 0000-0003-2069-9982)
Руководитель: **Марченко А.Л.**, зав. каф., доцент, к. фарм. н. (ORCID: 0000-0002-8049-6207)
Консультант: **Гусев К.А.**, м. н. с. (ORCID: 0000-0003-1922-3282)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет;
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: aleksandra.chebykina@spcpu.ru

Статья посвящена изучению актуальности применения микрокапсулирования в современной фармацевтической практике. Представлены теоретические основы процесса микрокапсулирования, а также разработка технологии получения микрокапсул в лабораторных условиях.

Ключевые слова: *микрокапсулы, микрокапсулирование, состав микрокапсул, методы микрокапсулирования, технологические свойства, влияние технологических факторов.*

Микрокапсулирование – процесс заключения небольших количеств вещества в оболочку пленкообразующего материала. Данный термин появился в технологической литературе в начале 60-х годов. Микрокапсулирование открыло новые пути для повышения эффективности лекарственной терапии. В первую очередь для создания препаратов направленного действия для повышения стабильности, пролонгирования лечебного эффекта и других целей [1].

Микрокапсулы – капсулы, состоящие из тонкой оболочки из полимерного или другого материала, шарообразной или неправильной формы, размером от 1 до 2000 мкм, содержащее твердые или жидкие активные действующие вещества с добавлением или без добавления вспомогательных веществ [5].

Микрокапсулы в настоящее время нашли применение в различных отраслях. В сельском хозяйстве и в быту широко используются микрокапсулированные инсектициды. Микрокапсулы с витаминами, эфирными и жирными маслами входят в состав различных косметических средств (кремов, гелей, сывороток). Микрокапсулированные пробиотики используются в кормах и кормовых добавках в ветеринарии [5].

В фармацевтической промышленности микрокапсулы также находят практическое применение. С помощью микрокапсулирования можно решить следующие проблемы: уменьшить реакционную способность лекарственных веществ, удлинить сроки годности лекарственных веществ, снизить токсичность субстанции, придать субстанции новые физические свойства – снизить летучесть, замаскировать цвет, вкус, запах. Важная область применения микрокапсулирования – совмещение в одной лекарственной форме действующих веществ, несовместимых при смешении в свободном виде. На основе микрокапсул возможно производство таких лекарственных форм, как таблетки, капсулы, суспензии, подкожные имплантаты [2, 5].

Содержимое микрокапсул (МК) может находиться в твердом, жидком или газообразном состоянии. Содержание капсулируемого вещества обычно составляет 70–85% от массы капсулы (иногда до 95–99%). Оболочка МК может быть одно– или многослойной, а в зависимости от свойств образующего ее вещества – эластичной или жесткой. Круг веществ, используемых для формирования оболочек, очень разнообразен и включает в себя: высокомолекулярные соединения животного и растительного происхождения – белки (желатин, альбумин, казеин), декстраны, пектины, альгинаты, агар, производные целлюлозы (метил-, этил-, ацетил и др.), природные смолы, синтетические полимеры (поливиниловый спирт, поливинилацетат, поливинилхлорид и др.) [4].

Современные методы микрокапсулирования можно разделить на три основные группы:

1. Физические: дражирование, суспендирование ядер, распыление, диспергирование жидкости, гальванизация, напыление в псевдоожиженном слое, экструзия.

2. Физико-химические: коацервация, осаждение, упаривание летучего растворителя, отверждение расплавов в жидких средах, экстракционное замещение, высушивание распылением, физическая адсорбция.

3. Химические: полимеризация, поликонденсация [6].

Данная классификация довольно условна. На практике, в производстве, часто используют сочетание различных методов. При выборе того или иного способа получения в каждом конкретном случае исходят из свойств конечного продукта, стоимости процесса, технической оснащенности предприятия, но главными критериями являются свойства исходного действующего (инкапсулируемого) вещества.

Целью данной работы было изучение влияния различных технологических факторов на качество микрокапсул и совершенствование технологии приготовления микрокапсул в условиях лаборатории.

Для реализации поставленной цели были сформированы следующие задачи:

- изучение компонентов состава микрокапсул;
- оценка влияния основных причин и факторов на процесс микрокапсулирования;
- проведение оценки образцов микрокапсул.

Материалы и методы

Объектом исследования служат модельные микрокапсулы на основе зарегистрированной фармацевтической субстанции (ФС), заключенной в оболочку из этилцеллюлозы.

Важной характеристикой оболочки для микрокапсул является ее проницаемость. Требования к проницаемости оболочки определяются назначением микрокапсул – если лекарственное вещество нужно защитить от окружающей среды, то оболочка должна быть низкопроницаемой. Выбор оболочки также определяется физико-химическими свойствами инкапсулируемого содержимого – гидрофильные вещества в растворенном виде предполагают заключение в гидрофобную оболочку.

Оболочка, сконструированная из гидрофобной этилцеллюлозы, проницаема для содержимого ядра, и скорость высвобождения определяется диффузией и зависит от толщины оболочки, размера микрокапсул, наличия пор и растворимости вещества во внешней среде. Использование диффузионнопроницаемых оболочек оправдано для микрокапсулирования раздражающих слизистую водорастворимых веществ, например, препараты группы нестероидных противовоспалительных средств. Оболочки, непроницаемые для внутренней фазы и окружающей среды, обеспечивают прочность и герметичность упаковки ядра микрокапсулы.

Этилцеллюлоза – порошкообразный продукт, растворимый в бензоле, ацетоне, толуоле, метиленхлориде, но нерастворимый в воде, бензине и других нефтепродуктах. После анализа данных веществ в качестве растворителя был выбран ацетон, так как он оказывает менее негативное влияние на человека, чем остальные органические жидкости.

Методика получения микрокапсул: предварительно приготовленный 10% раствор этилцеллюлозы в ацетоне перемешивают в течение 10-15 мин до образования однородного вязкого раствора. В полученный однородный вязкий раствор при работающей мешалке (400 об/мин) постепенно небольшими порциями вносят 3,0 г ФС и диспергируют в течение 10 мин до образования однородной дисперсии. В стеклянный стакан вместимостью 800 мл помещают 500 мл вазелинового масла, включают мешалку (600 об/мин) и по каплям, с помощью специально сконструированной шприцевой установки, добавляют дисперсию ФС в 10% раствор этилцеллюлозы в ацетоне в течение 30 мин. По окончании подачи дисперсии ФС помещают стеклянный стакан в водяную баню с температурой воды 40 ± 2^0С и продолжают перемешивание в течение 2 часов при этом поддерживают температуру водяной бани. Готовые микрокапсулы отделяют от вазелинового масла фильтрованием через сито с размером пор 0,4 мм, и далее промывают 60 мл гексана. Сушат на открытом воздухе при комнатной температуре одни сутки.

Результаты и обсуждение

На данном этапе исследования были определены основные технологические факторы, которые влияют на форму и размер микрокапсул и проведена оценка их уровня значимости для параметров микрокапсул (в баллах) в соответствии с предварительно разработанной шкалой (от 1 до 3 баллов).

Таблица – Критические точки производства микрокапсул в условиях лаборатории

Наименовании операции	Технологические факторы	Диапазон значений	Уровень значимости, баллы
	ВР.3 Взвешивание сырья		
Взвешивание	Масса этилцеллюлозы	Отклонение ±0,1 г	3
	Масса ФС	Отклонение ±0,1 г	3
	ВР.4 Приготовление раствора для оболочки микрокапсул		
Смешение и набухание компонентов	Скорость перемешивания	100-200 об/мин	1
	Время перемешивания	10 мин	1
	Время настаивания	Не менее 1 ч	2
Приготовление раствора	Время перемешивания	10-15 мин	2
	Скорость перемешивания	400-450 об/мин	2
	ТП.1 Приготовление дисперсии ФС для микрокапсулирования		
Добавление ФС и смешение	Время добавления	10 мин	1
	Скорость перемешивания	400-450 об/мин	2
	ТП.2 Приготовление микрокапсул		
Введение суспензии в вазелиновое масло	Время добавления	Не менее 30 мин	3
	Скорость перемешивания	650-700 об/мин	3
	Скорость подачи	1 мл/мин	3
Приготовление микрокапсул	Температура реакционной массы	40 ± 2^0С	2
	Время	2 ч	3
	Скорость перемешивания	650-700 об/мин	3
Фильтрация	Размер пор фильтра	0,4 мм	3
	Целостность фильтра	Целостный	

Наименовании операции	Технологические факторы	Диапазон значений	Уровень значимости, баллы
Промывка	Объем гексана	20 мл	2
	Размер пор фильтра	0,4 мм	3
	Целостность фильтра	Целостный	3
Сушка	Температура сушки	15-25 °С	2
	Время сушки	До 24 ч	2

Согласно результатам проведенной оценки к наиболее значимым факторам технологического процесса, влияющим на внешний вид и размер микрокапсул были отнесены:

1. Масса исходных компонентов: избыток/недостаток исходных компонентов является ключевым фактором, влияющим на качество микрокапсул. На основании исходной массы определяются дальнейшие параметры процесса.

2. Время добавления и скорость подачи суспензии ФС: суспензию следует подавать медленно и периодически, так достигается необходимый размер микрокапсул.

3. Скорость перемешивания: один из ключевых факторов получения качественных микрокапсул. При добавлении суспензии и при испарении ацетона оптимальная скорость мешалки – 650-700 об/мин. При уменьшении скорости (450 об/мин) размер микрокапсул будет больше, при увеличении (700-800 об/мин) – возможно образование застойных зон, что повлечет за собой различие в форме и размере микрокапсул.

4. Температура водяной бани: Ацетон будет испаряться при любой температуре в пределах температуры кипения (56°С) и температуры замерзания (-95°С). Но чем выше температура, тем быстрее скорость испарения. Если ацетон будет удален не полностью, полученный микрокапсулы будут слипаться, что повлияет на их размер и форму.

5. Размер пор фильтра и его целость: факторы, влияющие на качественную фильтрацию. Если фильтр подобран неправильный/некачественный, то процесс фильтрации может понести за собой потери в количестве микрокапсул.

Герметичность процесса приготовления раствора этилцеллюлозы в ацетоне: при перемешивании и добавлении в раствор действующего вещества следует помнить, что применяемый ацетон – летучее вещество. Если дать ацетону во время процесса свободно испаряться, масса загустеет или станет твердой, это приводит к затруднению дальнейшего приготовления. Очень густая или твердая масса не наберется в шприц или же будет подаваться большими каплями, что повлияет на размер микрокапсул.

Также в ходе проведения экспериментов была установлена целесообразность использования стеклянного стакана большого объема: в стакане вместимостью 250 мл микрокапсулы слипались, поэтому в дальнейшем использовался стакан вместимостью 800 мл, где было достаточно места для того, чтобы получились микрокапсулы необходимого размера и формы.

Добавление суспензии ФС в вазелиновое масло проводилось с использованием различных приспособлений. На первых этапах эксперимента добавление суспензии производилось вручную: при введении, было сложно вести контроль за такими параметрами, как размер капли и скорость подачи (рис. а). Второй этап эксперимента – использование шприца объемом 25 мл с диаметром отверстия для подачи 2 мм. При применении шприца размер капли уменьшился, но требуемого размера микрокапсулы не достигли (рис. б). В последних попытках получить микрокапсулы, внешний вид которых удовлетворял бы требованиям, использовалось автоматизированное шприцевое устройство с диаметром отверстия для подачи 1 мм и с регулируемой скоростью подачи суспензии. При его использовании удалось получить микрокапсулы необходимого размера и формы (рис. в).

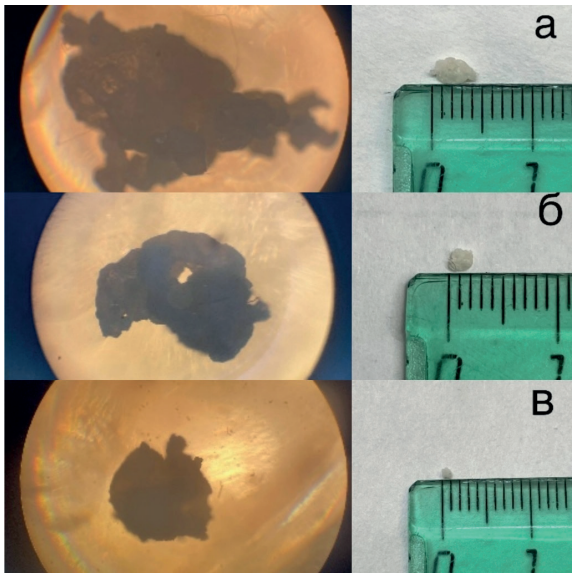


Рисунок. Форма и размер микрокапсул при подаче суспензии стеклянной палочкой (а – стеклянная палочка, б – шприц 25 мл, в – автоматизированная шприцевая установка)

Таким образом, был изучен процесс микрокапсулирования, проанализированы факторы, влияющие на качество (внешний вид, размер, однородность формы) полученных микрокапсул и усовершенствован процесс получения данной лекарственной формы в условиях лаборатории (шприцевая установка).

Заключение. Микрокапсулирование открывает интересные перспективы использования ряда ЛС по сравнению с их применением в виде обычных лекарственных формах. Микрокапсулы позволяют улучшить свойства многих фармацевтических субстанций (особенно гигроскопичных) и добиться обеспечения пролонгированного высвобождения действующего вещества из лекарственной формы. Это достигается нанесением соответствующих оболочек, применением необходимых вспомогательных веществ и использованием различных способов получения. При использовании любого из методов получения микрокапсул необходимо контролировать наиболее важные параметры.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Жанибекова Н. Состояние и перспективы современной технологии микрокапсулирования в фармации // Вестник КазНМУ. 2014. N 5. С. 66-68.

2. Шнайдер М., Буссат Ф. Микрокапсулы, способ изготовления и их применение : Патент РФ N 96117128/14, 1995.11.21.

3. Полковникова Ю.А., Ковалёва Н.А. Современные исследования в области микрокапсулирования // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10. N 2. С. 50-61.

4. Постраш Я.В., Хишова О.М. Микрокапсулирование в фармации – современное состояние и перспективы // Вестник фармации. 2010. N 2(48).

5. Микрокапсулы: перспективы использования в современной фармацевтической практике / Э.Ф. Степанова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2014. N 5.

6. Меньшутина Н.В. Технологии инкапсуляции. // Фармацевтические технологии и упаковка. 2014. N 3.

SUMMARY

THE INFLUENCE OF TECHNOLOGICAL FACTORS ON THE RESULTS OF THE MICROCAPSULATION PROCESS

Chebyckina A.A., 4th year student (ORCID: 0000-0003-2069-9982)

Scientific supervisor: **Marchenko A.L.,** Head of Department of ITD, Candidate of Pharm. Science., associate professor (ORCID: 0000-0002-8049-6207)

Consultant: **Gusev K.A.,** research assistant (ORCID: 0000-0003-1922-3282)

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

E-mail: aleksandra.chebykina@spcpu.ru

The article is devoted to the study of the relevance of the use of microcapsulation in modern pharmaceutical practice. The theoretical foundations of the microcapsulation process are presented, as well as the development of a technology for obtaining microcapsules in laboratory conditions.

Keywords: *microcapsules, microencapsulation, composition of microcapsules, microcapsulation methods, technological properties, influence of technological factors.*

REFERENCES

1. Zhanibekova N. Status and prospects of modern microcapsulation technology in pharmacy // Bulletin of KazNMU. 2014. N 5 (in Russian)

2. Schneider M., Boussat P. Microcapsules, manufacturing method and their application : RF Patent N 96117128/14, 1995.11.21. (in Russian)

3. Polkovnikova Yu.A., Kovaleva N.A. Modern research in the field of microcapsulation //

4. Razrabotka i registraciâ lekarstvennyh sredstv. 2021. Vol. 10(2). P. 50-61. (in Russian)

5. Postrash Ya.V., Khishova O.M. Microcapsulation in pharmacy - current state and prospects // Bulletin of Pharmacy. 2010. N 2(48). (in Russian)

6. Kim M.E., Murzagulova K.B., Evseeva S.B. Microcapsules: prospects for use in modern pharmaceutical practice / E.F. Stepanova [et al.] // Modern problems of science and education. 2014. N 5 (in Russian)

7. Menshutina N.V. Encapsulation technologies // Pharmaceutical technologies and packaging. 2014. N 3. (in Russian)

УДК 61:615.453.62

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ НА СВОЙСТВА ТАБЛЕТОК, СОДЕРЖАЩИХ АСКОРБИНОВУЮ КИСЛОТУ И РУТОЗИД

Чернова М.А., студ. 5 курса
Руководитель: **Волков А.А.,** к.х.н., доцент
Приволжский исследовательский медицинский университет
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1, Российская Федерация
E-mail: masha-200013@bk.ru

В процессе работы были разработаны 3 новых состава таблеток «аскорбиновая кислота + рутин», отличающихся друг от друга комбинацией вспомогательных веществ. Процесс изготовления включал в себя стадию влажного гранулирования. Таблетки 3 видов были подвержены испытанию на силу сжатия.

В результате было установлено, что введение в состав лекарственной формы различных вспомогательных веществ влияет на свойства лекарственной формы. Так, введение микрокристаллической целлюлозы в таблетки незначительно увеличивает их прочность, а использование смеси крахмала, изомальта и сорбита в равном соотношении в значительной степени повышает показатель силы сжатия.

Ключевые слова: *аскорбиновая кислота, рутин, вспомогательные вещества, таблетированная лекарственная форма.*

Сердечно-сосудистые заболевания, согласно данным Всемирной организации здравоохранения, являются самой распространенной причиной смерти среди пациентов [1]. Слабость сосудистой стенки, кроме всего прочего, является частой причиной кровотечений различного типа. Поэтому применение лекарственных препаратов на основе аскорбиновой кислоты и рутина на сегодняшний день очень распространено.

Темпы развития фармацевтической промышленности вынуждают исследователей искать новые формулы лекарственных препаратов. На рынке существует огромное разнообразие лекарственных препаратов с одним и тем же действующим веществом, но разным составом вспомогательных веществ.

Выбор конкретных веществ в процессе разработки новых лекарственных препаратов зависит от ряда физико-химических свойств рассматриваемых вариантов соединений [1, 2]. Известно, что вспомогательные вещества, вводимые в состав лекарственной формы, могут взаимодействовать как между собой, так и непосредственно с лекарственным веществом. Как следствие, такие взаимодействия сопровождаются изменением химических свойств, стабильности лекарственной формы, фармакокинетики и фармакологической активности препарата. Исходя из этого, путем подбора состава вспомогательных веществ можно влиять на различные характеристики лекарственного препарата и его терапевтический эффект [3, 4].

Именно поэтому тема данной работы является как нельзя актуальной – вспомогательные вещества влияют на свойства лекарственной формы, и это влияние необходимо исследовать и оценивать.

Цель работы: исследование влияния различных комбинаций вспомогательных веществ на физико-химические параметры таблеток, в частности, на силу сжатия.

Задачи работы:
- разработка трех различных составов для будущих таблеток
- приготовление порошков для гранулирования
- влажное гранулирование
- прессование таблеток
- исследование готовой лекарственной формы на силу сжатия
- анализ полученных результатов.

Для достижения цели работы были изготовлены 3 вида таблеток с различными комбинациями вспомогательных веществ в их составе.

При выборе вспомогательных веществ был изучен состав лекарственной формы таблеток «Аскорутин» (производитель: Ивановская фармацевтическая фабрика, ОАО, Россия) (таблица 1).

Активные вещества: аскорбиновая кислота, рутозид.

Вспомогательные вещества: сахароза (сахар), крахмал картофельный, повидон К25, кальция стеарата моногидрат.

Масса одной таблетки – 330 мг [5].

Таблица 1 – Количественное содержание действующих и вспомогательных веществ в одной таблетке «Аскорутин»

Наименование вещества	Содержание, мг
Аскорбиновая кислота	50
Рутозид	50
Сахароза (сахар)	185,7
Крахмал картофельный	38,7
Повидон К25	3,5
Кальция стеарата моногидрат	2,1

Подбор состава вспомогательных веществ производился исходя из их функционального назначения в таблетках заводского производства, а также наличия в лаборатории вспомогательных веществ с такими же функциями.

Материалы и методы. Для проведения анализа и сравнения составов потребовались субстанции аскорбиновой кислоты и рутозида (для изготовления лекарственной формы), которые являются действующими веществами, а также вспомогательные вещества: сахароза, крахмал картофельный, повидон К25, кальция стеарата моногидрат, мальтодекстрин, микрокристаллическая целлюлоза, изомальт, сорбит, спирт этиловый, вода очищенная.

В целях получения 100 граммов порошка для таблетирования, необходимо провести перерасчет в каждом конкретном случае.

В составе таблеток №1, в сравнении с таблетками заводского производства, была произведена замена сахарозы на мальтодекстрин (таблица 2).

Таблица 2 – Количественное содержание действующих и вспомогательных веществ в одной таблетке №1

Наименование вещества	Содержание, мг
Аскорбиновая кислота	50
Рутозид	50
Мальтодекстрин	185,7
Крахмал картофельный	38,7
Повидон К25	3,5
Кальция стеарата моногидрат	2,1

После пересчета на 100 граммов порошка для таблетирования №1 (таблица 3).

Таблица 3 – Количественное содержание действующих и вспомогательных веществ в порошке для таблетирования №1

Наименование вещества	Содержание, г
Аскорбиновая кислота	15,1515
Рутозид	15,1515
Мальтодекстрин	56,2727
Крахмал картофельный	11,7273
Повидон К25	1,0606
Кальция стеарата моногидрат	0,6364

В составе таблеток №2, в сравнении с таблетками №1, вместо мальтодекстрина добавляется смесь мальтодекстрина и МКЦ 1:1 (таблица 4).

Таблица 4 – Количественное содержание действующих и вспомогательных веществ в одной таблетке №2

Наименование вещества	Содержание, мг
Аскорбиновая кислота	50
Рутозид	50
Мальтодекстрин	92,85
МКЦ	92,85
Крахмал картофельный	38,7
Повидон К25	3,5
Кальция стеарата моногидрат	2,1

После пересчета на 100 граммов порошка для таблетирования №2 (таблица 5).

Таблица 5 – Количественное содержание действующих и вспомогательных веществ в порошке для таблетирования №2

Наименование вещества	Содержание, г
Аскорбиновая кислота	15,1515
Рутозид	15,1515
Мальтодекстрин	28,1364
МКЦ	28,1364
Крахмал картофельный	11,7273
Повидон К25	1,0606
Кальция стеарата моногидрат	0,6364

В составе таблеток №3, в сравнении с таблетками заводского производства, отсутствует сахароза. Вместо этого – изомальт, крахмал и сорбит в соотношении 1:1:1 (таблица 6).

Таблица 6 – Количественное содержание действующих и вспомогательных веществ в одной таблетке №3

Наименование вещества	Содержание, мг
Аскорбиновая кислота	50
Рутозид	50
Изомальт	74,8034
Крахмал картофельный	74,8034
Сорбит	74,8034
Повидон К25	3,5
Кальция стеарата моногидрат	2,1

После пересчета на 100 граммов порошка для таблетирования №3 (таблица 7).

Таблица 7 – Количественное содержание действующих и вспомогательных веществ в порошке для таблетирования №3

Наименование вещества	Содержание, г
Аскорбиновая кислота	15,1515
Рутозид	15,1515
Изомальт	22,6677
Крахмал картофельный	22,6677
Сорбит	22,6677
Повидон К25	1,0606
Кальция стеарата моногидрат	0,6364

Таблетки были получены после предварительного влажного гранулирования, которое осуществлялось с помощью воды очищенной (№2) и спирта этилового 40% (№1, 3). В результате были получены 3 вида гранулята, которые подверглись сушке при температуре 50 ◦ С в течение 24 часов. Затем из высушенного гранулята прессовались таблетки.

Полученные таблетки подверглись исследованию на тестере прочности – Erweka TBH 30 MD.

Для проведения анализа на силу сжатия было взято по 10 таблеток каждого вида [10]. Результаты испытаний таблеток на силу сжатия представлены ниже (таблица 8). Каждое значение – среднее арифметическое трех результатов измерения.

Таблица 8 – Результаты испытаний на прочность сдавливания

	Масса, мг	Сила сжатия, Н	Диаметр, мм	Высота, мм
№ 1	404,2	28,5	11,12	3,47
№ 2	379,7	33	11,05	3,32
№ 3	378,8	46,5	10,24	2,58

Результаты и обсуждение

При испытании образцов №1 и №2 на силу сжатия наблюдалось мгновенное истирание таблеток в порошок. При испытании образцов №3, напротив, таблетки не получили никаких механических повреждений, даже трещин. То есть, по субъективной оценке, таблетки №1 и №2 являются недостаточно прочными, а таблетки №3 – слишком твердыми. Мальтодекстрин и крахмал в составе таблеток №1 и МКЦ, крахмал и мальтодекстрин в составе таблеток №2 не обеспечивают достаточной прочности лекарственной формы. В целом, оба образца показали приблизительно схожие результаты. То есть, присутствие МКЦ в составе №2 оказывает незначительное влияние на прочность.

Минимально допустимая прочность в зависимости от диаметра таблеток, представленная в нормативной документации, носит рекомендательный характер [6]. Однако, в совокупности с субъективной оценкой результатов, можно утверждать, что таблетки №1 и №2 не прошли испытание на прочность. Из этого можно сделать вывод, что состав ВВ подобран неудачно, и продолжение анализа этих двух образцов ставится под сомнение.

Что касается таблеток №3, то согласно данным Государственной Фармакопеи XIV изд., численное значение силы сжатия является допустимым. Тем не менее, при проведении анализа таблетки этого вида не получили никаких визуальных повреждений, поэтому судить о качестве в данном случае затруднительно [6].

Изомальт, сорбит и крахмал, в достаточно большом количестве присутствующие в таблетках №3, позволили приобрести им самую высокую прочность в сравнении с таблетками других составов. И в связи с тем, что данные в нормативной документации являются рекомендательными, необходимо проведение других видов анализа, которые помогут сделать более определенные выводы о влиянии состава вспомогательных веществ на свойства лекарственной формы.

Заключение

В ходе исследований были подобраны 3 состава для лекарственной формы – таблеток, содержащих в качестве действующих веществ аскорбиновую кислоту и рутозид, которые за счет отсутствия связывающих веществ и разрыхлителей, а также наличия наполнителей таких как крахмал, изомальт и сорбит обладают большим временем распадаемости, но при этом соответствуют по вышеуказанному критерию Государственной Фармакопее. Таким образом, нами было доказано существенное влияние вспомогательных веществ не только на формировании лекарственной формы препарата, но и на изменение ее показателей, которые в свою очередь способны изменить фармакокинетику и фармакодинамику препарата.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.33 Биофармация

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhang M.Q., Wilkinson B. Drug discovery beyond the "rule-of-five" // Curr. Opin. Biotechnol. 2007. Vol. 18(6). P. 478-488. doi: 10.1016/j.copbio.2007.10.005.

2. Vistoli G., Pedretti A., Testa B. Assessing drug-likeness — what are we missing? // Drug Discovery Today. 2008. Vol. 13(7/8). P. 285-294. doi: 10.1016/j.drudis.2007.11.007.

3. The interactions of amphiphilic antisense oligonucleotides with serum proteins and their effects on in vitro silencing activity / A.E. Felber [et. al.] // Biomaterials. 2012. Vol. 33(25). P. 5955–5965. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.05.019.

4. Yamashita F., Hashida M. Pharmacokinetic considerations for targeted drug delivery // Adv. Drug Deliver. Rev. 2013. Vol. 65(1). P. 139-147. doi: 10.1016/j.addr.2012.11.006.

5. Видаль. Справочник лекарственных препаратов. 2018. [Электронный ресурс]. URL: https://www.vidal.ru/drugs/ascorutin (дата обращения 21.02.2022).

6. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (дата обращения 27.02.2022).

SUMMARY

STUDY OF THE INFLUENCE OF AUXILIARY SUBSTANCES ON THE PROPERTIES OF TABLETS CONTAINING ASCORBIC ACID AND RUTOZIDE

Chernova M.A., 5th year student
Scientific supervisor: **Volkov A.A.,** Candidate of chemical sciences, senior lecturer
Privolzhsky Research Medical University
10/1, Minin and Pozharsky Sq., N.Novgorod, 603005, Russian Federation
E-mail: masha-200013@bk.ru

In the process of work, 3 new compositions of tablets «ascorbic acid + rutin» were developed, differing from each other in a combination of excipients. The manufacturing process included a wet granulation step. Tablets of 3 kinds were subjected to the compression force test.

As a result, it was found that the introduction of various excipients into the LF composition affects the properties of the dosage form. Thus, the introduction of microcrystalline cellulose into tablets slightly increases their strength, and the use of a mixture of starch, isomalt and sorbitol in equal proportions significantly increases the compression force.

Keywords: *ascorbic acid, rutin, excipients, tablet dosage form.*

REFERENCES

1. ZhangM.Q., Wilkinson B. Drug discovery beyond the „rule-of-five» // Curr. Opin. Biotechnol. 2007. Vol. 18(6). P. 478-488. doi: 10.1016/j.copbio.2007.10.005..

2. Vistoli G., Pedretti A., Testa B. Assessing drug-likeness — what are we missing? // Drug Discovery Today. 2008. Vol. 13(7/8). P. 285-294. doi: 10.1016/j.drudis.2007.11.007.

3. The interactions of amphiphilic antisense oligonucleotides with serum proteins and their effects on in vitro silencing activity / A.E. Felber [et. al.] // Biomaterials. 2012. Vol. 33(25). P. 5955-5965. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.05.019.

4. Yamashita F., Hashida M. Pharmacokinetic considerations for targeted drug delivery // Adv. Drug Deliver. Rev. 2013. Vol. 65(1). P. 139-147. doi: 10.1016/j.addr.2012.11.006.

5. Vidal. Handbook of medical products 2018 [Internet] URL: https://www.vidal.ru/drugs/ascorutin (Accessed 21.02.2022). (in Russian)

6. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. 2018. [Internet] URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14 (Accessed 27.02.2022). (in Russian)

УДК 54:543:054

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИПИРИНА В СЛЮНЕ С ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫМ МИКРОЭКСТРАКЦИОННЫМ ВЫДЕЛЕНИЕМ

Шевалёв Р.М., студ. 2 курса бакалавриата
Руководитель: **Вах К.С.**, кандидат хим. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный университет
199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7–9, Российская Федерация
E-mail: robertshevalev@icloud.com

Разработан способ микроэкстракционного выделения антипирина в in-situ генерируемый супрамолекулярный растворитель с последующим спектрофотометрическим определением аналита в слюне. Осуществлена оптимизация параметров проведения реакции дериватизации антипирина, установлены оптимальные условия для извлечения деривата в супрамолекулярный растворитель на основе ди-(2-этилгексил)-фосфорной кислоты.

Ключевые слова: *супрамолекулярные растворители, биологические жидкости, антипирин, дериватизация, микроэкстракция.*

С целью контроля над активностью метаболизма лекарственных веществ в организме человека с конца прошлого века в клинической фармакологии используют «метаболические маркеры». При условии идентичности механизмов окисления различных препаратов можно по скорости окисления любого метаболического маркера, в качестве которого выступают малотоксичные лекарственные вещества, судить об активности окислительных ферментов у конкретного человека. В качестве одного из таких маркеров используют антипирин [1].

Антипириновый тест, используемый для оценки способности печени к метаболизму лекарственных вещества, основан на количественной оценке не подвергшегося метаболизму антипирина в слюне. Пробоподготовка слюны к последующему инструментальному анализу основана на методах жидкостной, либо твердофазной экстракции. Классические методы экстракции усложнены использованием больших объемов токсических органических растворителей и трудоемкостью самих процедур извлечения аналитов. На сегодняшний день в «зеленой» аналитической химии наиболее перспективными представляются микроэкстракционные методы, проводимые с использованием экологически безопасных экстрагентов, в частности с использованием супрамолекулярных растворителей.

Целью данного исследования была разработка способа микроэкстракционного извлечения деривата в фазу супрамолекулярного растворителя на основе ди-(2-этилгексил)-фосфорной кислоты (Д2ЭГФК) для последующего спектрофотометрического определения антипирина в биологических жидкостях.

Для достижения поставленной цели требовалось решить следующие задачи:

1) оценить возможность экстракции антипирина в супрамолекулярный растворитель на основе ди-(2-этилгексил)-фосфорной кислоты, высших карбоновых кислот, высших спиртов, хлорорганических растворителей;

2) выявить условия выделения деривата антипирина в фазу супрамолекулярного растворителя;

3) оптимизировать условия дериватизации антипирина и его микроэкстракционного извлечения;

4) разработать схему анализа, апробировать ее на реальных образцах биологических жидкостей.

Материалы и методы

Одними из наиболее перспективных «зеленых» экстрагентов, используемых в жидкостной микроэкстракции, являются супрамолекулярные растворители, которые представляют собой наноструктурированные ансамбли, образующиеся в коллоидных растворах амфифильных соединений в результате спонтанных и последовательных явлений самосборки и коацервации.

В гомогенном растворе, содержащем амфифилы, происходят два последовательных процесса самосборки системы. На первом этапе изолированные молекулы амфифилы объединяются в трехмерные агрегаты (в основном прямые/обратные мицеллы или везикулы) (рис. 1). При этом концентрация амфифила должна быть выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ), при которой образование мицелл наблюдается при достижении определенного значения концентрации поверхностно-активного вещества (ПАВ) [2]. Далее происходит процесс коацервации: наноструктуры под действием триггера объединяются в более крупные агрегаты, которые в конечном счете отделяются от основного коллоидного раствора в виде новой несмешивающейся с водой жидкой фазы – супрамолекулярного растворителя (рис. 1). Процесс коацервации и последующее разделение фаз может быть вызван добавлением со-ПАВ (сопутствующего ПАВ), полярного растворителя, сильного электролита или противоиона, а также изменением температуры или pH раствора [2].

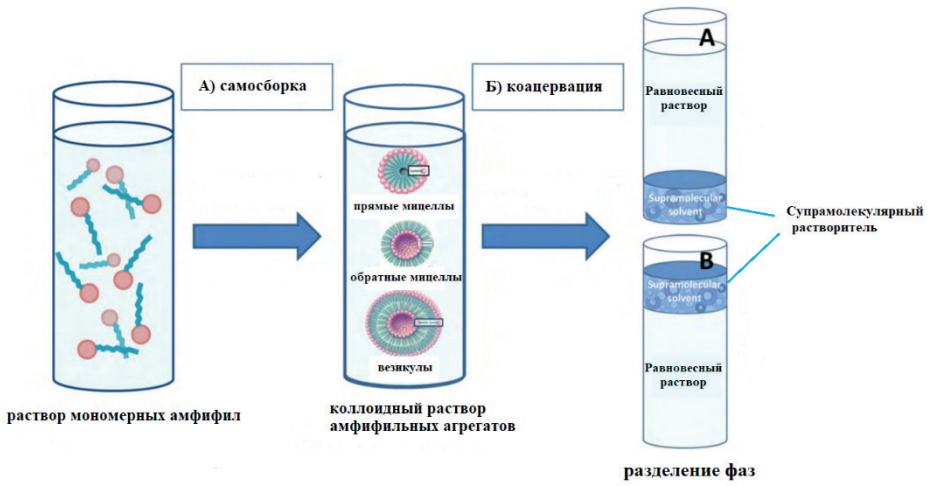


Рисунок 1. Схема образования супрамолекулярного растворителя [3]

Использование супрамолекулярных растворителей как экстрагентов обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционными органическими растворителями. Среди достоинств можно выделить: возможность извлечения как полярных, так и неполярных аналитов благодаря наличию в молекуле амфифила и гидрофобных и гидрофильных частей; возможность изменения свойств супрамолекулярных растворителей для более селективного выделения целевых аналитов; малый расход экстрагента и отсутствие необходимости использовать токсичные компоненты.

Результаты и обсуждения

Для спектрофотометрического определения антипирина применялась селективная реакция аналита с нитрит ионами в кислой среде, согласно механизму:

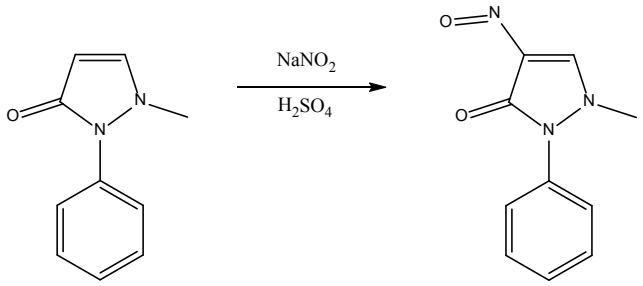


Рисунок 2. Схема селективной реакции

В ходе работы были исследованы и оптимизированы параметры, влияющие на протекание дериватизации антипирина. Например, были определены оптимальные значения концентрации серной кислоты (1 ммоль/л) и нитрита натрия (10 ммоль/л) (рис. 3 (А-Б)). Критериями выбора оптимальных условий были значения оптической плотности и время протекания реакции. Также было выбрано оптимальное время проведения реакции дериватизации (5 мин).

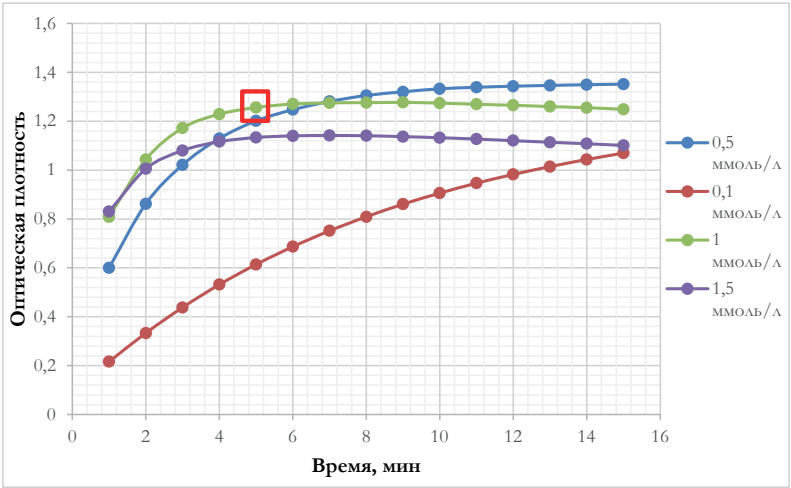


Рисунок 3 А. Выбор концентрации серной кислоты (Сантипирина=50 мг/л)

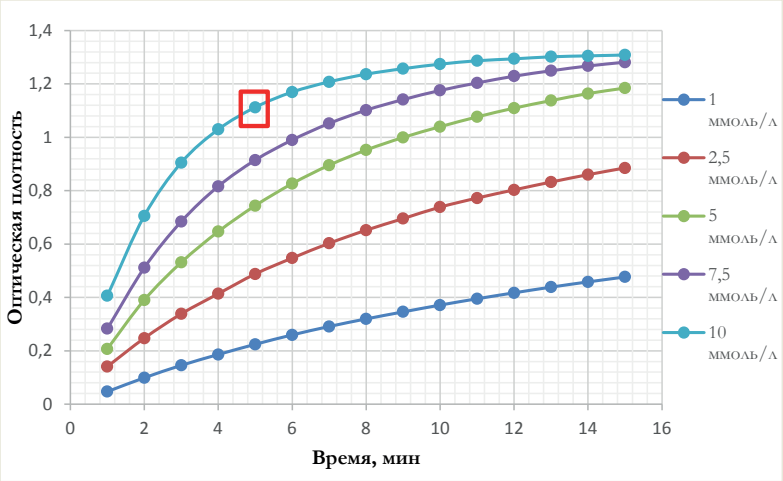


Рисунок 3 Б. Выбор концентрации нитрита натрия (Сантипирина=50 мг/л)

На следующем этапе для микроэкстракционного выделения деривата были исследованы различные органические растворители: хлороформ, четыреххлористый углерод, гептанол, гептановая кислота, Д2ЭГФК. На основании полученных результатов (рис. 4) Д2ЭГФК была выбрана для дальнейших исследований.

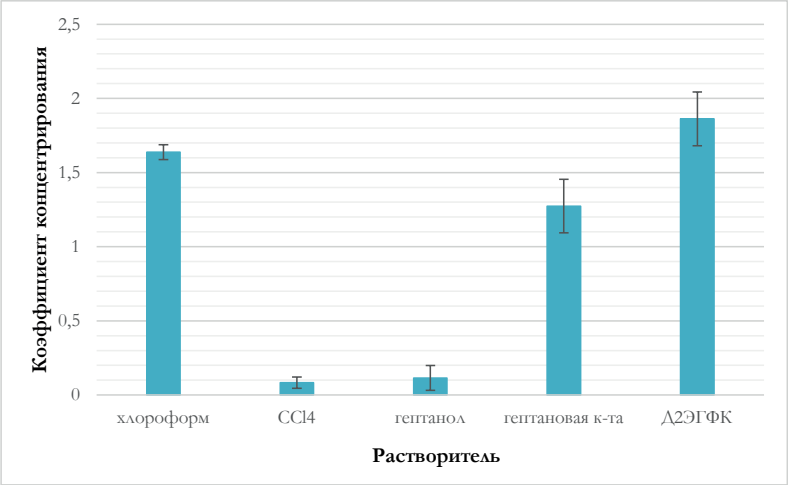


Рисунок 4. Оптимизация параметров экстракции (Сантипирина=20 мг/л)

Известно, что Д2ЭГФК в щелочной среде способна ионизироваться с образованием водорастворимой соли. Учитывая химическую структуру кислоты, можно предположить, что она проявляет свойства ПАВ и соответственно может выступать прекурсором создания супрамолекулярного растворителя (рис. 5). Для этого, на первом этапе проводили смешение деривата антипирина с раствором щелочи и вводили Д2ЭГФК, в результате чего наблюдали образование изотропного раствора. Для осуществления разделения фаза, процесс коацервации проводили с помощью раствора электролита. Полученную смесь центрифугировали в течение 5 мин при 5000 обмин, выделившуюся вверху супрамолекулярную фазу отбирали, помещали в кювету и проводили спектрофотометрическое детектирование аналитической формы при 345 нм.

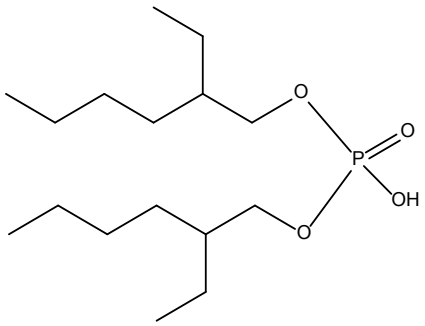


Рисунок 5. Структурная формула Д2ЭГФК

Был так же оптимизирован объем добавляемой Д2ЭГФК. В качестве оптимального был выбран объем 150 мкл, обеспечивающий оптимальную воспроизводимость результатов анализа (рис. 6). Выбранный объем кислоты добавляли к водному раствору деривата объемом 500 мкл.

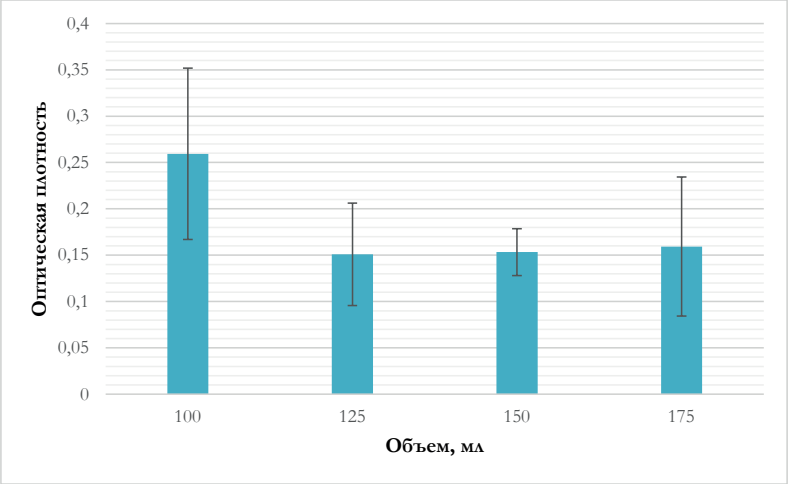


Рисунок 6. Выбор объема Д2ЭГФК (Сантипирина=20 мг/л)

Поскольку коацервация инициируется добавлением раствора электролита, был изучен ряд солей натрия: 10% растворы NaCl, Na_2SO_4, Na_2CO_3, Na_2HPO_4. В качестве оптимального был выбран раствор Na_2CO_3, обеспечивающий наилучшую воспроизводимость результатов анализа. Кроме того, была оптимизирована концентрация раствора электролита, а в качестве оптимальной была выбрана концентрация 15%, при которой плотность генерируемой фазы ниже плотности воды и выделяется в верхней части виалы, что является удобным для ее последующего отбора для анализа.

В выбранных условиях установлено, что предел обнаружения антипирина составляет 3 мкмоль/л, прецизионность в условиях повторяемости не превышала 10 %.

Данная работа направлена на усовершенствование антипиринового теста путем разработки нового и эффективного способа извлечения деривата антипирина из слюны с применением экологически безопасных супрамолекулярных растворителей. В ходе исследования была изучена возможность применения Д2ЭГФК в качестве прекурсора создания супрамолекулярного растворителя, а также оптимизированы условия экстракции деривата в генерируемую фазу. Разработанный способ апробирован на реальных пробах слюны.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

31.19.00 Аналитическая химия
76.00.00 Медицина и здравоохранение

ЛИТЕРАТУРА

1. Аюшиева С.Ц., Ковалева Л.П. Антипириновый тест у больных с гепатобилиарной патологией, поступивших на курс санаторно-курортного лечения минеральной водой «Аршан» // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2009. N 3(67). С. 26-28.

2. Paleologos E.K., Giokas D.L., Karayannis M.I. Micelle-mediated separation and cloud-point extraction // TrAC – Trends in Analytical Chemistry. 2005. Vol. 24(5). P. 426–436. doi: 10.1016/j.trac.2005.01.013.

3. Ballesteros-Gómez A., Sicilia M.D., Rubio S. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review // Analytica Chimica Acta. 2010. Vol. 677(2). P. 108–130. doi: 10.1016/j.aca.2010.07.027.

SUMMARY

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF ANTIPYRINE IN SALIVA WITH THE USE OF MICROEXTRACTION

Shevaliev R.M., student of the 2nd year of the Bachelor's Degree
Scientific supervisor: **Vakh K.S.**, Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State University
7/9, Universitetskaya Emb., St. Petersburg, 199034, Russian Federation
E-mail: robertshevalev@icloud.com

A procedure was developed for microextraction of antipyrine into the in-situ generated supramolecular solvent followed by determination of the analyte in saliva by spectrophotometric analysis. Optimization of the parameters of the antipyrine derivatization reaction was performed, optimal conditions for derivate extraction into a supramolecular solvent based on di-(2-ethylhexyl)-phosphoric acid were established.

Keywords: *supramolecular solvents, biological fluids, antipyrine, derivatization, microextraction.*

REFERENCES

1. Ayushieva S.TS., Kovaleva L.P. Antipyrine test in patients with hepatobiliary pathology, admitted to the course of sanatorium-resort treatment with mineral water «Arshan» // Bulletin of All-Russian Academy of Medical Sciences. 2009. N 3(67). (in Russian).

2. Paleologos E.K., Giokas D.L., Karayannis M.I. Micelle-mediated separation and cloud-point extraction // TrAC – Trends in Analytical Chemistry. 2005. Vol. 24(5). P. 426–436. doi: 10.1016/j.trac.2005.01.013.

3. Ballesteros-Gómez A., Sicilia M.D., Rubio S. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review // Analytica Chimica Acta. 2010. Vol. 677(2). P. 108–130. doi: 10.1016/j.aca.2010.07.027.

УДК 615.074

ПОТЕНЦИАЛ ПРИРОДНЫХ ГЛУБОКИХ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ КОРНЕЙ *GLYCYRRHIZA GLABRA* L.

Шикова В.А., студ. 1 курс (ORCID: 0000-0003-3028-4238; ResearcherID AFO-2873-2022)
Руководитель: **Буракова М.А.**, к. фарм. н., доцент (ORCID: 0000-0002-3880-0359)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ikka2207@gmail.com

Природные глубокие эвтектические растворители (НАДЭС) являются новым классом зелёных растворителей, используемых для извлечения различных групп биологически активных веществ из природного сырья. НАДЭС на основе сахарозы, сорбита, молочной и лимонной кислоты были изучены для извлечения глицирризиновой кислоты из корней *Glycyrrhiza glabra* L. Корни солодки экстрагировали методом мацерации с перемешиванием в течение 30 мин при температуре (70±2) °С в соотношении сырье: экстрагент 1:40. Концентрацию глицирризиновой кислоты определяли спектрофотометрически. Наиболее эффективным оказался НАДЭС на основе сорбита и молочной кислоты с добавлением 30 % воды очищенной.

Ключевые слова: *корни солодки, природные глубокие эвтектические растворители, экстракция, глицирризиновая кислота, «зелёные» технологии, многофакторный дисперсионный анализ.*

Извлечение биологически активных соединений из природных источников – это сложная задача как с технологической, так и с экономической точки зрения. Одним из инновационных направлений разработки воспроизводимых методов экстракции, основанных на оптимальном использовании сырья, энергии и растворителей являются зелёные технологии.

(NADES – Natural Deep Eutectic Solvents) НАДЭС – новый класс растворителей, который получают из природных, недорогих и легкодоступных компонентов (например, карбоновых кислот, сахаров, спиртов, аминов и хлорида холина) и представляют собой смеси доноров водородных связей с акцепторами. НАДЭС обладают уникальными физико-химическими свойствами, такими как высокая растворяющая способность и способность к настройке, наряду с экологическими преимуществами, такими как низкое давление паров, негорючесть, биоразлагаемость, устойчивость и др. В различных исследованиях сообщалось об использовании НАДЭСов для извлечения целевых биоактивных молекул, таких как полифенолы и фенольные кислоты, флавоноиды, терпеноиды, алкалоиды [1]. Высокая вязкость является ограничением НАДЭС, фактором, который замедляет диффузию этих растворителей в растительную клетку. Тем не менее, вязкость НАДЭС можно уменьшить путем добавления воды, что приводит к повышению растворимости и эффективности экстракции желаемых соединений.

Солодка голая (*Glycyrrhiza glabra L.)* принадлежит к семейству бобовые (Fabaceae), представляет собой небольшое многолетнее растение, произрастающее в Средиземноморском регионе, Центральной и Юго-Западной Азии. Её культивируют в Италии, России, Франции, Великобритании, США, Германии, Испании, Китае и Северной Индии. Солодка известна, как эффективное мочегонное, желчегонное средство. Она активно используется как противокашлевое и отхаркивающее, антиоксидантное, антибактериальное, противогрибковое, противовирусное, противомалярийное, антикоагулянтное иммуностимулирующее, гепатопротекторное, осветляющее и подтягивающее кожу средство. Солодка хорошо известна своим клиническим применением для лечения язвы желудка. В Китайской традиционной медицине издавна использовалась, как противовоспалительное средство. В настоящее время она широко применяется в фармацевтической, косметической и пищевой отраслях промышленностях во всем мире [2]. Основным активным компонентом солодки является глицирризин (глицирризиновая кислота и её соли). Это тип сапонинового соединения, состоящего из тритерпеноидного агликона, глицирретиновой кислоты (глицирретиновой кислоты; эноксолона), соединенной с дисахаридом глюкуроновой кислоты [3].

Чаще всего для извлечения глицирризиновой кислоты используют органические растворители, что снижает экологическую безопасность производства.

Целью данного исследования являлось изучение возможности экстракции глицирризиновой кислоты из корней солодки с использованием НАДЭСов.

Для достижения поставленной цели было необходимо выполнить следующие задачи:

изучить эффективность экстракции при использовании НАДЭСов на основе разных сахаров и кислот;

провести сравнительный анализ полученных образцов, выяснить, какой из выбранных НАДЭСов наиболее эффективно извлекает глицирризиновую кислоту из корней солодки.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали растительное сырье «Корни солодки» АО «*Красногорсклекредства*» (Красногорский завод лекарственных средств) г. Красногорск, Россия, лот № 30417, срок годности 08.2022.

Для синтеза НАДЭСов были выбраны: сахароза (Реахим 26 1141 0012), сорбит (DIYES 14.08.2012), молочная кислота (AP L1705070869), лимонная кислота (Реахим 34 2961 1382). Для проведения количественного анализа были взяты этанол (22/02.10.2019), ацетон (16/02.10.2020), трихлоруксусная кислота (А17.12.18).

НАДЭСы получали, нагревая смесь сахара и кислоты (3:1); (моль/моль) при температуре 70 ± 2°С при перемешивании на магнитной мешалке в течении 60 мин до получения прозрачной жидкости. Затем добавляли 30 % воды очищенной.

Перед экстракцией корни солодки измельчали на эксцельсиоре (Bosch MMR08A1) и просеивали через сито с диаметром отверстий 2 мм. Сырьё замачивали НАДЭСом на 10 мин в соотношении 1:40 (0,5 г сырья: 20 г НАДЭСа).

Экстракцию проводили методом мацерации с перемешиванием (при 600 об/мин) на магнитной мешалке при температуре 70 ± 2 °С в течении 30 мин. После чего отбирали образцы, центрифугировали 10 мин при 8000 об/мин. Отфильтровали извлечение от шрота через бумажный фильтр.

Обработку результатов экспериментом проводили с помощью программы Statsgraphics Centurion XV.I

Методика количественного определения глицирризиновой кислоты:

Около 2 г (точная навеска) извлечения помещали в плоскодонную колбу вместимостью 250 мл, прибавляли 10 мл 3%(м/м) раствора трихлоруксусной кислоты в ацетоне, перемешивали и нагревали с обратным холодильником в кипящей водяной бане в течении 20 мин. Затем в колбу приливали 12 мл 3% раствора трихлоруксусной кислоты в ацетоне, охлаждали и фильтровали через бумажный фильтр. Колбу промывали 2 раза по 4 мл раствором 3% трихлоруксусной кислоты в ацетоне, фильтруя через тот же фильтр. К полученному фильтрату прибавляли по каплям раствор аммиака концентрированного до образования густого осадка. Раствор с осадком фильтровали через бумажный фильтр. Осадок с фильтром переносили в колбу, в которой проводилось осаждение, растворяли в 25 мл воды очищенной. Из колбы с получившимся раствором брали 5 мл, переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, и объём доводили водой очищенной до метки [4].

Измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре (Shimadzu UV-1240) при длине волны 260 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения (в качестве раствора сравнения использовали воду очищенную).

Содержание глицирризиновой кислоты в извлечении в процентах (*X*) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 822 \cdot 25 \cdot 20 \cdot 100}{a \cdot 1 \cdot 11000 \cdot 1000}$$

где *A* – оптическая плотность испытуемого раствора;

a – навеска субстанции, г;

822 – молекулярная масса глицирризиновой кислоты, г/моль;

11000 – молярный показатель поглощения глицирризиновой кислоты.

Результаты и обсуждения

Для исследования экстракции глицирризиновой кислоты «зелеными» растворителями были выбраны сахаросодержащие НАДЭСы на основе сахарозы и сорбита. В качестве донора водородной связи использовали лимонную и молочную кислоты.

Глицирризиновую кислоту в образцах анализировали спектрофотометрическим методом. Спектр поглощения извлечений солодки имел максимум при длине волны 260-263 нм (Рисунок 1). Аналогичные спектральные характеристики имеет раствор стандартного образца глицирама [5]. Результаты количественного определения глицирризиновой кислоты в исследуемых образцах солодки голой, полученных с использованием НАДЭС разного состава, представлены на рисунке 1.

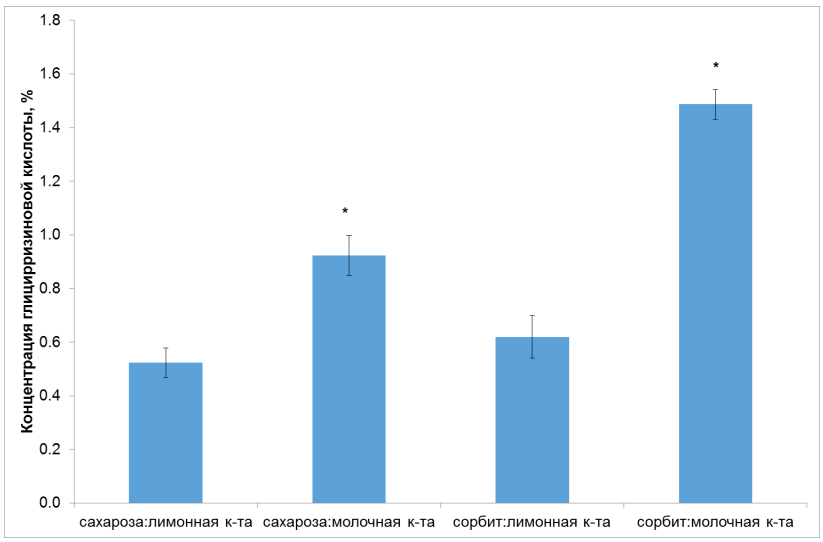


Рисунок 1. Содержание глицирризиновой кислоты в НАДЭС извлечениях (M±sd, n=3)
***статистически значимые различия между НАДЭСами, содержащими лимонную и молочную кислоты**

Максимальное содержание глицирризиновой кислоты наблюдалось в образцах, полученных с использованием молочной кислоты. Меньшая концентрация наблюдалась в образцах, полученных экстракцией НАДЭС на основе лимонной кислоты (рис. 2.).

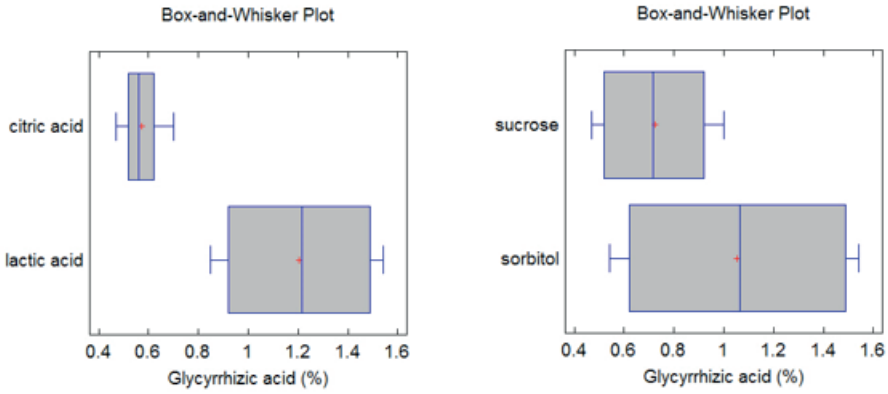


Рисунок 2. Влияние типа кислоты и сахара на концентрацию глицирризиновой кислоты

Влияние независимых переменных (тип органической кислоты и тип сахара) на эффективность экстракции глицирризиновой кислоты из солодки НАДЭСами проанализировали с использованием многофакторного дисперсионного анализа. Многофакторный анализ ANOVA (Рисунок 3.) показал существенные различия в извлечении глицирризиновой кислоты для разных исследованных образцов. Использование лимонной кислоты в качестве донора водородной связи не оказывало статистически значимого влияния на извлечения глицирризиновой кислоты. Замена лимонной кислоты на молочную приводило к существенному повышению эффективности экстракции глицирризиновой кислоты на 40%.

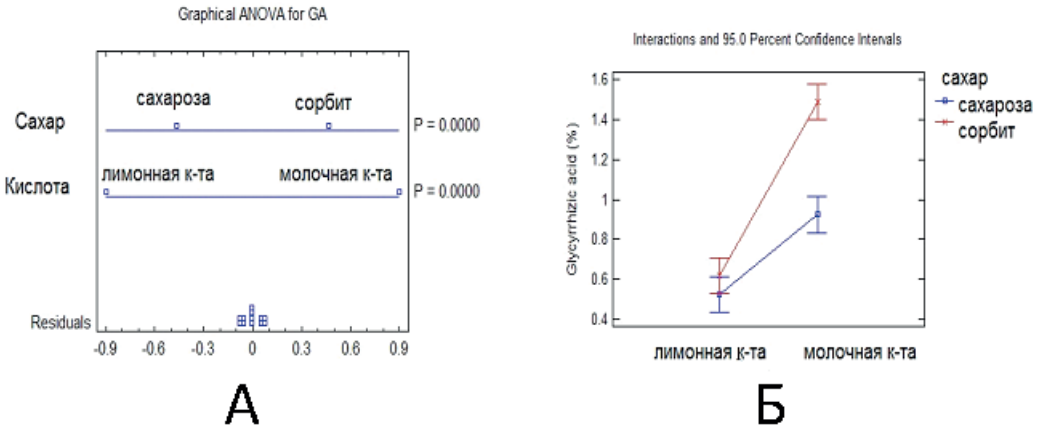


Рисунок 3. Графики многофакторного дисперсионного анализа. Влияние параметров состава НАДЕС на экстракцию глицирризиновой кислоты. А) Графическая интерпретация дисперсионного анализа, Б) График влияния типа кислоты и типа сахара в природном глубоком эвтектическом растворителе

НАДЭС на основе молочной кислоты имеет pH, который близок к значению pKa глицирризиновой кислоты, что способствует повышению выхода действующего вещества. Кроме того, вязкость НАДЭС на основе молочной кислоты меньше по сравнению с вязкостью НАДЭС на основе лимонной кислоты. Низкая вязкость НАДЭС привела к более высокому массопереносу и, в конечном итоге, к повышению выхода глицирризиновой кислоты.

Заключение

В результате проведённой работы было выявлено, что НАДЭС из молочной кислоты и сорбита извлекает наибольшее количество глицирризиновой кислоты из корней солодки при экстракции.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology / Y. Dai [et al.] // Analytica chimica acta. 2013. Vol. 766(61/68). doi: 10.1016/j.aca.2012.12.019.

2. Liquorice (Glycyrrhiza glabra): A phytochemical and pharmacological review / G. Pastorino [et al.] // Phytotherapy research. 2018. Vol. 32(12). P. 2323-2339. doi: 10.1002/ptr.6178

3. A novel approach towards green extraction for glycyrrhitinic acid by ionic liquid based microwave assisted extraction and optimization through response surface methodology / M. Bhan [et al.] // Pharmacognosy Journal. 2017. Vol. 9(6). DOI:10.5530/pj.2017.6.136

4. Lanjekar K.J., Rathod V.K. Green extraction of Glycyrrhizic acid from Glycyrrhiza glabra using choline chloride based natural deep eutectic solvents (NADESs) // Process Biochemistry. 2021. Vol. 102. P. 22-32.

5. Качественный и количественный анализ сырья и препаратов солодки / М.В. Егоров [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2005. N 1. С. 175-180.

SUMMARY

THE USE OF NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS FOR THE «GREEN» EXTRACTION OF GLYCYRRHIZIC ACID FROM *GLYCYRRHIZA GLABRA* L.

Shikova V.A., student course 1 (ORCID: 0000-0003-3028-4238; ResearcherID AFO-2873-2022)
Scientific supervisor: **Burakova M.A.**, Candidate of Pharm. sciences, Associate Professor (ORCID: 0000-0002-3880-0359)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: ikka2207@gmail.com

Natural deep eutectic solvents (NADES) are a new class of green solvents used to extract various groups of biologically active substances from natural raw materials. NADES based on sucrose, sorbitol, lactic and citric acids were studied for the extraction of glycyrrhizic acid from the roots of Glycyrrhiza glabra L. Licorice roots were extracted by maceration with stirring for 30 min at a temperature of 70 ± 2°C in a raw material:extractant ratio of 1:40. The concentration of glycyrrhizic acid was determined spectrophotometrically. The most effective was NADES based on sorbitol and lactic acid (content of glycyrrhizic acid 1.49±0.06%) with the addition of 30% purified water.

Keywords: *natural licorice, natural content of eutectic solvents, extraction, glycyrrhizic acid, «green» technologies, multivariate analysis of variance.*

REFERENCES

1. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology / Y. Dai [et al.] // Analytica chimica acta. 2013. Vol. 766(61/68). doi: 10.1016/j.aca.2012.12.019.

2. Liquorice (Glycyrrhiza glabra): A phytochemical and pharmacological review / G. Pastorino [et al.] // Phytotherapy research. 2018. Vol. 32(12). P. 2323-2339. doi: 10.1002/ptr.6178

3. A novel approach towards green extraction for glycyrrhitinic acid by ionic liquid based microwave assisted extraction and optimization through response surface methodology / M. Bhan [et al.] // Pharmacognosy Journal. 2017. Vol. 9(6). DOI:10.5530/pj.2017.6.136

4. Lanjekar K.J., Rathod V.K. Green extraction of Glycyrrhizic acid from Glycyrrhiza glabra using choline chloride based natural deep eutectic solvents (NADESs) // Process Biochemistry. 2021. Vol. 102. P. 22-32.

5. Qualitative and quantitative analysis of raw materials and preparations of licorice / M.V. Egorov [et al.] // Bulletin of the Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. 2005. N 1. P. 175-180. (in Russian)

УДК 615.071

ВИЗУАЛЬНЫЙ И МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЦВЕТКОВ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ

Шиц Д.Д., студ. 3 года обучения, **Волкова Л.С.**, студ. 3 года обучения
Руководитель: **Шебитченко Т.С.,** ст. преподаватель кафедры ПТЛП
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: darya.shic@spcpu.ru

В настоящей работе представлен анализ качества внешних признаков цветков календулы лекарственной. Проведено исследование внешних и микроскопических признаков. Анализ проводили, опираясь на методики Государственной Фармакопеи РФ XIV издания. Показано, что сырье действительно соответствует нормативным требованиям.

Ключевые слова: *лекарственное растительное сырье, фитопрепараты, календула, микроскопия, качественный анализ, стандартизация сырья.*

На отечественном фармацевтическом рынке наблюдается тенденция к росту потребления лекарственных препаратов растительного происхождения. Это объясняется широким спектром действия фитопрепаратов, их доступностью, а также доверием потребителя, основанном на мнении о низкой токсичности и безопасности данной группы лекарственных средств [1]. Однако, важным вопросом как при промышленном производстве, так и при разработке готовых лекарственных средств, являются контроль качества и стандартизация сырья, служащего основой для будущей продукции. Первым этапом при производстве фитопрепаратов является качественная оценка параметров растительного лекарственного сырья (ЛРС). Требования на ЛРС и лекарственные средства растительного происхождения в обязательном порядке включены в действующую Государственную фармакопею Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания, том 4 [2]. Наиболее показательными тестами являются внешние и микроскопические признаки, так как они в полной мере позволяют оценить соответствие сырья нормативным требованиям, а также выявить посторонние примеси [3], благодаря высокой степени стандартизации методик и отсутствию необходимости в сложном оборудовании.

Цель работы: установить соответствие нормативным требованиям исследуемого сырья – цветки календулы лекарственной.

Задачей работы являлось определение внешних и микроскопических признаков цветков календулы лекарственной, согласно требованиям ГФ РФ XIV издания.

Анализ растительного лекарственного сырья проводили, согласно методикам ФС 2.5.0030.15 «Календулы лекарственной цветки», в лаборатории фитопрепаратов кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ФБГОУ ВО СПХФУ.

Визуальный анализ (внешние признаки) проводили под умеренно-ярким светом с использованием лупы (10х). Отбирали крупные целые цветки (цельное сырье) и части растений (измельченное сырье).

При первичном осмотре сырье представляло собой цельные или частично осыпавшиеся корзинки диаметром от 1 до 4-х см. Остаток цветоносов – до 2-х см. Цвет обвертки – зеленовато-серый. Листочки обвертки заостренные, опушенные, однорядные. Цветоложе слегка выпуклое, голое, желтовато-серого цвета. Краевые цветки язычковые с трехзубчатым отгибом, вдвое превышающие обвертку, желтого или светло-желтого цвета. Расположены в 2-3 ряда, что свидетельствует о том, что сырье представляет собой немахровую форму. Средние цветки – трубчатые, с пятизубчатым венчиком, желтовато-коричневого цвета. Запах можно описать как сладковатый, травянистый.

Анализ на микроскопические признаки проводили в соответствии с ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [4].

Отбирали цельные цветки для последующего просветления и отбора конкретных частей растения. Просветление проводили кипячением пробы в 5% растворе гидроксида натрия, разведенном водой (1:1) в течении 4-х минут. После кипячения содержимое фильтровали через бумажный фильтр и промывали водой очищенной. Далее содержимое перенесли в чашку Петри в небольшом количестве воды. Части календулы отбирали с помощью лопаточки и помещали на предметное стекло в каплю глицерина, после плотно прижимая покровным стеклом. Исследование проводили с помощью микроскопа Levenhuk D80L LCD Digital Microscope.

Результаты микроскопического анализа представлены на рисунке.

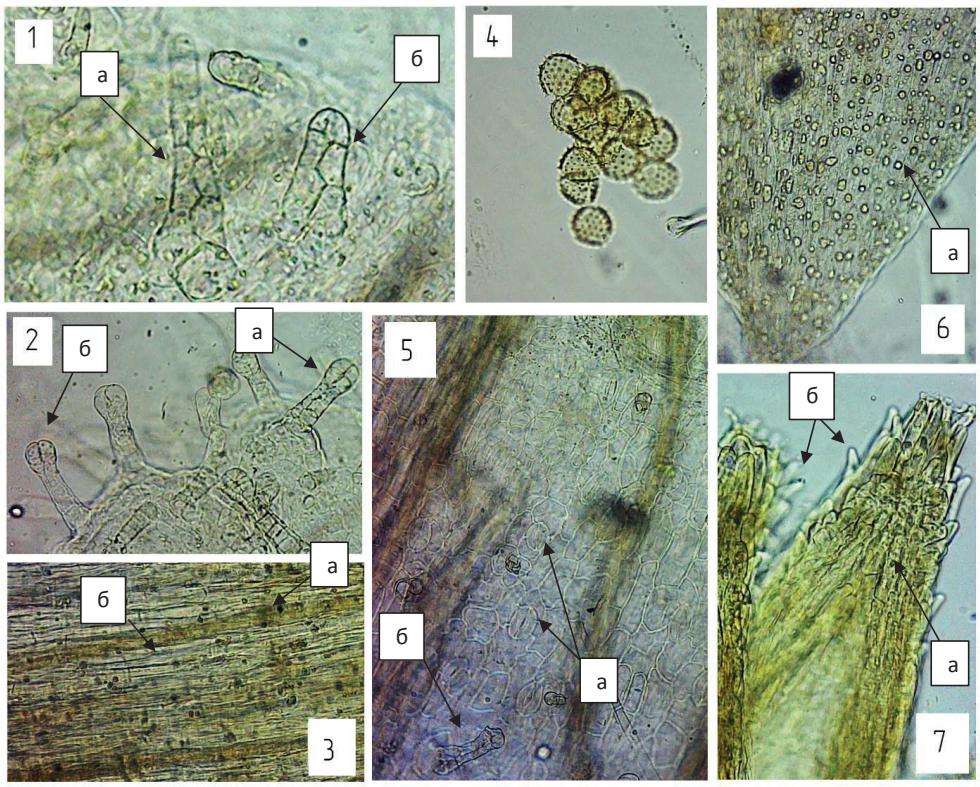


Рисунок. Микроскопическое исследование цветков календулы лекарственной.
1 – фрагмент эпидермиса завязи трубчатого цветка, а – простой многоклеточный двурядный волосок, б – двухрядный железистый волосок (200х).
2 – фрагмент эпидермиса завязи язычкового цветка, а – двурядный железистый волосок, б – однорядный железистый волосок (200х).
3 – фрагмент отгиба язычкового цветка, а – маслянистые капли в клетках мезофилла, б – складчатость кутикулы эпидермиса (200х).
4 – округлые пыльцевые зерна с шиповатой экзиной и тремя порами (200х).
5 – фрагмент эпидермиса листочка обвертки, а – устьица, б – двуклеточный волосок (200х).
6 – фрагмент зубчика отгиба язычкового цветка, а – маслянистые капли в клетках мезофилла (200х).
7 – фрагмент зубчика венчика трубчатого цветка, а – мелкие маслянистые капли в клетках мезофилла, б – сосочковидные выросты клеток эпидермиса (200х)

Выявлены основные микродиагностические признаки, заключающиеся в особенностях цветков календулы, таких как наличие железистых волосков на завязи трубчатых и язычковых цветков, а также на листочках обвертки, аномоцитных устьиц на эпидермисе листочков обвертки и характерной шиповатой пыльцы с хорошо видимыми тремя-четырьмя порами. По результатам проведенного качественного анализа можно сказать, что перед нами сырье, действительно являющееся цветками календулы лекарственной. Данный этап контроля качества сырья является действительно важным, так как растения обладают огромным многообразием, и отличить некоторые их виды друг от друга без детального рассмотрения не представляется возможным. Также важно выявить отсутствие примесей в сырье растений со схожим фенотипом.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.36. Лекарственные средства из природного сырья
62.09.37. Растительное сырье

ЛИТЕРАТУРА

1. Фитопрепараты, анализ фармацевтического рынка Российской Федерации / Н.Н. Бойко [и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. 2017. Т. 3. N 4.

2. Государственная фармакопея Российской Федерации. Т. 4. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol24/

3. Потанина О.Г. Фармакопейные требования к микроскопическому анализу лекарственного растительного сырья // Фармация. 2015. N 4. С. 47.

4. Государственная фармакопея Российской Федерации. Т. 2. XIV изд. 2018. [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/

SUMMARY

VISUAL AND MICROSCOPIC ANALYSIS OF CALÉNDULA OFFICINÁLIS

Shic D.D., U.G. 3rd year student; **Volkava L.S.,** U.G. 3rd year student;
Scientific supervisor: **Shebitchenko T.S.,** senior lecturer;
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: darya.shic@spcpu.ru

This paper presents an analysis of the quality of external signs of flowers of calendula officinalis. First, a study of external signs was carried out, after – microscopic signs. The analysis was carried out based on the methods of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV edition. The research showed the raw materials do indeed meet the regulatory requirements.

Keywords: *medicinal plant raw materials, phyto preparations, calendula, microscopy, qualitative analysis, standardization of raw materials.*

REFERENCES

1. Phytopreparations, analysis of the pharmaceutical market of the Russian Federation / N.N. Boyko [et al.] // Scientific results of biomedical research. 2017. Vol. 3(4). (In Russian).
2. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Vol. 4. XIV ed. 2018. [Internet] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/ (In Russian).
3. Potanina O.G. Pharmacopoeial requirements for the microscopic analysis of medicinal plant materials // Pharmacy. 2015. N 4. P. 47 (In Russian).
4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Vol. 2. XIV ed. 2018. [Internet] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/ (In Russian).

УДК 57:086.8

ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО

Шмарова А.А., магистрант 1 года обучения (ORCID: 0000-0002-0191-7342)
Руководитель: **Пивоварова Н.С.**, к. фарм. н., доцент (ORCID: ID: 0000-0003-3020-8526)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: shmarova.aleksandra@pharminnotech.com

В настоящее время сокращение численности ценных лекарственных растений становится существенной проблемой. На фоне поиска оптимальных фитокомпонентов с целью создания лекарственных средств для борьбы с коронавирусной инфекцией возникает угроза видового разнообразия. В частности, деградация фитоценозов растений Дальнего Востока, в том числе шлемника байкальского (Scutellaria baicalensis Georgi), носит массовый характер и обусловливает проблему заготовки и сбора сырья. Для использования шлемника в качестве источника вторичных метаболитов предложена технология культивирования in vitro. Благодаря созданию суспензионной культуры появляется возможность изучения и направленной регуляции синтеза и накопления биологически активных соединений. На текущем этапе исследования изучены физиологические, цитологические и ростовые характеристики клеточной биомассы Scutellaria baicalensis Georgi.

Ключевые слова: *шлемник байкальский, растительные клетки, суспензионные культуры, жизнеспособность клеток, красители, ростовые характеристики.*

Пандемия COVID-19 обозначает необходимость поиска и разработки лекарственных средств (ЛС), подавляющих активность вируса SARS-CoV-2. Внимание ученых привлекают растения, содержащие комплекс ценных биологически активных веществ (БАВ) – вторичных метаболитов, которые обладают разносторонним фармакологическим действием. Эти биоактивные соединения используются для лечения атипичной пневмонии, коронавируса ближневосточного респираторного синдрома (MERS), гриппа и вируса Денге [1]. Вторичные метаболиты способны проявлять активность на одном или нескольких этапах репликации вируса. Фитопрепараты, обладающие антиоксидантной и противовирусной активностью, могут способствовать лечению заболеваний верхних дыхательных путей, связанных с COVID-19 [1-3].

В этой связи, особый интерес представляет китайская народная медицина, предполагающая создание многокомпонентных ЛС на основе природных ингредиентов. Входящие в их состав дикорастущие лекарственные растения содержат богатый комплекс активных соединений. Вторичные метаболиты могут стать значимыми элементами при создании противовирусных препаратов, а также тонизирующих средств для восстановления организма после перенесенного заболевания.

На протяжении 2000 лет одним из наиболее широко используемых лекарственных растений в Китае является шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis* Georgi). Подземные органы растения применяются в традиционной медицине под

названием *Scutellariae Radix* (*Huang-Qin*). С 2015 года корни шлемника являются официнальным лекарственным растительным сырьем (ЛРС) в Китайской фармакопее [2]. Активные соединения полифенольной природы в составе *Scutellaria baicalensis* обладают широким спектром фармакологической активности: проявляют противовоспалительное, антибактериальное, противовирусное, антиоксидантное и противоопухолевое действие. В исследованиях китайских ученых отмечается, что этанольные экстракты, а также выделенный в чистом виде флавоноид байкалеин, оказывают ингибирующее действие на репликацию вируса SARS-CoV-2 [2, 3].

Ценность растения становится одним из факторов потенциальной угрозы для произрастания и распространения вида в естественной среде обитания. Растущий рыночный спрос почти истощил природные популяции шлемника на территории Китая [4]. Следствием стало увеличение числа случаев браконьерства и незаконного сбора и заготовки растения на территории Приамурья, Сибирского и Дальневосточного округа, непосредственно граничащих с КНР [4].

Таким образом, деградация фитоценозов шлемника байкальского обозначает проблему использования сырья для создания препаратов растительного происхождения [5]. Восстановление популяций предполагает внедрение комплекса защитных мер. Такой подход имеет ряд недостатков: длительность восстановительных процедур, существенные денежные затраты, трудоемкость. Альтернативным способом для удовлетворения интересов государственной политики и научного сообщества становится внедрение растений в культуру *in vitro*.

Культивирование растительных клеток предполагает создание искусственных платформ, изолированных от влияния природных условий. Клеточные культуры открывают возможности для проведения необходимых биохимических, цитологических и генетических исследований, создания условий направленной регуляции синтеза ценных БАВ, микроклонального размножения без нанесения ущерба окружающей среде. Поэтому введение в культуру *in vitro* шлемника байкальского становится перспективным.

Тем не менее, культивирование растительных клеток представляет собой крайне чувствительный к внешним и внутренним воздействиям процесс. Растительные клетки являются достаточно сложным объектом для исследований. Большие размеры, чувствительность к напряжению сдвига, восприимчивость клеточной стенки к кислотно-щелочному балансу, а также склонность к агрегации (слипанию) обозначают проблему подбора оптимальных условий культивирования для конкретного вида растения [6].

Современные подходы к культивированию растительных клеток предполагают автоматизацию манипуляций при пересадке, а также при анализе характеристик биомассы (жизнеспособности, ростовых свойств). Сведение к минимуму вмешательства человека как потенциального источника контаминации становится одной из основополагающих задач. Однако, для внедрения автоматизации в данную технологию необходимо всесторонне исследовать параметры биомассы, изучить динамику роста клеток растения и подобрать наиболее выгодные условия для поддержания их стабильности.

Исходя из этого, целью исследования является изучение характеристик суспензии клеток *Scutellaria baicalensis*. Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. получение суспензионной культуры шлемника байкальского;
2. анализ цитологических и физиологических параметров суспензии;
3. анализ ростовых свойств культуры *Scutellaria baicalensis* в условиях *in vitro*.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись суспензионные культуры *Scutellaria baicalensis*. Для получения суспензий использовали рыхлые каллусы шлемника байкальского, предоставленные лабораторией культур растительных клеток кафедры ПТЛП Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета.

В состав жидкой питательной среды включены макро- и микроэлемнеты по прописи Мурасиге-Скуга (MS), регуляторы роста (2,4-Д, кинетин), а также витаминно-минеральный комплекс (0,1 мг/л тиамина, 0,5 мг/л пиридоксина гидрохлорида, 0,5 мг/л никотиновой кислоты). Показатель pH до автоклавирования среды поддерживался в диапазоне 5,6-5.8. Регулирование допустимого уровня pH осуществлялось с помощью раствора 0,1М натрия гидроксида.

Культивирование проводили в темноте при температуре 27-28°С и относительной влажности 60-70% в конических колбах Эрленмейера (250 мл), закупоренных двойным слоем фольги, в условиях постоянного перемешивания на качалке (шейкере) при скорости вращения 100 об/мин. Длительность одного пассажа составляла 21-22 дня.

Для определения жизнеспособности клеточной биомассы использовали красители (0,1% нейтральный красный (НК) и 0,025% раствор Эванса голубого (ЭГ)).

Ростовые характеристики суспензий оценивались путем определения содержания сухой биомассы. На основании полученных результатов рассчитывали индекс роста (I), удельную скорость роста в экспоненциальной фазе (μ) и время удвоения (τ) в соответствии с общепринятыми методиками (см. формулы 1-3).

$$I = \frac{X_{max} - X_0}{X_0}, \quad (1)$$

где X_{max} – максимальное количество сухой биомассы, г/л.
X_0 – количество сухой биомассы в начале выращивания, г/л.

Удельная скорость роста:

$$\mu = \frac{lnX_2 - lnX_1}{t_2 - t_1}, \quad (2)$$

где X_1, X_2 – содержание сухой биомассы в моменты времени t_1, t_2 соответственно, г/л.

Время удвоения биомассы:

$$\tau = \frac{ln2}{\mu} \quad (3)$$

Статистическую обработку данных проводили с помощью Microsoft Excel. В статье приведены средние значения параметров.

Результаты и обсуждение

Полученная суспензионная культура *S. baicalensis* представляет собой гетерогенную массу. Первичная суспензия характеризуется высокой степенью агрегированности. Размер клеточных агрегатов достигает порядка 0,4 см и более (70%).

Способность клеток к агрегации изменялась при последующих пересадках. Количество агрегатов снижалось (рис. 1). К концу четвертого субкультивирования степень агрегированности суспензии составила 45-50% от общего количества клеток.

Установлено, что для первичной суспензии характерны клетки преимущественно паренхимного типа. Клетки меристематического типа относительно небольшого размера со слабо выраженной вакуолизацией составляют 25 ± 2,4% от общей клеточной массы.

Количество жизнеспособных одиночных клеток, в том числе в мелких агрегатах, незначительно. К концу пассажа часть клеток (10%) находилась на стадии деградации: отмечалось нарушение целостности клеточной стенки (см. рис. 2а).

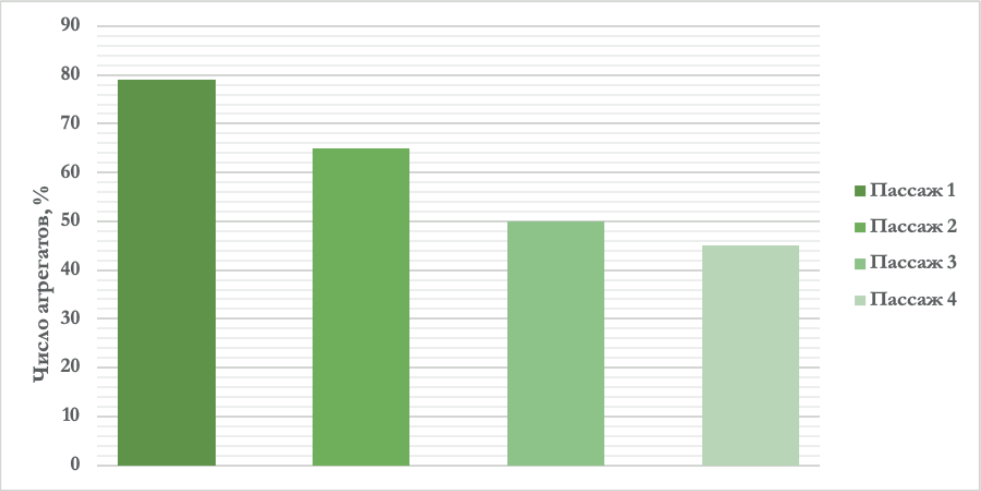


Рисунок 1. Динамика изменения степени агрегированности суспензии шлемника байкальского

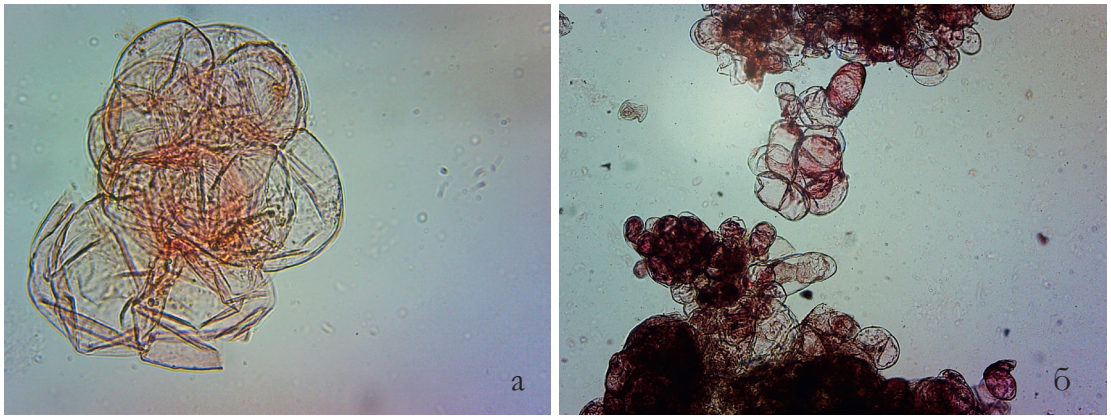


Рисунок 2. Клетки суспензионной культуры шлемника байкальского: а – клеточное скопление на стадии деградации (21-е сутки субкультивирования); б – форма и вид агрегатов клеток паренхимного типа

В начальной суспензии преобладали клетки вытянутой, изогнутой формы (см. рис.2б). В ходе дальнейших пассажей появлялись клетки округлой формы размером 35-40 мм (35%).

При определении жизнеспособности клеток установлено, что оба красителя позволяют провести качественную интерпретацию дифференцирования биомассы. Витальный краситель НК окрашивал преимущественно внутренние клеточные структуры и поверхность клеток. Время экспозиции составляло 1-2 минуты. Окрашенные живые клетки легко идентифицировались по сравнению с неокрашенными мертвыми объектами. Использование ЭГ позволяло фиксировать нежизнеспособные клетки. Время выдержки 15-20 минут. Мертвые объекты интенсивно окрашивались в синий цвет по сравнению с живыми клетками, в структуру которых краситель не успевал проникнуть (см. рис. 3).

Однако, в некоторых пробах красители одинаково окрашивали поврежденные и жизнеспособные клетки. Неспецифическое связывание молекул красителей с мембраной клеточной стенки обозначает необходимость усовершенствования методик определения жизнеспособности клеточной биомассы шлемника байкальского.

В ходе исследования проведено 4 пассажа. В течение первых трех субкультивирований проводился анализ ростовых характеристик суспензий (табл. 1).

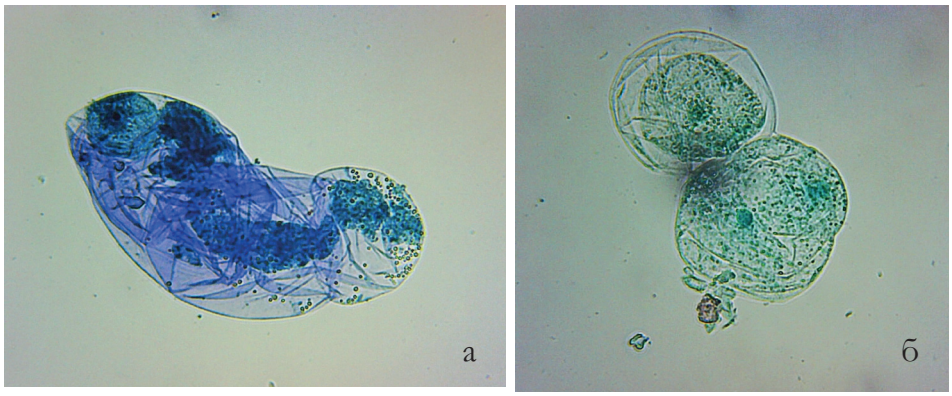


Рисунок 3. Определение жизнеспособности клеточной биомассы шлемника байкальского при окрашивании 0,025% раствором Эванса голубого: мертвые клетки, окрашенные интенсивно (а); живые клетки (б)

Таблица 1 – Ростовые характеристики суспензионной культуры шлемника байкальского

Наименование культуры	$M_{сух}$, г/л	I	μ, $сут^{-1}$	τ, сут
Шлемник байкальский*	6,84 ± 1,43	6,28 ± 1,79	0,10 ± 0,05	6,93 ± 1,04

**Примечание: средние значения представлены по 3 циклам с учетом стандартного отклонения.*

Установлено, что ростовой цикл полученной культуры составляет 20-22 дня. Через 21 день после начала экспозиции наблюдается прекращение прироста сухой биомассы.

При проведении четвертого пассажа в связи со снижением плотности пересаживаемого инокулята наблюдалась деградация клеточной биомассы.

Первичные суспензии характеризуются относительно нестабильными ростовыми характеристиками, а также гетерогенностью биомассы (вариабельностью форм и размеров клеток). Для полученных суспензионных клеточных культур отмечена зависимость: уменьшение объема инокулята провоцирует увеличение периода достижения максимальных весовых показателей биомассы. В некоторых колбах при снижении начальной плотности (с 2,0 г/л до 0,5 г/л) наблюдалось значительное уменьшение показателей роста и жизнеспособности, в том числе и остановки роста.

Таким образом, продолжается работа по дальнейшей оптимизации условий выращивания суспензионных культур *S. baicalensis* и подбору методик анализа цитологических и физиологических параметров клеток.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

29.35.43 Электронная и ионная микроскопия;
62.00.00 БИОТЕХНОЛОГИЯ;
62.09.37 Растительное сырье;
62.33.29 Культивирование растительных клеток и тканей;
68.35.43 Лекарственные, витаминоносные и инсектицидные растения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Khan S.A., Al-Balushi K. Combating COVID-19: The role of drug repurposing and medicinal plants // Journal of infection and public health. 2021. Vol. 14(4). P. 495-503. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.10.012.

2. Therapeutic potential of Scutellaria baicalensis Georgi in lung cancer therapy / L. Xiang [et al.] // Phytomedicine. 2021. Vol. 95. P. 153727. DOI: https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153727.

3. Scutellaria baicalensis extract and baicalein inhibit replication of SARS-CoV-2 and its 3C-like protease in vitro / H. Liu [et al.] // Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry. 2021. Vol. 36(1). P. 497-503. DOI: https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1873977

4. Ляпустин С.Н., Барей Н.С. О влиянии пандемии COVID-19 на рост браконьерства и контрабанды объектов фауны и флоры в Дальневосточном регионе Российской Федерации // Геостратегические приоритеты в реализации национальных проектов России: дальневосточный контекст: сборник научных трудов, Владивосток, 18–19 ноября 2020 года. Владивосток: РИО Владивостокского филиала Российской таможенной академии, 2020. С. 68-75.

5. Лысакова Н. Динамика высоты и среднесуточного прироста шлемника байкальского под влиянием площади питания // Молодежь и наука. 2019. N 2. С. 62–65.

6. Engineering considerations on extrusion-based bioprinting: interactions of material behavior, mechanical forces and cells in the printing needle / J. Emmermacher [et al.] // Biofabrication. 2020. Vol. 12(2). P. 025022. DOI: https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab7553.

SUMMARY

OBTAINING AND ANALYSIS OF BAYCAL SKULLCAP SUSPENSION CULTURE

Shmarova A.A., 1st year master's student (ORCID: 0000-0002-0191-7342)
Scientific supervisor: **Pivovarova N.S.**, PhD in Pharmacy, Associate Professor (ORCID: ID: 0000-0003-3020-8526)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: shmarova.aleksandra@pharminnotech.com

At present, the decrease in the number of valuable medicinal plants is becoming a significant problem. The search for phytocomponents with the purpose of creating medicines to control coronavirus infection poses a threat to biodiversity. In addition, the degradation of the Far East plant phytocenosis, including Scutellaria baicalensis Georgi, is of mass character and causes the problem of raw material harvesting and collection. An in vitro cultivation technique has been proposed to utilize Scutellaria baicalensis as a source of secondary metabolites. Creation of suspension culture makes it possible to study and regulate synthesis and accumulation of biologically active compounds. The physiological, cytological and growth characteristics of the cell biomass of Scutellaria baicalensis Georgi were studied at the current stage of research.

Keywords: *Baikal skullcap; plant cells; suspension cultures; cell viability; colorants; growth characteristics.*

REFERENCES

1. Khan S.A., Al-Balushi K. Combating COVID-19: The role of drug repurposing and medicinal plants // Journal of infection and public health. 2021. Vol. 14(4). P. 495-503. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.10.012.

2. Therapeutic potential of Scutellaria baicalensis Georgi in lung cancer therapy / L. Xiang [et al.] // Phytomedicine. 2021. Vol. 95. P. 153727. DOI: https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153727.

3. Scutellaria baicalensis extract and baicalein inhibit replication of SARS-CoV-2 and its 3C-like protease in vitro / H. Liu [et al.] // Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry. 2021. Vol. 36(1). P. 497-503. DOI: https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1873977

4. Ljapustin, S.N., Barej N.S. The Effect of the COVID-19 Pandemic On the Growth of Poaching and Smuggling of Fauna and Flora in the Russian Far East Region // Geostrategic Priorities in the Implementation of Russia's National Projects: Far Eastern Context: collection of Scientific Works, Vladivostok, November 18-19, 2020. Vladivostok: RIO Vladivostok branch of the Russian Customs Academy, 2020. P. 68-75. (in Russian).

5. Lysakova N. Dynamics of height and average daily growth of Baikal skullcap under the influence of feeding area // Youth and Science. 2019. N 2. P. 62-65. (in Russian).

6. Engineering considerations on extrusion-based bioprinting: interactions of material behavior, mechanical forces and cells in the printing needle / J. Emmermacher [et al.] // Biofabrication. 2020. Vol. 12(2). P. 025022. DOI: https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab7553.

УДК 615.844.6

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА СУБСТАНЦИЙ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ЭКСТЕМПОРАЛЬНЫХ РАСТВОРОВ ДЛЯ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Шубина К.А., асп. 1 года обучения (ORCID: 0000-0002-2397-0224)
Руководитель: **Шакирова Д.Х.**, д. фарм. н., проф. (ORCID: 0000-0002-7840-1985)
Казанский (Приволжский) федеральный университет
Институт фундаментальной медицины и биологии,
420012, Казань, ул. Карла Маркса, д.76 Российская Федерация
E-mail: shubinakristina.al@mail.ru

В физиотерапии процедура лекарственного электрофореза является наиболее востребованной и популярной, благодаря своей безопасности, простоте, а также лечебным эффектам, которые оказываются на организм. В результате проведенного исследования был определен список лекарственных препаратов аптечного изготовления, подходящих для проведения лекарственного электрофореза, а также проведен структурный анализ субстанций, используемых для экстемпорального изготовления растворов для электрофореза.

Ключевые слова: *структурный анализ, экстемпоральное изготовление, субстанции, лекарственный электрофорез, аптека, растворы.*

На сегодняшний день физиотерапия имеет большое количество методов разнообразных по физической природе воздействующего фактора, физиологическому и лечебному действию, способам применения [1].

Метод лекарственного электрофореза отличается от других способов введения препаратов тем, что лекарственное вещество (ЛВ) проникает на небольшую глубину, образуя депо в коже, в подкожной клетчатке.

Таким образом, использование данного метода лечения ряда заболеваний позволяет:

1) создать в патологическом очаге высокую концентрацию лекарства, осуществить тем самым локальное воздействие;

2) снизить частоту проявления побочных реакций от лекарственных препаратов (ЛП), по сравнению с введенными энтерально и парэнтерально;

3) вводить ЛП в ионной форме, в которой проявляются максимальная активность;

4) усилить эффект лекарственных веществ на фоне изменений тканей, вызванных гальваническим током [1, 2].

В физиотерапии процедура лекарственного электрофореза является наиболее востребованной и популярной, благодаря своей безопасности, простоте, а также лечебным эффектам, которые оказываются на организм:

- ✓ уменьшение и полное устранение болевого синдрома;
- ✓ снижение интенсивности воспалительного процесса;
- ✓ улучшение и ускорение микроциркуляции и регенерации;
- ✓ успокаивающее, расслабляющее действия;
- ✓ стимуляция выработки биологически активных веществ и активация защитных сил организма [3].

Лекарственные препараты подбираются по тем же принципам, что и в фармакотерапии, дозировки обычно не превышают их разовых доз для парентерального и перорального введения. В настоящее время для проведения лекарственного электрофореза используют небольшие концентрации лекарственных веществ, в основном до 5%. Применение более высоких концентраций нецелесообразно, так как в организм при помощи данной физиопроцедуры попадает от 5 до 10% введенного лекарственного вещества [4].

При выборе лекарственных препаратов для проведения физиотерапевтических процедур следует руководствоваться определенным перечнем препаратов, ввиду специфики воздействия физических факторов, таких как электрический ток, ультразвук на молекулу действующего вещества. Так, например, лекарственные вещества для проведения электрофореза при растворении должны хорошо диссоциировать на ионы, быть индиферентными при взаимодействии с электрическим током.

Также лекарственные препараты для проведения физиопроцедур должны быть максимально чистыми, свободными от примесей, поэтому не следует применять для электрофореза препараты в виде таблеток, или других лекарственных форм, содержащих заполняющие или связующие вещества, консерванты, окислители, которые также под воздействием физических факторов способны проникать через кожу. Поэтому их изготовление возможно исключительно в производственных аптеках [5].

Значительную долю экстемпоральных лекарственных форм, составляют растворы, не имеющие промышленных аналогов. Растворы для электрофореза являются основной группой изготовляемых жидких лекарственных форм в аптечных условиях. Одним из основных их преимуществ является отсутствие в составе консервантов и стабилизаторов, а следовательно фармакологическая чистота при взаимодействии с электрическим током.

Целью исследования явилось проведение структурного анализа рынка субстанций, используемых для экстемпорального изготовления растворов для электрофореза.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовали Государственный реестр лекарственных средств, нормативную документацию по аптечному изготовлению лекарственных препаратов. В ходе исследования использовались методы структурного анализа, документального исследования, контент-анализ.

Приказом МЗ СССР №223 от 12 августа 1991 г. утвержден «Сборник унифицированных лекарственных прописей». В разделе «Жидкости для наружного применения» указаны прописи лекарственных препаратов, используемых для проведения лекарственного электрофореза, с указанием наименования и подходящих концентраций для проведения процедуры [6].

Таблица 1 – Список растворов экстемпорального изготовления, рекомендованных для проведения электрофореза

№ п/п	Наименование раствора	Оптимальные концентрации для изготовления
1.	Раствор димедрола	0,5%; 1%
2.	Раствор папаверина гидрохлорида	0,1%
3.	Раствор кальция хлорида	1%; 2%; 3%; 10%; 50%
4.	Раствор кислоты аминокапроновой	5%
5.	Раствор кислоты аскорбиновой	5%
6.	Раствор новокаина	1%; 5%
7.	Раствор натрия бромида	3%; 5%
8.	Раствор натрия гидрокарбоната	1%; 2%; 5%
9.	Раствор натрия хлорида	0,9%
10.	Раствор кислоты никотиновой	0,5%; 1%
11.	Раствор магния сульфата	3%; 5%; 25%; 33%

№ п/п	Наименование раствора	Оптимальные концентрации для изготовления
12.	Раствор калия йодида	0,25%; 1%; 3%; 5%
13.	Раствор сульфацил-натрия	5%
14.	Раствор тримекаина	5%
15.	Раствор цинка сульфата	3%
16.	Раствор эуфиллина	0,5%; 1%

Согласно таблице 1 в аптечных условиях предлагается изготавливать 16 наименований лекарственных препаратов для электрофореза различных концентраций.

Нами был проведен анализ субстанций, подходящих для изготовления данных растворов. По состоянию на 1 февраля 2022 года на федеральном фармацевтическом рынке представлено 74 наименований фармацевтических субстанций по 16 МНН, которые относятся к 14 фармако-терапевтическим группам [7-9]. Результаты расчета количественных характеристик сегмента рынка изучаемой группы препаратов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Количественные характеристики сегмента рынка субстанций, используемых в физиотерапии

№ п/п	Фармако-терапевтическая группа	Наименование фармацевтической субстанции (ТН)	Химическое название (МНН)
1.	Блокатор гистаминовых Н1 – рецепторов	6	1
2.	Радиопротекторное, витаминное, отхаркивающее средство	9	1
3.	Регулятор кальциево-фосфорного обмена	3	1
4.	Гемостатическое средство	3	1
5.	Витамин	15	2
6.	Вазодилатирующее средство	5	1
7.	Седативное средство	2	1
8.	Антацидное средство	4	1
9.	Регулятор водно-солевого баланса	8	1
10.	Местноанестезирующее средство	6	2
11.	Спазмолитическое средство	4	1
12.	Противомикробное средство	1	1
13.	Антисептическое средство	3	1
14.	Бронходилатирующее средство	5	1
	итого	74	16

Согласно рисунку поставщиками субстанций, подходящих для изготовления растворов для электрофореза, являются 37 заводов-производителей из 12 стран. Основная доля субстанций производится в России (70,3%), среди зарубежных стран лидирует Китай (8,1%).

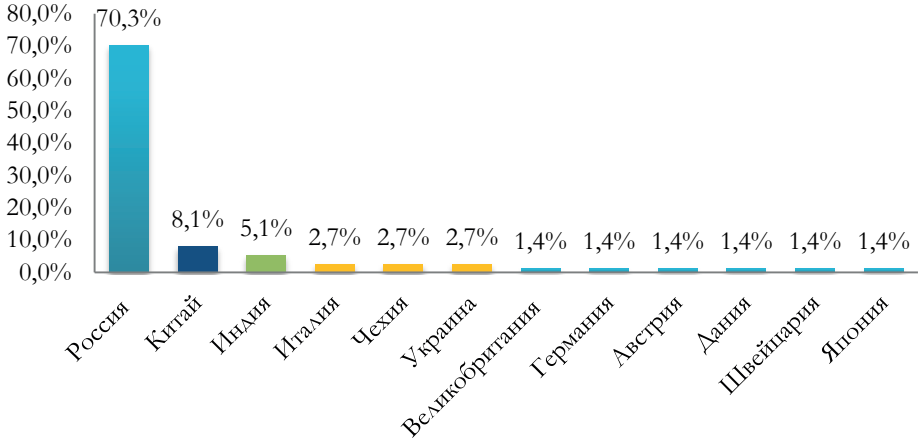


Рисунок. Сегментация стран-производителей субстанций для изготовления экстемпоральных растворов для физиотерапии, %

На территории Российской федерации находятся 26 фирм-производителей. Лидером по производству отечественных субстанций является Акционерное общество «Усолье-Сибирский Химико-фармацевтический завод», который поставляет на рынок 12 МНН субстанций из 16.

Аптекам предлагаются к закупу различные фасовки представленных субстанций от 0,1 кг до 1000 кг, сроком годности от 3 до 5 лет. Таким образом, аптечные организации могут выбрать поставщика в зависимости от ценовой доступности их предложений, удобной и экономически выгодной фасовки и упаковки.

Согласно установленной структуре ассортимента субстанций, применяемых для изготовления экстемпоральных растворов для электрофореза, на российском рынке зарегистрировано 16 МНН под 74 наименованиями фармацевтической субстанции. Среди стран производителей наибольший удельный вес имеет Россия (70,3%), среди зарубежных стран лидирует Китай (8,1%). Лидером по производству отечественных субстанций является Акционерное общество «Усолье-Сибирский Химико-фармацевтический завод».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.75.33 Медицинское и фармацевтическое образование
76.29.60 Курортология и физиотерапия

ЛИТЕРАТУРА

1. Улащик В.С. Сочетанная физиотерапия: общие сведения, взаимодействие физических факторов // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2016. N 93(6). С. 4-11. DOI 10.17116/kurort201664-11

2. Физиотерапия и курортология / под ред. В.М. Боголюбова. Книга II. М.: БИНОМ, 2008. 408 с.

3. Основы реабилитации: ПМ 02. Участие в лечебно-диагностическом и реабилитационном процессе / Т.Ю. Быковская [и др.]; под ред. Б.В. Кабарухина. Ростов н/Д: Феникс, 2015. 430 с.

4. Боголюбов В.М., Пономаренко Г.Н. Общая Физиотерапия: учебник для студентов мед.вузов. М.: Медицина, 2003. 430 с.

5. Анализ потребления экстемпоральной рецептуры на примере аптеки № 216 КП ВО «Воронежфармация» / М.В. Караваева [и др.] // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация, 2020. N 1 С. 59-66.

6. Об утверждении «Сборника унифицированных лекарственных прописей": приказ МЗ СССР от 12 августа 1991 г. n 223. [Электронный Ресурс]. URL: https://docs.cntd.ru/document/901860373

7. Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный Ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx. (дата обращения 01.02.2022).

8. Дрёмова Н.Б., Панкова Н.И., Афанасьева Т.Г. Оценка позиционирования фармацевтической продукции: теоретические основы и практическое применение: монография. Воронеж: Антарес, 2010. 175 с.

9. Шакирова Д.Х., Сафиуллин М.Р., Логинова Е.Ю. Структурный анализ ассортимента антибактериальных препаратов в Республике Татарстан // Вестник Росздравнадзора. 2016. N 5. С. 138-148.

SUMMARY

ANALYSIS OF THE ASSORTMENT OF SUBSTANCES FOR THE MANUFACTURE OF EXTEMPORAL SOLUTIONS FOR ELECTROPHORESIS

Shubina K.A., P.G. 1st year student (ORCID: 0000-0002-2397-0224)
Scientific supervisor: Shakirova D.H., Doctor of Pharmacy, professor (ORCID: 0000-0002-7840-1985)
Kazan (Volga Region) Federal University Institute of Fundamental Medicine and Biology,
76 Karl Marx Str., Kazan, 420012, Russian Federation
E-mail: shubinakristina.al@mail.ru

In physiotherapy the procedure of medicinal electrophoresis is the most demanded and popular, due to its safety, simplicity, as well as the therapeutic effects that appear on the body. As a result of the study, a list of pharmacy-made drugs suitable for drug electrophoresis was determined, and a structural analysis of substances used for the extemporal manufacture of solutions for electrophoresis was carried out.

Keywords: *structural analysis, extemporal manufacture, substances, medicinal electrophoresis, pharmacy, solutions.*

REFERENCES

1. Ulashchik V.S. Combined physiotherapy: general information, interaction of physical factors // Questions of balneology, physiotherapy and therapeutic physical culture. 2016. N 93(6). P. 4-11. DOI 10.17116/kurort201664-11. (in Russian)

2. Physiotherapy and balneology / ed. V.M. Bogolyubov. Book II. Moscow: BINOM, 2008. 408 p. (in Russian)

3. Fundamentals of rehabilitation: PM 02. Participation in the diagnostic and rehabilitation process / T. Y. Bykovskaya [et al.] ; edited by B. V. Kabarukhin. Rostov-na-Donu: Phoenix, 2015. 430 p. (in Russian)

4. Bogolyubov V.M., Ponomarenko G.N. General Physiotherapy: Textbook for medical students.universities/ V.MS. Bogolyubov, G.N. Ponomarenko. Moscow: Medicine, 2003. 430 p. (in Russian)

5. Analysis of the consumption of an extemporal formulation on the example of pharmacy No. 216 KP VO «Voronezhfarmatsiya» / M.V. Karavaeva [et al.] // Bulletin of VSU. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. 2020. N 1 P. 59-66 (in Russian)

6. Order of the Ministry of Health of the USSR of August 12, 1991 No. 223 on approval of the «Collection of unified medicinal prescriptions» [Internet] URL.: https://docs.cntd.ru/document/901860373 (in Russian)

7. State Register of Medicines. [Internet]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx (Accessed 01.02.2022). (in Russian)

8. Dremova N.B., Pankova N.I., Afanasyeva T.G.. Assessment of positioning of pharmaceutical products: theoretical foundations and practical application: monograph Voronezh: Antares, 2010. 175 p. (in Russian)

9. Shakirova D.H., Safiullin M.R., Loginova E.Y. Structural analysis of the range of antibacterial drugs in the Republic of Tatarstan // Bulletin of Roszdravnadzor. 2016. N 5. P. 138-148. (in Russian)

УДК 615.45

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ТВЁРДЫХ ДИСПЕРСИЙ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ

Якимов К.Д., студ. 4 курса (ORCID: 0000-0001-5591-2558),
Ногаева У.В., аспирант 2 года обучения (ORCID: 0000-0002-8214-7553)
Руководитель: **Флисюк Е.В.**, докт. фарм. наук, профессор (ORCID: 0000-0001-8077-2462)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: kirill.yakimov@spcpu.ru

Биофармацевтические исследования в современной технологии лекарственных форм (ЛФ) служат научной основой поиска, создания, исследования и изготовления высокоэффективных лекарственных препаратов (ЛП). Влияние вида ЛФ и технологического процесса на фармакологическую активность ЛП чрезвычайно велико. Правильный выбор рациональной ЛФ и технологии ее изготовления – необходимое условие получения качественного ЛП. В данной статье рассмотрены вопросы, касающиеся применения твердых дисперсий в фармации, как метода улучшения растворимости активной фармацевтической субстанции (АФС) и повышения её биодоступности. Представлены основные методы изготовления твердых дисперсий. Приведены примеры полимеров и веществ не полимерной природы, используемых в качестве носителей в твердых дисперсных системах (ТДС). Изучены работы авторов, посвященные созданию и исследованию твердых дисперсий различных фармацевтических субстанций.

Ключевые слова: *твердые дисперсии, растворимость, биодоступность, лекарственная форма, фармацевтическая субстанция, фармацевтическая технология.*

В условиях современной медицины и фармации большое значение при создании лекарственных препаратов уделяется таким фармакокинетическим параметрам, как биодоступность АФС и преодоление ею физиологических барьеров, концентрация действующего вещества в биологических жидкостях, метаболизм и скорость выведения [1].

При разработке и улучшении технологии лекарственных форм, одним из важнейших этапов является оценка биодоступности, которая в свою очередь зависит от физико-химических свойств действующего вещества.

Исследование биодоступности дает ответы на вопросы: какая часть дозы лекарственного вещества попала в системный кровоток, как быстро происходило всасывание, как долго и в какой концентрации лекарственное вещество находилось в организме [2].

Биодоступность напрямую связана с показателем растворимости фармацевтической субстанции, и эта связь имеет линейную зависимость: повышение растворимости малорастворимых в воде веществ способствует более полному высвобождению АФС из ЛФ, а также её более быстрому прохождению через биологические мембраны – всасыванию.

На сегодняшний день в мировой практике прослеживается тенденция применения твердых дисперсий в качестве метода увеличения растворимости веществ с низкой растворимостью, как правило, в водных средах.

Целью настоящего исследования является систематизация знаний и экспериментальных данных, посвящённых созданию твёрдых дисперсий, для дальнейшей разработки мягкой лекарственной формы с малорастворимым нестероидным противовоспалительным средством – мелоксикамом.

Задачи:

1. Исследование сущности и перспективности метода твёрдых дисперсий.
2. Характеристика вспомогательных веществ – носителей.
3. Описание технологии получения ТД.
4. Изучение примеров использования метода твёрдых дисперсий в фармацевтической практике.

1. Характеристика метода твёрдых дисперсий

Твердые дисперсии являются двух- или многокомпонентными системами, состоящими из лекарственного вещества и полимера-носителя, образованными из высоко диспергированной твердой фазы лекарственного вещества или твердого раствора лекарственного вещества в матрице носителя с частичным образованием комплексов переменного состава с материалом носителя [3].

Применение твёрдых дисперсий в фармацевтической практике перспективно с точки зрения:

• оптимизации высвобождения АФС из ЛФ;
• повышения биодоступности;

• создания препаратов пролонгированного действия;
• создания лекарственных форм с контролируемым высвобождением АФС;
• направленного транспорта АФС в орган-мишень;
• устранения нежелательных побочных явлений за счёт снижения дозировки действующего вещества [4].

Метод получения твердых дисперсий позволяет получить действующее вещество с модифицированными свойствами, что ведет к расширению технологических приемов и применению полученного лекарственного вещества в большем количестве лекарственных форм. Так как технологию изготовления лекарственной формы во многом определяют физико-химические характеристики лекарственного вещества, используемый метод позволяет использовать полученную твердую дисперсию в качестве эквивалента субстанции с улучшенными биофармацевтическими свойствами, что позволяет повысить качество присутствующих на рынке лекарственных форм, а также создавать качественно новые лекарственные формы для изучаемого вещества.

2. Вспомогательные вещества

Наиболее распространенными вспомогательными веществами (ВВ) при изготовлении ТД являются полимеры различной химической природы и их комбинации, также могут использоваться и вещества неполимерной структуры. В качестве примера можно привести следующие соединения: полиэтиленгликоль (ПЭГ), полиэтиленоксиды (ПЭО), хитозан, полиуретаны, циклодекстрины, поливинилпирролидон (ПВП), твин-80 и другие [5].

Полиэтиленгликоли (ПЭГ) – класс органических полимеров этиленгликоля Полиэтиленгликоль со структурной формулой HO−CH2−(CH2−O−CH2)n−CH2−OH, где n≈33-68 (в зависимости от молекулярной массы полимера). Тип полимера принято обозначать цифрами, например, ПЭГ 7, ПЭГ 400. Буква «М», заменяет тысячу, ПЭГ 8М = ПЭГ 8000.

Все ПЭГи имеют схожие химические свойства, но сильно различаются по физическим параметрам, которые зависят от длины молекулярной цепи. ПЭГ с массой до 400 г/моль – это бесцветная вязкая жидкость, тем более текучая, чем меньше ее молекулярная масса. Жидкость бесцветна, прозрачна или полупрозрачна, обладает характерным запахом, очень гигроскопична. ПЭГ с массой до 2000 г/моль – воскообразные чешуйки или порошок кремового цвета. Более высокомолекулярные соединения представляют собой плотную кристаллическую массу белого цвета [6].

Низкомолекулярные полиэтиленгликоли хорошо растворимы в воде; с ростом длины молекулярной цепи растворимость уменьшается. ПЭГи растворяются во многих органических растворителях, например, в бензоле, метиловом спирте, хлороформе, дихлорметане. Образуют комплексные соединения с солями металлов (щелочными и щелочноземельными), с хлоридом ртути, с некоторыми видами полимеров. Взаимодействие с галогенами, пероксидами, озоном, метало– и литийорганическими соединениями приводит к разрушению полиэтиленоксидов.

ПЭГи считаются безопасными для человека при приеме внутрь и при проникновении через кожу. Аллергические реакции, тошнота и диарея возможны только при значительном количестве потребленного внутрь вещества.

Полиэтиленоксиды (ПЭО) – синтетические термопластичные полимеры, получаемые полимеризацией этиленоксида с использованием анионных, катионных или координационно-анионных катализаторов. Общая формула: [–OCH2CH2–]n; относится к полиэфирам простым. Имеет широкий интервал молекулярных масс – до 107.

ПЭО растворим в воде и многих органических растворителях, нерастворим в гликолях, глицерине. Из водных растворов ПЭО выпадает в осадок при нагревании или при добавлении неорганических солей, образует с ними комплексы (например, с солями Hg^{2+}), а также с полимерами, содержащими в боковой цепи группы, способные к комплексообразованию [7].

Поливинилпирролидон (ПВП) представляет собой полимер N-винилпирролидона. ПВП получают полимеризацией мономера винилпирролидона. Аморфное вещество белого цвета, при нагревании до 140–160 °С размягчается. ПВП гигроскопичен, растворяется в воде (водные растворы стабильны при нагревании до 100 °С) и в большинстве органических растворителей, не растворяется в эфире и углеводородах; нетоксичен. ПВП склонен к образованию комплексов со многими соединениями, в т.ч. с витаминами, красителями, токсинами и лекарственными веществами, йодом. Сополимеры N-винилпирролидона, содержащие сульфо- и аммониевые группы, проявляют противовирусную и противомикробную активность [8].

Хитозан – частично или полностью деацетилированный хитин. Макромолекула хитозана представляет собой нерегулярный сополимер глюкозамина с N-ацетил-D-глюкозамином (обычно 5–30% звеньев). Образуется путём деацетилирования хитина (ферментативного или нагреванием с концентрированными растворами щелочей). Деацетилирование сопровождается разрывом гликозидных связей и уменьшением молекулярной массы продукта. Хитозан плохо растворим в воде, хорошо – в кислотах. Снижение его молекулярной массы за счёт гидролиза с помощью физических методов, химических реагентов или ферментов повышает растворимость в воде. Химические свойства обусловлены высоким содержанием аминогрупп, которые легко протонируются (вследствие чего хитозан проявляет свойства катионита). Образует ионные, гидрофобные и водородные связи, например, с белками и нуклеиновыми кислотами. Нетоксичен, биоразлагаем [9].

3. Методы получения твердых дисперсий

Для получения ТД используют разнообразные методы [4]:

1) метод удаления растворителя является наиболее простой технологией получения ТД. Растворяют АФС совместно с носителем, далее растворитель выпаривают при пониженном давлении. В качестве растворителей применяют хлороформ, дихлорметан, метанол, этанол, ацетон, метиленхлорид и другие. Роль растворителя – дезинтеграция и гомогенизация компонентов системы на молекулярном уровне, обеспечение более полного взаимодействия ЛВ и носителя.

2) метод сплавления основан на нагревании смеси ЛВ с носителем выше температуры плавления с последующим застыванием при быстром охлаждении.

3) метод совместного измельчения (механохимический способ) основан на совместном использовании энергии сжатия, сдвига и трения для перевода находящихся в твердом состоянии ЛВ и носителя в аморфное состояние. Исходные вещества подвергают смешению и измельчению с помощью специального оборудования: шаровой мельницы, планетарной мельницы, обработки под прессом. Это обеспечивает более высокое качество дисперсного распределения аморфного ЛВ в носителе;

4) метод «замешивания» является разновидностью метода совместного измельчения. Компоненты вносят в ступку совместно со спиртом этиловым, а затем смесь растирают до его полного удаления. При этом растворитель выполняет одновременно несколько функций: растворяет один из компонентов; проникает в микротрещины кристаллов другого компонента, оказывая расклинивающее действие и способствуя измельчению и взаимопроникновению одного вещества в поры другого;

5) метод с использованием агентов, стабилизирующих аморфное состояние ЛВ. Суть метода основана на смешивании следующих компонентов: умеренно растворимого ЛВ, агента, индуцирующего переход системы в аморфное состояние и агента, стабилизирующего ее аморфное переход состояние. Агентом, индуцирующим в аморфное состояние, может быть кристаллическое соединение, способное понизить температуру плавления смеси с ЛВ. Подобное соединение способно изменять энергию кристаллической решетки умеренно растворимого ЛВ в сторону ее уменьшения и усиления колебаний кристаллической решетки при той же температуре в присутствии источника тепловой или механической энергии. Примерами таких веществ могут выступать органические кислоты и их натриевые и калиевые соли, производные моче вины, креатинин, алюминия гидроксид, никотинамид, мальтол, маннит, меглумин, натрий дезоксихолат, фосфатидилхолин и др. Агентом, стабилизирующим аморфное состояние, выступает термостабильное соединение, содержащее функциональную группу, взаимодействующую с умеренно растворимым ЛВ. С этой целью применяют производные целлюлозы, поливинилпирролидон (ПВП), поливиниловый спирт (ПВС), поливинилацетат (ПВА), сополимер спирта винилового и винилацетата, сополимер этилена и винилацетата, производные полиэтиленоксидов (ПЭО), твины, полисахариды, циклодекстрины, производные альгиновой кислоты, акриловые полимеры, аэросил, алюминия гидроксид и прочие. Процесс завершается термической или механохимической обработкой полученной смеси.

4. Примеры использования метода твердых дисперсий в фармацевтической практике

Среди фармацевтических субстанций, вводимых в ЛФ в виде ТД, активно используются лекарственные вещества различных фармакотерапевтических групп [10 – 12].

А. Повышение биодоступности рутина. Метод изготовления ТД – удаление растворителя.

В работе проведено изучение способов изготовления твердых дисперсий с полимерами-носителями ПЭГ и ПВП. Технология приготовления твердых дисперсий обусловлена физико-химическими свойствами лекарственного вещества и полимеров-носителей. Фактическое наличие ТД подтверждались методами рентгенофазового анализа, ИК-спектроскопии, микрокристаллоскопией. Так как ПВП – термолабилен, а при измельчении ПВП и ПЭГ плавятся и изменяют свою консистенцию, образцы твердых дисперсий готовили методом удаления растворителя. Полученные твердые дисперсии планировалось вводить в состав таблеток, поэтому, во избежание получения твёрдой ЛФ большой массы и размера, на основании экспериментальных данных было рассчитано оптимальное соотношение лекарственное вещество:полимер – 1:2 (по массе). С учетом растворимости рутина и используемых полимеров, в качестве растворителя при изготовлении твердых дисперсий с ПЭГ и ПВП использовался этанол [13 – 14].

Методика получения ТД рутина с ПВП была следующей:

В коническую колбу вместимостью 250 мл помещали рутин и ПВП в соотношении 1:2 (по массе), растворяли их в этаноле при температуре 60-70°С при соотношении смеси и этанола 1:50 (по массе). Затем растворитель выпаривали под вакуумом на водяной бане при температуре не более 70±2°С и перемешивании до постоянной массы с помощью магнитной мешалки.

Методика получения ТД рутина с ПЭГ:

В коническую колбу вместимостью 250 мл помещали рутин и ПЭГ в соотношении 1:2 (по массе), растворяли их в этаноле при температуре 60-70°С при соотношении смеси и этанола 1:40 (по массе), затем растворитель выпаривали под вакуумом на водяной бане при температуре не более 70±2°С и перемешивании до постоянной массы с помощью магнитной мешалки.

Тест «Растворение»

Испытания проводили на приборе тип лопастная мешалка Copley scientific DIS 6000, Великобритания. В качестве сред растворения использовались следующие растворы: 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты (имитирующий кислотную среду желудка) и фосфатный буфер со значением pH 6,8 (имитирующий слабо-основную среду кишечника). Температура растворов равнялась 37 ± 0,5°С. Испытание в 2 разных средах обусловлено изучением влияния pH на стабильность и способность твердой дисперсии в составе таблетки к полному высвобождению.

Высвобождение рутина из твердых дисперсий на базе ПВП

Растворимость из твердых дисперсий увеличивается от 6 до 51,6 раза. Таким образом, концентрация в растворе твердая дисперсия Рутин:ПВП в соотношении 1:10 (0,3 г:3,0 г) на момент окончания эксперимента (60 минут) составляла $178{,}119\times10^{-2}$ г/л, в то время как у субстанции рутина концентрация составляла $3{,}447\times10^{-2}$ г/л, что в 51,6 раза меньше. Наименьшее увеличение растворимости на конец эксперимента наблюдалось у твердой дисперсии Рутин:ПВП в соотношении 1:2 (0,3 г:0,6 г) и составляла $23{,}38\times10^{-2}$ г/л, что все равно было в 6,8 раз больше, чем у субстанции в соответствующее время.

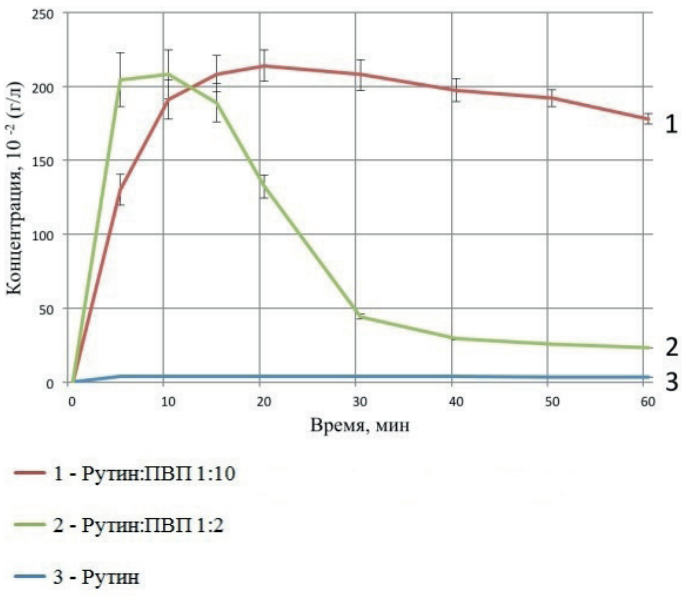


Рисунок 1. Изменение концентрации рутина в растворе из ТД с ПВП

Высвобождение рутина из твердых дисперсий на базе ПЭГ

Для проведения данного эксперимента были получены твердые дисперсии рутин:ПЭГ с соотношениями 1:2 и 1:5 (0,3г:0,6г и 0,3г:1,5г соответственно).

При анализе кривых растворимости вышеуказанных твердых дисперсий была обнаружена следующая закономерность: максимальная концентрация рутина в растворе достигалась после первых 5-10 минут после начала опыта со значениями 177,485 и 190,165×10^{-2} г/л (при соотношениях соответственно). Далее, в случае твердой дисперсии рутин:ПЭГ 1:2 наблюдалось резкое уменьшение концентрации лекарственного вещества в растворе до значения 46,006×10^{-2} г/л (20 минута), далее наблюдалось плавный выход концентрации на «плато» и к концу эксперимента она равнялась 6,563×10^{-2} г/л (60 минут). В растворе твердой дисперсии рутин:ПЭГ с соотношением 1:5 после 10 минуты концентрация стала уменьшаться не так резко, и к 30 минуте равнялась 51,514×10^{-2} г/л, после чего кривая также стала выходить на «плато» и к концу опыта (60 минут) соответствовала 16,435×10^{-2} г/л. Таким образом видно, что увеличение соотношения лекарственное вещество:полимер с 1:2 до 1:5 приводит к относительной стабилизации раствора и повышает конечную концентрацию рутина приблизительно в 2,5 раза.

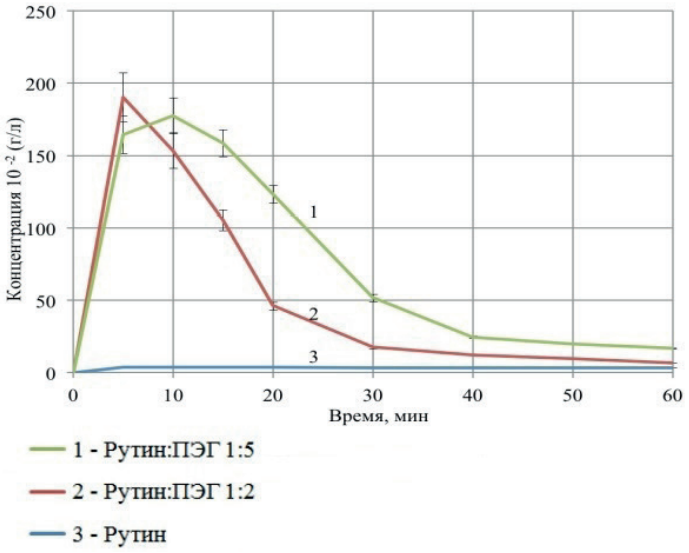


Рисунок 2. Изменение концентрации рутина в растворе из ТД с ПЭГ

На основе полученных результатов было установлено, что введение рутина в состав твердых дисперсий (рутин:ПВП и рутин:ПЭГ) влияет на растворимость и скорость растворения изучаемого лекарственного вещества в воде. Благодаря использованию данного метода увеличивается растворимость, скорость растворения и количество перешедшего в раствор рутина за определенный промежуток времени.

Б. Повышение биодоступности албендазола. Механохимический метод изготовления ТД.

Учитывая перспективность использования методов механохимической модификации трудно растворимых субстанций лекарственных веществ с помощью водорастворимых полимеров синтетического и природного происхождения,

были проведены исследования по улучшению показателей растворимости антигельминтной субстанции албендазола (АБЗ) путем совместной обработки АБЗ с полимерами хитозан и ПВП. При этом были получены твердые дисперсии составов АБЗ:хитозан = 1:9 и АБЗ:ПВП = 1:9, представляющие собой легко сыпучие порошки, которые образовывали стабильные суспензионные концентраты, удобные для применения на животных. Растворимость АБЗ в этих ТД была в 20 и 27 раз соответственно выше таковой исходной субстанции [15].

Субстанция АБЗ, обладая плохой растворимостью в воде, часто не обеспечивает необходимую эффективность. Для ее достижения приходится использовать завышенные дозировки препаратов, что сказывается на цене препарата и увеличивает его токсичность.

Целью работы было увеличить растворимость АБЗ путем получения его ТД методами механохимии и изучение антгельминтной активности препаратов на основе АБЗ и ряда полимеров.

Процесс получения межмолекулярных комплексов проводили при совместной обработке компонентов в измельчителях-активаторах ударно-истирающего типа с регулируемой энергонапряженностью. Полученные при этом межмолекулярные комплексы исследовали, в первую очередь, на растворимость в воде, а также методами РФА, термического анализа, ИК-спектроскопии и электронной микроскопии. Молекулярная динамика комплексов в растворе изучена с помощью ЯМР-спектроскопии. Стабильность ЛВ в комплексах контролировалась методом ВЭЖХ. Изменение антигельминтной активности изучалась *in vitro* и *in vivo* на лабораторных животных.

Методика (Активация в валковой шаровой мельнице ВМ-1)

В стальной барабан вместимостью 300 мл загружали 2 г. субстанции лекарственного вещества, 18 г. комплексообразователя (хитозан, ПВП) и 675 г. металлических шаров (диаметр шаров 15 мм). Барабан устанавливают на валках и проводят активацию смеси при вращении барабана с частотой 90 мин$^{-1}$ в течении 1-6 ч. Получают композиции состава ЛВ – комплексообразователь (1:10 по массе) в виде сыпучего порошка белого цвета. По совокупным данным по растворимости полученных композиций установлено оптимальное время механической обработки, которое составило 2 часа.

Результаты

Растворимость в воде полученных ТД проводили методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1100. Полученные результаты представлены в таблице.

Таблица – Растворимость ТД албендазола с полимерами

Название образца	Способ обработки	Растворимость	
		Абсолютная, мг/	Увеличение
АБЗ – исходная субстанция	Без обработки	0,76	-
АБЗ : хитозан = 1:9	Шаровая мельница LE-101, 4 часа	15,2	20
АБЗ : ПВП = 1:9	Шаровая мельница LE-101, 4 часа	20,8	27

Анализ данных растворимости препаратов в виде твердых дисперсий, полученных методом механохимической модификации субстанции албендазола полимерами, указывает на значительное увеличение растворимости в воде полученных ТД (почти в 30 раз по сравнению с исходной субстанцией). Что также повлекло за собой увеличение антигельминтной активности

В. Повышение биодоступности диклофенака. При изготовлении ТД использовался метод совместного плавления.

Выбор технологии изготовления ТД основан на физико-химических свойствах ЛВ и полимеров. Диклофенак и ПЭГ – термостабильны, ПВП – термолабилен, поэтому для приготовления ТД с данными веществами использовали как метод удаления растворителя, так и метод совместного плавления на водяной бане при температуре 100°С. С учетом вышесказанного, образцы ТД с ПЭГ готовили методами удаления растворителя и совместного плавления, а ТД с ПВП – методом удаления растворителя. Метод «совместного плавления» заключается в том, что рассчитанные количества ЛВ и ПЭГ сплавляли в термостате при температуре 100±2°С. Далее сплаву позволяли застыть при комнатной температуре.

По результатам исследований данной работы было установлено, что ТД во всех случаях повышают скорость растворения и растворимость диклофенака в сравнении с ЛВ-субстанцией [3].

Повышение растворимости определялось отношением концентрации насыщенного раствора при растворении ТД к концентрации насыщенного раствора, полученного при растворении субстанции ЛВ на момент времени 60 минут. Повышение скорости растворения определялось, как отношение изменения концентрации раствора при растворении ТД к изменению концентрации раствора, полученного при растворении субстанции ЛВ через одинаковые интервалы времени от начала растворения.

ТД с ПЭГ-1500 были получены методом выпаривания, плавления на водяной бане при температуре (100±2) °С и плавления в сушильном шкафу при температуре (120±2) °С. В течение эксперимента у ТД, полученных различными вышеуказанными методами, наблюдается плавное повышение концентрации. Спустя 60 минут концентрация в растворе ТД, полученная методом выпаривания, составляет 49,280×10-3 г/мл, что в среднем превышает в 3-4 раза концентрацию в методах плавления при температуре 100°С – 13,243×10-3 г/мл, при температуре 120°С – 17,808×10-3 г/мл (у субстанции – 6,200×10-3 г/мл). Исходя из полученных результатов, метод удаления растворителя (метод выпаривания) был отобран

для дальнейшего изготовления ТД в качестве оптимального. При этом метод плавления можно использовать при t до 120°С; свыше этой температуры ТД окрашивается в желтый цвет, что может свидетельствовать о потере эффективности ЛВ. Можно отметить, что различие в температурных режимах в методах плавления особого влияния на растворимость и скорость растворения не оказывает.

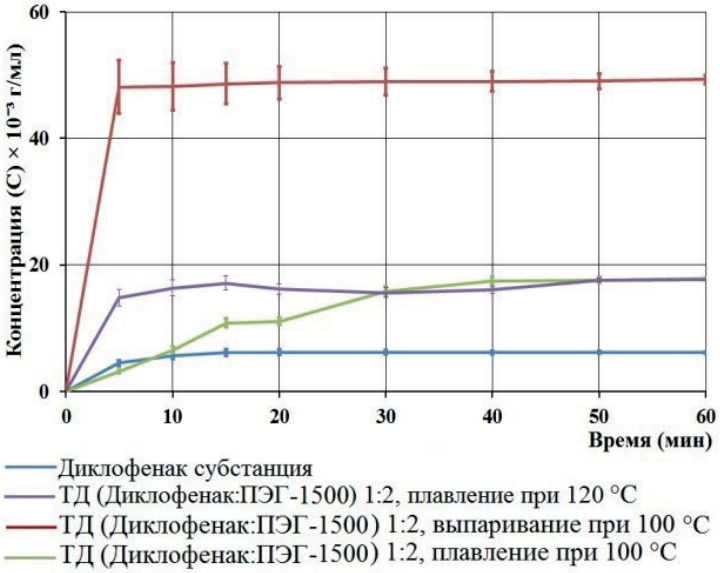


Рисунок 3. Изменение концентрации диклофенака в растворе

Заключение

Повышение растворимости лекарственных средств является одной из важнейших задач фармацевтической технологии, а включение действующих веществ в состав твёрдых дисперсий позволяет оптимизировать технологические свойства и улучшить биофармацевтические параметры лекарственного препарата. В ходе проведённого исследования рассмотрены основы метода твёрдых дисперсий и перспективы его применения в фармацевтической технологии. Благодаря обзору литературы дана характеристика основных вспомогательных веществ – носителей ТД, являющихся представителями разных классов соединений. Также дана сводная характеристика методов получения ТД и рассмотрены примеры использования ТД для модификации свойств нескольких АФС: рутин, албендазол, диклофенак. Результаты работы можно использовать на стадии разработки состава и технологии ЛП с применением ТД.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Nazli H., Mesut B., Özsoy Y. Çözünürlüğü düşük olan etken maddeler için farmasötik yaklaşımlar ve aprepitantın çözünürlüğü. Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences, 2021. 46(3), 325-344.

2. Компанцев Д.В. Вспомогательные вещества для улучшения биодоступности таблетированных лекарственных форм. Общество. 2019. 3(14). 54-57.

3. Краснюк (Мл.) И.И., Овсянникова Л.В., Степанова О.И., Беляцкая А.В., Краснюк И.И., Харитонов Ю.Я., Грих В.В., Кошелева Т.М., Король Л.А. Применение твердых дисперсий с нестероидными противовоспалительными средствами в фармации. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016;(2):40-44.

4. Силаева С.Ю., Беленова А.С., Сливкин А.И., Чупандина Е.Е., Нарышкин С.Р., Краснюк И., Краснюк И.И. Применение твёрдых дисперсных систем в фармации. Конденсированные среды и межфазные границы. 2020. №2. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/primenenie-tvyordyh-dispersnyh-sistem-v-farmatsii (дата обращения: 06.03.2022).

5. Краснюк И.И. Мл, Беляцкая А.В., Краснюк И.И. Влияние полимеров на физико-химические свойства бензонала в твердых дисперсиях. Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2021. Т. 62 (1). 44-48.

6. Краснюк И.И., Попков В.А., Решетняк В.Ю., Сковпень Ю.В. Повышение биодоступности малорастворимых лекарственных веществ с помощью твердых дисперсий с полиэтиленгликолем. Российский медицинский журнал. 2005. № 6. С. 34.

7. Геллер Н.М. Полиэтиленоксид // Большая российская энциклопедия. Электронная версия (2016); URL: https://bigenc.ru/chemistry/text/3155008 (дата обращения: 06.03.2022)

8. Панарин Е.Ф. Поливинилпирролидон // Большая российская энциклопедия. Электронная версия (2016); URL: https://bigenc.ru/chemistry/text/3152987 (дата обращения: 06.03.2022)

9. Варламов В.П. Хитозан // Большая российская энциклопедия. Электронная версия (2017); URL: https://bigenc.ru/chemistry/text/4666874 (дата обращения: 06.03.2022)

10. Kovalevska I., Ruban O., Kutova, O., Levachkova J. Optimization of the composition of solid dispersion of quercetin. Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences, 2021.34(1), 1-4. doi:10.2478/cipms-2021-0001

11. Zhang Q., Su C., Lu Z., Wang H., Feng Z., Dushkin A. V., Su W. Preparation, physicochemical and pharmacological study of 10-hydroxycamptothecin solid dispersion with complexation agent – xylan-nonanoic acid amphiphilic conjugates. International Journal of Biological Macromolecules. 2022. 204. 224-233. doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.01.104

12. Грих В.В., Краснюк (Мл.) И.И., Степанова О.И., Беляцкая А.В., Краснюк И.И., Тарасов В.В., Козин Д.А., Нестеренко Е. Разработка мягких лекарственных форм, содержащих твердые дисперсии. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018;(1):36-38.

13. Луценко С.В., Фельдман Н.Б., Краснюк И.И.(мл.), Харитонов Ю.Я., Краснюк И.И., Ковальский И.В., Никулина О.В. Изучение растворимости рутина из твердых дисперсий. Химико-фармацевтический журнал. 2013. 11. С. 42-45.

14. Краснюк И.И. (мл.), Луценко С.В., Фельдман Н.Б., Ковальский И.В., Харитонов Ю.Я., Никулина О.В. Повышение растворимости рутина с помощью метода твердых дисперсий. XX Российский национальный Конгресс «Человек и лекарство». Сборник материалов конгресса. тез. докладов – Россия, Москва. – 15-19 апреля 2013. – С. 355.

15. Халиков С.С., Орипов А.О., Исаев Ж.М., Улашев И.А. Свойства твердых дисперсий албендазола, полученных механохимическим модифицированием полимерами. Теория и практика обращения с паразитарными расходами. 2020. №21. С. 456-464. DOI 10.31016/978-5-9902341-5-4.2020.21.456-464.

SUMMARY

BIOPHARMACEUTICAL ASPECTS OF APPLICATION OF THE SOLID DISPERSION METHOD IN PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY.

Yakimov K.D., 4st year student, **Nogaeva U.V.**, 2st year postgraduate student
Scientific supervisor: **Flisyuk E.V.**, Doctor of Pharmacy, professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: kirill.yakimov@spcpu.ru

Biopharmaceutical research in the modern technology of dosage forms (DF) serves as a scientific basis for the search, creation, research and manufacture of highly effective drugs. The influence of the type of dosage form and the technological process on the pharmacological activity of the drug is extremely high. The right choice of a rational DF and its manufacturing technology is a necessary condition for obtaining a high-quality drug. This article discusses issues related to the use of solid dispersions in pharmacy as a method for improving the solubility of the active pharmaceutical substance and increasing its bioavailability. The main methods for the manufacture of solid dispersions are presented. Examples of polymers and non-polymer substances used as carriers in solid disperse systems are given. The works of the authors devoted to the creation and study of solid dispersions of various pharmaceutical substances have been studied.

Keywords: *solid dispersions, solubility, bioavailability, dosage form, pharmaceutical substance, pharmaceutical development.*

REFERENCES

1. Nazli H., Mesut B., Özsoy Y. Çözünürlüğü düşük olan etken maddeler için farmasötik yaklaşımlar ve aprepitantın çözünürlüğü. Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences, 2021. 46(3), 325-344.

2. Kompantsev D.V. Excipients to improve the bioavailability of tablet dosage forms. Society. 2019. 3(14). 54-57. (In Russ.)

3. Krasnuk (Junior) I.I., Ovsyannikova L.V., Stepanova O.I., Belyatskaya A.V., Krasnuk I.I., Kharitonov Yu.Y., Grikh V.V., Kosheleva T.M., Korol L.A. Application of solid dispersions with non steroidal anti inflammatory drugs in pharmacy. Drug development & registration. 2016;(2):40-44. (In Russ.)

4. Silaeva S.Yu., Belenova A.S., Slivkin A.I., Chupandina E.E., Naryshkin S.R., Krasnyuk I., Krasnyuk I.I. The use of solid dispersed systems in pharmacy. Condensed media and interphase boundaries. 2020. №2. (In Russ.)

5. Krasnyuk I.I. Jr., Belyatskaya A.V., Krasnyuk I.I. Effect of polymers on the physicochemical properties of benzonal in solid dispersions. Bulletin of Moscow University. Series 2: Chemistry. 2021. V. 62 (1). 44-48. (In Russ.)

6. Krasnyuk I. I., Popkov V. A., Reshetnyak V. Yu.. Increasing the bioavailability of poorly soluble drugs using solid dispersions with polyethylene glycol. Russian medical journal. 2005. N. 6. S. 34.

7. Geller N.M. Polyethylene oxide // Great Russian Encyclopedia. Electronic version (2016); URL: https://bigenc.ru/chemistry/text/3155008 (date of access: 03/06/2022)

8. Panarin E.F. Polyvinylpyrrolidone // Great Russian Encyclopedia. Electronic version (2016); URL: https://bigenc.ru/chemistry/text/3152987 (date of access: 03/06/2022)

9. Varlamov V.P. Chitosan // Great Russian Encyclopedia. Electronic version (2017); URL: https://bigenc.ru/chemistry/text/4666874 (date of a

10. Kovalevska I., Ruban O., Kutova, O., Levachkova J. Optimization of the composition of solid dispersion of quercetin. Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences, 2021.34(1), 1-4. doi:10.2478/cipms-2021-0001 (примеры веществ)

11. Zhang Q., Su C., Lu Z., Wang H., Feng Z., Dushkin A. V., Su W. Preparation, physicochemical and pharmacological study of 10-hydroxycamptothecin solid dispersion with complexation agent – xylan-nonanoic acid amphiphilic conjugates. International Journal of Biological Macromolecules. 2022. 204. 224-233. doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.01.104 (примеры веществ)

12. Grih V.V., Krasnyuk (jr.) I.I., Stepanova O.I., Belyatskaya A.V., Krasnyuk I.I., Tarasov V.V., Kozin D.A., Nesterenko E. Development of producing soft medicinal forms containing solid dispersion. Drug development & registration. 2018;(1):36-38. (In Russ.)

13. Lutsenko S.V., Feldman N.B., Krasnyuk I.I. (Jr.), Kharitonov Yu.Ya., Krasnyuk I.I., Kovalsky I.V., Nikulina O.V. Study of the solubility of rutin from solid dispersions. Chemical Pharmaceutical Journal. 2013. 11. S. 42-45.

14. Krasnyuk I.I. (Jr.), Lutsenko S.V., Feldman N.B., Kovalsky I.V., Kharitonov Yu.Ya., Nikulina O.V. Increasing the solubility of rutin using the solid dispersion method. XX Russian National Congress «Man and Medicine». Collection of congress materials. abstract reports – Russia, Moscow. – April 15-19, 2013. – P. 355.

15. Khalikov S.S., Oripov A.O., Isaev Zh.M., Ulashev I.A. Properties of albendazole solid dispersions obtained by mechanochemical modification with polymers. Theory and practice of dealing with parasitic costs. 2020. No. 21. pp. 456-464. DOI 10.31016/978-5-9902341-5-4.2020.21.456-464.

УДК 61:615.1

INFLUENCE OF SOLVENT, TEMPERATURE AND EXPOSURE TIME ON THE INCORPORATION OF IBUPROFEN INTO POLYVINYL ALCOHOL FILAMENT FOR 3D PRINTING

Kalaba M., Integrated academic studies in Pharmacy, 5th year, **Rančić M.**, Integrated academic studies in Pharmacy, 5th year, **Perin M.**, Integrated academic studies in Pharmacy, 5th year

Supervisors: **Čanji Panić J.**, MPharm, research assistant, **Todorović N.**, MPharm, teaching assistant, **Lalić-Popović M.**, PhD, associate professor

Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Serbia

E-mail: jelena.canji@mf.uns.ac.rs

Fused deposition modeling (FDM) 3D printing is a novel technology for the development of pharmaceutical dosage forms. There are two ways to incorporate active pharmaceutical ingredient into filaments for FDM 3D printing: hot-melt extrusion and soaking method. Our objective was to investigate the influence of temperature, exposure time and organic solvent on the incorporation of ibuprofen into PVA filament by soaking method. It was found that PVA filaments immersed in methanolic solution of ibuprofen had a statistically significantly higher drug loading. The choice of solvent, incubation length and temperature can affect the efficiency of ibuprofen incorporation into PVA filaments.

Keywords: *3D printing, fused deposition modeling, polymer, PVA, soaking method, printability.*

Introduction. Three-dimensional (3D) printing is a novel technique for making pharmaceutical dosage forms, which enables the production of personalized medicine, including the possibility of choosing the optimal doses, appearance, taste, dosage form and release profile. 3D printing via fused deposition modeling (FDM) technology enables the production of solid dosage forms and has a good price-performance ratio [1]. FDM 3D printers use polymer filament as a printing material in which an active pharmaceutical ingredient (API) has been previously incorporated. FDM 3D printers melt thermoplastic polymer and deposit it layer-by-layer using computer aided design [2]. PVA is widely used as polymer for 3D printing of pharmaceutical products because it dissolves well in water, it is not toxic and can be mixed with a wide range of APIs [3].

There are two ways of filling PVA filament with API that are most often used. One way is hot melt extrusion (HME) which represents mixing of drug and thermoplastic polymers at elevated temperatures. The second method is the method of soaking the polymer filament in a saturated solution of the API. The advantage of this method is that it is simple, it is suitable for hospital conditions as it does not require complicated equipment, it does not require high temperatures like HME, and commercially available filaments can be used with this method. It is suitable for incorporation of highly potent drugs into filament which do not require large amounts, because this method can incorporate only limited amounts of API into polymer filament. Factors that affect the efficiency of filling the filament with the drug substance in this method are the type of organic solvent, temperature and drug concentration [1].

Ibuprofen [(±) – ((R, S) -2-4 (4-isobutylphenyl) -propionic acid] is a chiral derivative of 2-arylpropionic acid. It is usually used in the form of free acid, but also as various salts, esters and other complexes are also used. It belongs to the group of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and is a potent non-selective inhibitor of cyclooxygenase. Absorption of ibuprofen is rapid after oral administration, the maximum plasma concentration is reached within 1-2 h after administration. According to the Biopharmaceutical Classification System (BSC), ibuprofen belongs to class II, which means that it has good permeability and low solubility [4].

The main aim of this paper was to investigate the influence of solvents (methanol, ethanol, acetone, isopropanol), temperature (25°C and 40°C) and exposure length (24 h, 48 h and 72 h) on the incorporation of ibuprofen into polyvinyl alcohol filament for 3D printing by soaking method. Additional aim was to examine the PVA filaments printability after soaking in methanol, ethanol, acetone and isopropanol.

Material and methods

Chemicals and devices

In this study, the pure substance ibuprofen (Farmalab, Italy) was used for the soaking method PVA filaments in the following solvents: methanol (Lach-Ner, Czech Republic); absolute ethanol (99%) (Zorka Pharm, Serbia); isopropanol (POCH, Poland); acetone (MeiLab, Serbia). In addition to these solvents, a pH of 6.8 (phosphate buffer, 0.1 M) was used. It was made using potassium dihydrogen phosphate (Lachner, then, p.a. Czech Republic) and sodium hydroxide (PanReac, p.a. Spain). Polyvinyl alcohol filament (Ultimaker, Ø 2.85 mm, Netherlands) was used. A drying oven (Memmert, Germany) was used to dry the filaments after soaking. An ultrasonic bath (Clifton, Great Britain) was used to improve the dissolution process. The absorbance of the solution was measured using a UV/Vis spectrophotometer (Agilent Technologies, model 8453, USA). An FDM 3D printer (Ultimaker S3, Netherlands) was used for 3D printing.

Filling of PVA filament with ibuprofen

Incorporation of ibuprofen into PVA filament was achieved using the soaking method. PVA filaments were cut to a length of ~ 3 cm. The cut filaments were soaked in the prepared saturated ibuprofen solutions in four selected organic solvents in stopper tubes, to reduce solvent evaporation. Four tubes were kept at room temperature (25°C) and four tubes at elevated temperature (40°C). A temperature of 40°C was achieved using a water bath. PVA filaments were removed from each of the solutions after 24h, 48h and 72h. Immediately after removal, the PVA filaments were washed with the same solvent in which the saturated ibuprofen solution was soaked, to remove ibuprofen adsorbed on the filament surface. The ends of the filaments were removed and the remaining filament was divided into three parts. These parts were placed in a drying oven at 40°C for 24 h. After drying, the mass of the obtained filaments was measured. Each of the filaments was then dissolved in phosphate buffer pH 6.8 in a volumetric flask 100 ml for 15 minutes in an ultrasonic bath without heating. After that, the absorbance of the obtained solutions was measured on a UV/Vis spectrophotometer and ibuprofen concentrations were determined. The masses of ibuprofen present in the filaments were calculated and the mass fraction of ibuprofen in the soaked filaments was calculated as follows:

$$ibuprofen\ \left(\%\frac{m}{m}\right) = \frac{m\ (ibuprofen)}{m\ (soaked\ filament)}\ X\ 100$$

Investigation of the influence of exposure length of PVA filament in selected solvents on diameter and tear resistance

Solvents (methanol, ethanol, acetone or isopropanol) were poured into four graduated cylinders and 12~18 cm long PVA filaments were soaked in each. Four filaments were removed after 24 h, 48 h and 72 h and they were then placed in a drying oven at 40°C for 24 h. One filament for each solvent at each test time interval was separated for the examination of printability. For the remaining 9 filaments (3 for each exposure time interval), the thickness of each solvent was measured with nonius, as well as the thickness of the PVA filament without soaking. Their tear resistance was also measured using the apparatus schematically shown in Figure 1. The position of the filament, which was fixed at both ends, is marked in yellow. A plate was hung in the middle of the filament, to which weights were added until the filament tears. The mass of added weights at the moment of filament tearing was recorded.

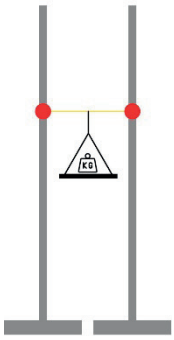


Figure 1. Schematic representation of the apparatus for measuring the tear resistance of PVA filaments

3D printing of soaked filaments

To examine the printability of filaments, filaments prepared as described in section 2.3. were used. Selected for testing were filaments that showed the best mechanical characteristics and the obtained content of ibuprofen was taken into account. Computer-designed forms were made using the FDM 3D printing technology, *Ultimaker S3* 3D printer, *print core* BB 0.4 mm. Simple 3D models of square shape (film), cylinder (tablet) and donut-like shape were designed for printing in 3D Builder software and saved in .stl format. Documents in .stl format were processed in *Ultimaker Cura 3.2.1* (Ultimaker, The Netherlands). Saved documents were transferred to a 3D printer using USB flash memory. The layer height was 0.15 mm. The films produced had an 80% infill density, and the other two forms had a 50% infill density. The infill pattern was line. The printing temperature was 215˚C, build plate temperature 60˚C and travel speed 150 mm/s.

Data processing

In the processing of results, descriptive statistics were performed: determination of the mean and standard deviations. The calculations were done using a software package *Microsoft Excel for Windows, 2016*. Statistical tests were performed using the SPSS®

program. Differences were considered significant for $p<0.05$. The results are expressed as mean ± standard deviation and are shown in tabular or graphical form.

Results

Incorporation of ibuprofen by soaking method

Figures 2 and 3 show the dependence of ibuprofen content in soaked filaments on the length of soaking filaments in saturated solution at 25 ˚C and at 40˚C. At 25 ˚C, a statistically significant difference was observed between the content of ibuprofen in the filament soaked in methanol solution compared to all other solvents, after all three soaking time intervals. Also, after 24 h there is a statistically significant difference in the proportion of ibuprofen in the filament immersed in ethanol solution compared to the filament immersed in acetone and isopropanol. At 40˚C there is also a statistically significant difference in the proportion of ibuprofen in the filament immersed in methanol solution compared to all of three other solvents, after all of three soaking time intervals. After 48 h of soaking at 40 ° C, a statistically significant difference in the proportion of ibuprofen in the filament soaked in ethanol solution compared to the filament soaked in acetone and isopropanol was observed. After 72 h of soaking, a statistically significant difference in the proportion of ibuprofen in the filament soaked in ethanol solution compared to the filament soaked in isopropanol was observed. Statistically significant difference between the content of ibuprofen in PVA filaments soaked in acetone in relation to isopropanol was observed only after 24 h of incubation at 40˚C.

We notice that in all solvents there was an increase in the content of ibuprofen in PVA filament at elevated temperature of 40˚C and after 24h and 48h and 72h soaking compared to the content of ibuprofen obtained at 25 ˚C for the same time intervals. The greatest effect of temperature on the content of ibuprofen in PVA filament for all solvents is observed after 72 h of soaking the filament, except for ethanol, where the greatest effect of temperature is observed after 48 h of immersion. In all three examined time intervals, the greatest influence of temperature on the incorporated ibuprofen is observed in acetone (even about 20.03 times higher at 40˚C compared to 25˚C after 72 h of incubation).

At 25˚C in methanol after an increase in the proportion of ibuprofen in the filament at 48h (24.43%) compared to 24 h (13.31%), there is a decrease in the proportion after 72h of soaking (17.68%). The largest share in acetone is observed after 24 h of soaking (1.29%), as well as in isopropanol (1.26%), which then after 48 h decrease to 0.62% for acetone and 0.36% for isopropanol and remain the same after 72 h. In ethanol, the highest content of ibuprofen in the filament is recorded after 72 h of immersion (3%). At 40˚C, an increase in ibuprofen content in filaments immersed in all four solvents is observed. Maximum ibuprofen content is reached after 72 h, 54.42% in methanol, 18.34% in ethanol, 12.42% in acetone and 5.58% in isopropanol.

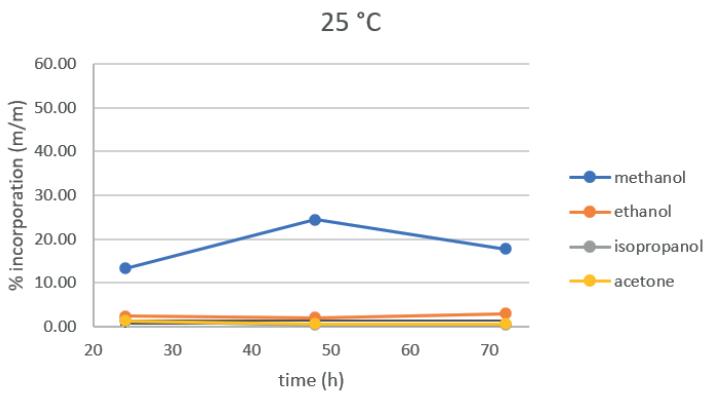


Figure 2. Dependence of ibuprofen content in soaked filaments on the length of filament soaking in saturated ibuprofen solution at room temperature (25°C)

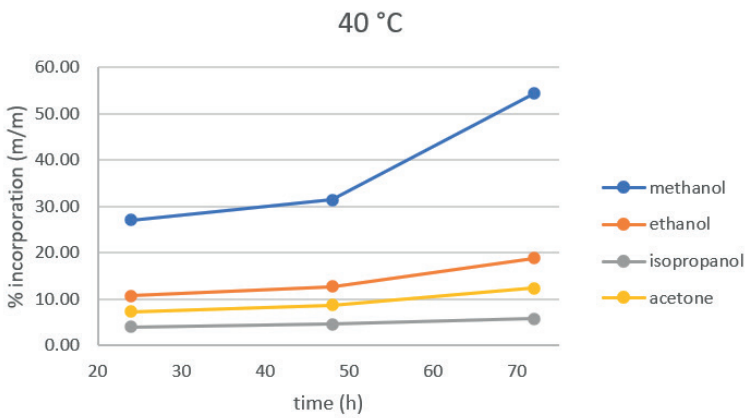


Figure 3. Dependence of ibuprofen content in soaked filaments on the length of filament soaking in saturated ibuprofen solution at elevated temperature (40°C)

Diameter, description of mechanical characteristics and resistance to tearing of filaments after immersion in pure solvents

Table below shows resalts of measuring the diameter of the filaments before and after soaking in solvents. There is an increase in the diameter of the filaments after soaking in acetone after 48h and 72h, in ethanol after all three time intervals, and the highest increase was observed in methanol after all three time intervals.

Table – Results of measurements of filament diameter before and after immersion in solvent, their mean value and standard deviation

Solvent	Immersion time	Mean value ± standard deviation [mm]
Before immersion	0h	2.76 ± 0.01
Acetone	24h	2.76 ± 0.03
	48h	2.81 ± 0.02
	72h	2.82 ± 0.02
Isopropanol	24h	2.74 ± 0.03
	48h	2.75 ± 0.02
	72h	2.72 ± 0.00
Ethanol	24h	2.82 ± 0.02
	48h	2.84 ± 0.02
	72h	2.83 ± 0.02
Methanol	24h	2.89 ± 0.01
	48h	2.96 ± 0.03
	72h	2.89 ± 0.04

The flexibility of filaments after soaking increases in the series isopropanol> acetone> ethanol> methanol. The greatest influence of the soaking time interval on the flexibility of the filaments is observed with ethanol, the longer the soaking, the filament was more flexible. Methanol has the greatest influence on the mechanical characteristics of filaments – after 24 h of soaking, the filament was very soft, stretchy and flexible. The filaments cracked longitudinally after 48 h and 72 h of soaking in methanol (Figure 4).

Figure 4. PVA filament immersed in methanol

The highest resistance to tearing was observed in filaments previously soaked in acetone (>7 kg after all three time intervals). The most similar resistance to tearing to filaments before soaking was shown by filaments soaked in isopropanol for 24 h.

Printability

Filaments selected for the printability test were those after 24 h of soaking in each of the 4 solvents. The best printability and the most similar to the filaments not soaked in solvent was shown by filament soaked in isopropanol. Slightly worse printability was shown by the filament soaking in acetone – there was a leak of filament from the nozzle, but all the forms obtained were acceptable. The filament soaking in ethanol leaked even more from the 3D printer nozzle, and the resulting shapes were visually inferior to those obtained from filaments soaked in acetone and isopropanol. The filament soaked in methanol showed the worst printability – the shape of the film was not adequately printed (Figure 5, third from the left) and there were difficulties during the printing process (the printer made the mistake of not being able to detect the presence of filament).

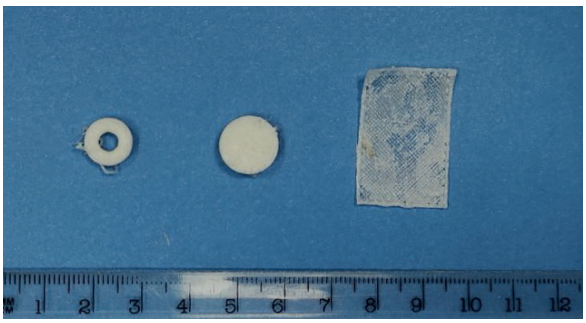


Figure 5. 3D printed forms obtained from PVA filament immersed in methanol

Discussion

The main aim of this study was to determine the effect of solvent, temperature and length of exposure on the incorporation of ibuprofen into polyvinyl alcohol filament by the soaking method. Ibuprofen is considered a non-polar compound due to the presence of a larger hydrophobic part of the molecule in the form of an aromatic ring and a hydrocarbon tail and a small hydrophilic part with a carboxyl group. It is easily soluble in organic solvents, such as acetone and slightly soluble in water [5]. It has been shown that the choice of solvent plays a major role in the incorporation of the API into the filament for 3D printing by soaking [1,2]. The content of ibuprofen in PVA filament at both 25˚C and 40˚C and after all three examined time intervals, depending on the solvent used, decreased in the following order: methanol> ethanol> acetone> isopropanol (Figures 2 and 3). This result can be compared with the result of a study in which soaking method in the same solvents with curcumin as a model substance, which is also a non-polar substance, was performed. In that study, incubation of PVA filaments at 25°C and 80°C in curcumin solutions suggest the same order of solvents in terms of the incorporated API in the filaments after soaking. This result is explained by the specific property of the organic solvent that adsorption causes swelling of the PVA filament [1]. Since we have shown that the mean values of the diameters of PVA filaments immersed in pure solvents decrease in the same series of methanol> ethanol> acetone> isopropanol after each of the three soaking time intervals, this result is consistent with the study. In addition, another study in which the filament soaking method was performed in methanol and ethanol suggests that solvent molecules be inserted between polymer chains, weakening the polymer-polymer interaction, increasing the movement of polymer chains and thus reducing filament strength [2]. Since PVA filament is soluble in water as a polar solvent, it is possible that methanol as the most polar solvent tested has the greatest effect on the polymer structure and thus leads to the strongest swelling and best incorporation of ibuprofen. This is in favor of the fact that the softness of the filaments was greatest after soaking in methanol. After methanol, the biggest influence on the incorporation of ibuprofen into the PVA filament has ethanol, the next in a series of solvents by polarity.

The influence of temperature on the increase of the content of incorporated ibuprofen for all tested solvents is also evident, incorporation of ibuprofen is higher when temperature of incubation is elevated. This is possibly due to the fact that the solubility of ibuprofen increases with higher temperature and therefor it is expected that higher concentration of API leads to higher incorporation into the filament [1].

The length of exposure of the filament to ibuprofen solutions at 40˚C leads to a constant increase in the incorporation of ibuprofen into the PVA filament (Figure 3). At 25°C, this dependence of the ibuprofen content in the filament (Figure 2) on the length of exposure was not observed. In the solution of methanol there is a decrease in the share at 72h compared to 48h, in the solutions of acetone and isopropanol the decrease in the share is observed at 48h compared to 24h. Only in ethanol there is an increase in the share of ibuprofen after 72 h compared to the share after 48 h of soaking. This decrease in the share of ibuprofen in the filaments is due to the passive diffusion of ibuprofen back from the filament into the solution. Since in methanol and ethanol the length of exposure of filaments to solvents has an impact on the mechanical properties of submerged filaments (increasing their flexibility) which affects the printability, it is important to determine the optimal length of immersion of filaments.

It has been shown that the composition of filament affects its mechanical characteristics, and thus its printability [6]. Crisan et al based on the successful printing process, they conclude that the filament suitable for 3D printing must have adequate rigidity. This feature is considered to be very important, because during the 3D printing process, the filament acts as a piston that pushes the molten polymer mass through the heated printer nozzle. The filament must also be sufficiently stretchable to resist bending forces during the filament delivery process from the 3D printer feeder to the nozzle [3].

In this study, we examined the tear resistance of filaments soaked in pure solvents 24h, 48h, and 72h at room temperature. The test with which it could be compared is Eng. 3-point-bending test, which examined the fragility in an already published study. While according to our apparatus, the mass at one point pulls the middle of the fixed filament downwards, in their mass it pushes the middle of the filament at one point downwards. However, the authors argue that based on this test, the printability of soaking filaments cannot be well predicted [6]. The results of the tear resistance test obtained in our research could not be related to the printability of filaments, because filaments with the highest tear resistance (soaked in acetone) showed almost the same printability as filaments with the lowest tear resistance (soaked in isopropanol). By visual examination of the filaments, we came to the conclusion that the flexibility of the filament had the greatest effect on printability – the most flexible filament (methanol) showed the worst printability, followed by the filament soaking in ethanol. The best printability was observed in the filament soaked in isopropanol, which proved to be the least flexible, and a slightly worse printability was observed in the filament soaked

in acetone. However, excessive brittleness of the filament can lead to cracking in the feeder of the 3D printer, and it is necessary to achieve adequate mechanical characteristics for optimal printing results.

It has been shown that the quality of 3D printed products is influenced by the parameters of the 3D printing process itself, such as printing temperatures, flow (a parameter that determines the amount of extruded filament), printing speed and others [3]. The disadvantage of this study is that the parameters of the 3D printing process were not varied, and their influence on the printability of the obtained PVA filaments have not been examined.

Conclusion

In this study it was shown that the efficiency of the soaking method, which is applied in order to incorporate API into filaments for 3D printing, is influenced by the choice of solvent and incubation temperature, as well as the length of exposure of filaments to solutions of API. Since the ibuprofen solubility is in all solvents higher at elevated temperature (40°C), the concentration of saturated solution is higher, and the share of incorporated ibuprofen in PVA filament is higher. The effect of incubation time on increasing the incorporation of ibuprofen into PVA filament was observed in all solutions at 40°C, while at 25°C longer incubation can lead to a decrease in the percentage of ibuprofen in the filament. The best incorporation of ibuprofen into PVA filament is observed after incubation in methanol solutions, where the average value of the obtained proportions after 72 h of incubation at 40°C is as high as 54.42%. However, although the share of ibuprofen in the filament is high after soaking in methanol solution, the possibility of 3D printing of these filaments should also be considered. PVA filaments soaked in pure methanol for 24 h gave significantly worse printing results than filaments soaked in isopropanol and acetone. It has been noticed that soaking in methanol, and then in ethanol, changes the mechanical characteristics of filaments the most. Since the tensile strength test did not allow adequate prediction of filament printability, other tests should be used in the continuation of research for mechanical characterization of soaked filaments, which give a better prediction of filament printability. Also, the influence of the parameters of the 3D printing process, such as temperature and printing speed, filament flow and others, should be examined.

This work has been supported by Ministry of Science and Technology Development of Serbia (grant No. 451-03-68/2022-14/200114).

THEMATIC HEADINGS

09/76/41 Polymeric materials for medical purposes and products made from them

76.31.35 Pharmaceutics

REFERENCES

1. Drug incorporation into polymer filament using simple soaking method for tablet preparation using fused deposition modeling / T. Tagami [et al.] // Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2019. Vol. 42(10). P. 1753-60. DOI: 10.1248/bpb.b19-00482

2. Chew S.L., de Mohac L. M., Raimi-Abraham B. T. 3D-printed solid dispersion drug products // Pharmaceutics. 2019. Vol. 11(12). P. 672. DOI: 10.3390/pharmaceutics11120672

3. Polyvinyl alcohol-based 3D printed tablets: novel insight into the influence of polymer particle size on filament preparation and drug release performance / A.G. Crisan [et al.] // Pharmaceuticals. 2021. Vol. 14(5). P. 418. DOI: 10.3390/ph14050418

4. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Ibuprofen / H.Potthast [et al.] // Journal of Pharmaceutical Sciences. 2005. Vol. 94(10). P. 2121-31. DOI: 10.1002/jps.20444

5. Microsolvated complexes of ibuprofen as revealed by high-resolution rotational spectroscopy / P. Pinacho [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. 2018. Vol. 20(23). P. 15635-40. DOI: 10.1039/C8CP01088A

6. Development of a quantitative method to evaluate the printability of filaments for fused deposition modeling 3D printing / P. Xu [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. 2020. Vol. 588. P. 119760. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119760

УДК 615.453.6

THE MAIN CRITERIA FOR CHOOSING THE COMPOSITION AND TECHNOLOGY OF TABLETS ANTIFUNGAL ACTION

Sherova A.B., applicant
Supervisor: **Yunusova Kh.M.,** doctor. pharm. sciences, professor
Ilkhamova N.B., doctor. pharm. sciences
Tashkent Pharmaceutical Institute,
100015, Tashkent, Aybek str., 45, Republic of Uzbekistan
E-mail: samina1809@mail.ru

The data of the study of the technological properties of the recommended antifungal tablets are presented. As a result of the obtained indicators, diagnostic data were collected for the next stage of research and a set of auxiliary substances was selected that could be used in the selection of the composition.

Keywords: *fluconazole, fractional composition, bulk density, flowability, angle of natural slope, porosity, compaction and compressibility coefficient, residual moisture.*

In the creation of drug types, of course, the study of the physico-chemical properties of the first Raw Materials has an important role. They, in turn, affect the technological process of taking the drug and the choice of composition. Tabletka depends on the parameters of the technological process in the creation of the type of drug, as well as the properties of the finished product, the physico-chemical and technological properties of the starting materials as a whole. The mass of these types of drugs has certain technological properties, the correct designation of which gives an opportunity to achieve the desired quality indicators of the finished product [1, 3, 6].

Proceeding from the above, the technological properties of the substance in the creation of these types of drugs were studied such properties as fractional composition, scattering density, scattering, natural deviation angle, density coefficient, residual moisture and wet absorption of the substance [2, 4, 5].

The purpose of this study is to study the main technological criteria for the composition and technology of antifungal tablets.

Materials and methods of research. The object of the study is fluconazole. Fluconazole white or white crystalline, odorless powder. Easily soluble in chloroform, partially soluble in ether, less soluble in 95% alcohol, insoluble in water. Fluconazole is an anti-fungal drug, which has a high specific effect mexanizm, inhibiting the activity of fungi based on cytochrome R450. Lanosterol in erosterol blocks the activity of fungi, increases the aggregation of the cell membrane, disrupts its growth and reproduction. Fluconazole does not have antiandrogen activity, but is very active in various Mycoses based on Candida.

Absorption is very high; food products do not affect the rate of absorption. Biosamaradores 90%, plasma protein content 11-12%. Concentration in the blood according to the prescribed dose. It binds well to the body through the liquid. When taking inside, the concentration in the skin layer of 150mg/7kun-23,4 mcg /g, in the second dose after a week-7,1 mcg/g; when the concentration through the nails is from 150 mg /g per week in the 4-Month reception, on healthy nails-4,05 mcg/g, on infected nails-1,8 mcg / g.

The output from the body is through the mail in the form of 80% metabolites, with 11% unchanged. For 3 hours after hemodialysis, the concentration of fluconazole in plasma decreases by 50%. Mainly systemic injuries occur through the Cryptococcus fungus, and are widely used in the profiling of miningitis, respiratory and skin infections, SPID-infected cryptocurrency infection.

The liquid temperature is from 117 to 121°C (the drug is partially dried at a temperature of 80°C for two hours before use).

The structural and mechanical properties of the substances under study were studied using a LEITZ optical microscope from Biomed with an increase of 330 times.

Results and their discussion. Most of the ibuprofen substance corresponds to a fraction of -2000 +1000 microns -28.11%, and the average mass size is equal to 660.36 microns obtained by microscopic examination of the substance. Most of the substance of paracetamol – 25.59% falls on the fraction -1000 +500 microns, the average mass size is 449.98. Most of the substance of ascorbic acid – 31.32% falls on the fraction -2000+1000 microns, the average mass size is 671.10. Most of the substance of fluconazole – 29.84% falls on the fraction -2000+1000 microns, the average mass size is 481.35.

Bulk density, flowability, natural slope angle, porosity, compaction and compressibility coefficient, compressibility and residual humidity were studied as technological indicators. The determination of these parameters was carried out according to the methods of GF XI and the corresponding NTD.

The results of the studies are presented in Table 1.

Table 1 – Technological properties of the substance fluconazole results of the study

Indicators studied	Unit of measurement	Obtained indicators
Appearance	With an unarmed eye	White or light cream color crystal, odorless powder
Granular form		Amorphous
Fractional composition: +2000 -2000 +1000 -1000 +500 -500 +250 -250	mkm, %	 0,14 15,55 21,19 29,67 33,45
Crumbiness	10^{-3} kg/s	0,711
Natural deviation angle	degree	63,1
Scattering density	kg/m^3	215,54
Density coefficient		7,1
Residual moisture	%	6,48
Worsted	%	78,35

According to the data obtained, the studied substances are characterized by unsatisfactory values of flowability (from 0.802 to 0.911 * 10-3 kg/s), bulk density (from 254.66 to 298.44 kg/m3), angle of natural slope (from 53.2 to 61.8 degrees), not increased residual moisture (from 3.11 to 3.42%) and porosity (from 41.48 to 53.96%).

As a result of numerous studies of the substances of fluconazole including organoleptic, structural-mechanical and technological properties, it was found that in order to obtain tablet dosage forms, it is necessary to use a whole complex of excipients (fillers, binding, antifriction, etc.), as well as the method of wet granulation.

Also, the results of the study showed that fluconazole powder is characterized by negative scattering, with positive indicators of pressability and condensation. These indicators, in turn, indicate the need for the use of auxiliary substances in the creation of drug forms from fluconazole.

Thus, the results of the study of the physical and technological properties of the substance fluconazole tabletka are the first works on the creation of medicinal preparations, which are used in the creation of their composition and technology.

The next stage of our research was the study of auxiliary substances with the necessary structural, mechanical and technological characteristics, improving the technological properties of active substances. Studies have shown that in the use of excipients such as lactose M-80, lactose M-200, microcrystalline cell and potato starch, higher-quality tablets were obtained.

Therefore, Table 2 shows the results of studying the technological properties of these excipients.

Table 2 – Results of the study of technological properties of excipients

Name of the substance	Particle shape	Particle size, microns	Flowability, g/s	Compressibility, N
lactose M-80	Prismatic	10-199	7,9±0,17	43,2±4,3
lactose M-200	Prismatic	10-98	8,0±0,21	49,5±2,7
microcrystalline cell	Fibers and conglomerates of them	100-253	5,1±0,09	179,1±2,0
potato starch	Polyhedra with smoothed corners	10-49	2,7±0,11	119,9±2,1

Study of technological properties of tablet masses of tablets. At this stage of the study, we studied the following technological parameters of the mixture: fractional composition, bulk density, flowability, porosity, angle of natural slope, compaction coefficient, compressibility coefficient, compressibility and residual humidity.

The determination of the above parameters was carried out according to the methods of GF XIII and the corresponding NTD.

The research results showed the following: such technological indicators as bulk density within (298kg/m3), flowability (5.9•10-3 kg/s), angle of natural slope (55 degrees), compressibility coefficient (1.25), compactness (5.4), etc. had slightly positive values for the mixture than the substance separately. However, these indicators predict that tablets without the addition of excipients and technology cannot be obtained.

The results of the study showed the choice of excipients to obtain a high-quality finished product.

The results of studying the technological properties of the mixture are shown in Table 3.

The obtained data from the study of technological properties showed that the substance of fluconazole is polydisperse crystalline powders with particles of anisodiametric shape. It was found that all the studied substances are highly fluid materials and have different compressibility, i.e. they practically cannot be used in direct pressing technology.

Based on the above, for the development of tablets, we tested formulations with various compositions of excipients and their ratios. The main requirements for this group of excipients are: storage stability, good compressibility, the ability to quickly and completely release the active substance and form strong tablets. The results of the analyses obtained by studying the technological parameters of the ingredients showed the need for the addition of auxiliary substances that improve some technological indicators.

Various auxiliary substances recommended by GF XI were used both individually and in combinations: glucose, lactose, sucrose, potato starch, corn starch, microcrystalline cellulose, carboxymethylcellulose, calcium carbonate, magnesium stearate, calcium stearate, stearic acid.

Table 3 – Results of the study of technological properties of the pressing mass of the tablets «Flukozol»

Indicators studied	Unit of measurement	Obtained indicators
Appearance	With an unarmed eye	Granules of the same white or light cream color, odorless
Fractional composition: +2000 -2000+1000 -1000+500 -500+250 -250	mkm, %	 9,14 29,45 36,29 19,41 5,71
Crumbiness	10^{-3} kg/s	6,3
Natural deviation angle	degree	35
Scattering density	kg/m^3	597
Pressability	N	38
Pressing coefficient		1,21
Density coefficient		2,6
Residual moisture	%	3,1

Conclusion. According to the data obtained during the study of structural-mechanical, technological parameters of the substance of fluconazole, that they have not increased hygroscopicity, not high dispersion, unsatisfactory technological indicators of flowability, bulk density of porosity, angle of natural slope.

REFERENCES

1. Jaloliddinova M.Sh., Yunusova Kh.M. The study of physico-chemical and technological properties of substances of tablets «Orthof-S» // XX International scientific and practical conference «Modern medicine: new approaches and current research». Moscow. 2019. P. 39-43. (in Russian)

2. Shodieva N.B., Yunusova Kh.M. Study influencing factors in quality for recommended tablets «Piracetam» // British journal of educational and scientific studies. 2016. Vol. 1(23). P.845-850

3. Shodieva N.B., Yunusova Kh.M. Improvement of the composition and technology of Piracetam-SM tablets // IV International correspondence scientific and practical conference «Scientific discussion: innovations in technical, natural, mathematical and humanitarian sciences».Moscow. 2012. P. 120-125. (in Russian)

4. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288. DOI:10.20959/wjpps20191-12943

5. Jaloliddinova M. Sh., Yunusova Kh. M. Studied physico-chemical and technological all substances of bisoprolol fumarate // Materials of the intercity scientific and practical conference "Liki-lyudini». The problems of pharmacotherapy are a recognized medical aid. 2021. P. 346-347 (in Russian)

6. Abdijalilova Z.Kh., Yunusova Kh.M., Ilkhamova N.B. Pre-clinical study of expectorant properties of «Ambrol» tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(04). P. 2349-2354. DOI: 10.37200/IJPR/V24I4/PR201345

ОСНОВНЫЕ КРИТЕРИИ ВЫБОРА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ТАБЛЕТОК ПРОТИВОГРИБКОГО ДЕЙСТВИЯ

Шерова А.Б., соискатель
Руководитель: **Юнусова Х.М.,** докт. фарм. наук, проф.
Илхамова Н.Б., докт. фарм. наук.
Ташкентский фармацевтический институт,
100015, Ташкент, ул. Айбека, д.45, Республика Узбекистан
E-mail: samina1809@mail.ru

Приведен данные исследования технологических свойств рекомендуемых таблеток противогрибкового действия. В результате полученных показателей были собраны диагностические данные для следующего этапа исследований и подобран набор вспомогательных веществ, которые можно было использовать при подборе состава.

Ключевые слова: *флуконазол, фракционный состав, насыпная плотность, сыпучесть, угол естественного откоса, пористость, коэффициент уплотняемости и прессуемости, остаточная влажность.*

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.39. Готовые лекарственные формы

ЛИТЕРАТУРА

1. Жалолиддинова М.Ш., Юнусова Х.М. Изучение физико-химических и технологических свойств субстанций таблеток «Ортоф-S» //XX международная научно-практическая конференция «Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования». М., 2019. С. 39-43.

2. Shodieva N.B., Yunusova Kh.M. Study influencing factors in quality for recommended tablets «Piracetam» // British journal of educational and scientific studies. 2016. Vol. 1(23). P.845-850

3. Шодиева Н.Б., Юнусова Х.М. Усовершенствование состава и технологии таблеток Пирацетам-SM // IV Международная заочная научно-практическая конференция «Научная дискуссия: инновации в технических, естественных, математических и гуманитарных науках». М., 2012. С. 120-125.

4. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288. DOI:10.20959/wjpps20191-12943

5. Жалолиддинова М.Ш., Юнусова Х.М. Изучение физико-химических и технологических свойств субстанций бисопролола фумарата // Материалы V Международной научно-практичной конференции "Ликі –людині.Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів" 2021. С.346-347.

6. Abdijalilova Z.Kh., Yunusova Kh.M., Ilkhamova N.B. Pre-clinical study of expectorant properties of «Ambrol» tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(04). P. 2349-2354. DOI: 10.37200/IJPR/V24I4/PR201345

УДК 615.453.6

THE EFFECT OF FACTORS ON THE QUALITY OF RECOMMENDED TABLETS

Tashmatova M.A., applicant
Supervisor: **Yunusova H.M.**, doctor. pharm. sciences, prof.
Ilkhamova N.B., doctor. pharm. sciences
Tashkent Pharmaceutical Institute,
45 Aybek str., Tashkent, 100015, Republic of Uzbekistan
E-mail: samina1809@mail.ru

The results of the study of the main scientific criteria for the selection of the composition and technology of the recommended «Diabmik» and «Sitmet» test with hypoglycemic effect were presented. As a result of the obtained indicators, diagnostic data for subsequent phase studies were collected and the auxiliary substances that could be used in the selection of the composition were selected. The results of the study of wet absorption Kinetics, the effect of residual moisture and pressing pressure on the quality of the recommended wipes were presented.

Keywords: *residual moisture, pressing pressure, factors, quality indicators, net, wet absorbing Kinetics.*

Before the health systems of the countries of the world community, including the Republic of Uzbekistan, there are many urgent tasks, among which is the identification of the provision of medicines for diabetics. According to world scientists, who forecasts that the incidence of diabetes is constantly growing, by 2025 the number of patients reaches 15 percent of the world's population. The number of patients in the Russian Federation is estimated at 2 million people and is growing by 5-6 percent annually [1, 4, 7].

A distinctive feature of this problem is that patients are forced to take expensive drugs for life. High rates of disease growth, changes in its structure, the emergence of new drugs for the treatment and Prevention of diabetes mellitus and the introduction of new schemes for the treatment of the disease, in turn, lead to a change in the structure of the intake of anti-diabetic drugs [2, 5].

According to the data presented in the literature, the consumption of antidiabetic drugs has regional characteristics. This fact, as well as the differences in the socio-economic situation of various subjects of the Russian Federation, the presence of regional characteristics in the formation of Health composition and the formation of local pharmaceutical markets, requires a comprehensive study of the provision of medicines for patients with diabetes mellitus at the level of a separate region [3, 6].

Objective: to study factors, which affects the quality of anti-diabetes diet recommended.

Material and methods. S the wet absorption kinetics of the recommended wipes. A. We were mowed by Nosoviskaya and co-founders to the effect of different relative humidity of the environment on the quality of the sheets. The ability to absorb moisture was also studied by gravimetric method. Pre-weighed granules in studies – samples of pressable mass (0,5 g each) andetets (0,1 g each) in diameter 2,0-2,6-3,3 packed in a box with SM. Ready-made syrups were placed in a dryer with a saturated solution of sodium bromide (relative humidity 58%) and purified water (relative humidity 100%). Over time, the increase in moisture content was determined by the gravimetric method. For 7 days every 24 hours, the bouquets were taken, closed with a lid and weighed on analytical scales with an accuracy of +0,0001 g. The accumulators were thermostated at a temperature of 22 ±10 ^{0}C.

The wet swallow size (%) was determined by the following formula in relation to the samples taken:

$$B = ((m - m_0) / m_0) \cdot 100,$$

here: m – the mass of the sample at a certain time, g;

m_0 – is the initial mass of the sample, g.

The results obtained were presented in Table 1.

Table 1 – The results of the study of wet absorption kinetics of pressable mass and recommended modeletets with different relative humidity

Recommended ingredients	The amount of moisture ingested at different humidity of the environment, relative humidity, %				
	Duration of the study, day	58%		100%	
		Pressable mass	Tablets	Pressable mass	Tablets
«Diabmik» tablets					
D-1	1	3,82	1,82	4,49	3,99
	2	4,45	1,98	4,77	4,29
	3	5,03	2,13	5,44	4,53
	4	6,07	2,48	5,80	5,13
	5	6,65	3,76	6,43	5,45
	6	7,15	4,27	6,97	5,72
	7	7,98	4,56	7,11	5,87
«Sitmet» tablets					
S-5	1	3,12	2,75	4,54	3,60
	2	3,89	2,98	5,21	3,84
	3	4,07	3,94	5,95	4,02
	4	4,89	4,07	6,07	4,87
	5	5,05	4,28	6,65	5,12
	6	5,79	4,95	7,15	5,76
	7	5,96	4,98	7,76	6,08

Another factor affecting the moisture – absorbing properties of preparations is the size of the surface of the sample. Studies were conducted by gravimetric method in conditions in which the relative humidity of the environment created by a saturated solution of sodium bromide is 58%. The pre-weighed amount of pressable mass was placed on the buckets of different diameters. Desiccants with a bruise in the composition were placed in a thermostat at a temperature of 22 ^{0} C.

S (g/m^2) ingested humidity dependent on Surface Surface Surface was calculated by the following formula:

$$У = (m – m_0) / S,$$

here: m – the mass of the sample at a certain time, g;

m_0 – is the initial mass of the sample, g.

S – specific Surface Surface-related moisture absorption, g/m^2

Results and discussion. As can be seen from the results obtained, wet absorption Kinetics in all studied samples were intensively increased during the incubation period, but the absorbed moisture was very low and did not affect the quality of the samples under study.

From the results of the above research, it is possible to conclude thatetkaetka masses andetetka obtained from the recommended composition are low in moisture absorption kinetics, among non-hygroscopic preparations.

To examine the effect of residual moisture on the quality of the recommended ointments. The effect of residual moisture content ofetkaetka mass on the quality indicators ofetetka was carried out with the help of tabletka in the composition selected for both recommended tabletka.

The results obtained were presented in Figures 1 and 2.

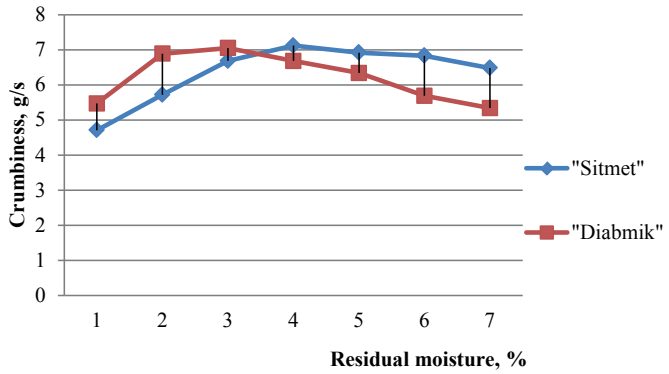


Figure 1. Pressing mass residual moisture influence on the indicators of scattering results of the study

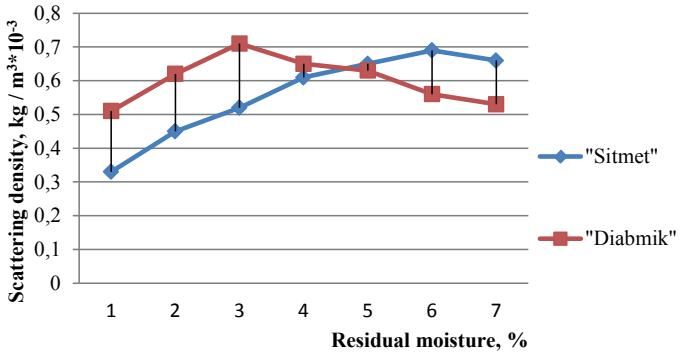


Figure 2. Sprinkling of residual moisture in the pressable mass influence on density indicators result of the study

The figures presented in the picture show that a certain residual moisture content of the net mass is 1-3% for diabetics and 3-5% for Cytmet. The moisture in the range of these indicators indicates the effect of the pressing mass on the manifestation of a positive scattering density as well as scattering. This in turn shows that when obtaining quality sheets, a certain residual moisture occupies a separate place.

To examine the effect of compression pressure on the quality of the recommended tablets.

We used a series of pressing presses in the study of the effect of pressing pressure on the quality of the finished sheets. Tabl the hardness of the sheets to friction and fracture, the decomposition of which is directly affected by the pressing pressure.

The study analyzed the results obtained by pressing at pressures of 50-350 MPa with tablets masses in the recommended compositions.

Pressurization pressure affects the hardness and fragmentation indicators of the sheets relative to fracture and friction, and we have reaped the effect of pressurization pressure on exactly the same indicators when obtaining the recommended sheets.

The results obtained were presented in 3-, 4- and 5-figures.

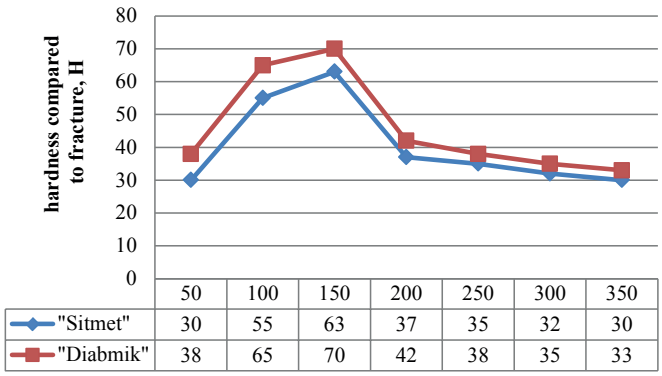


Figure 3. The results of the study of the effect of pressing pressure on the indicators of hardness in relation to fracture of the recommended mesh

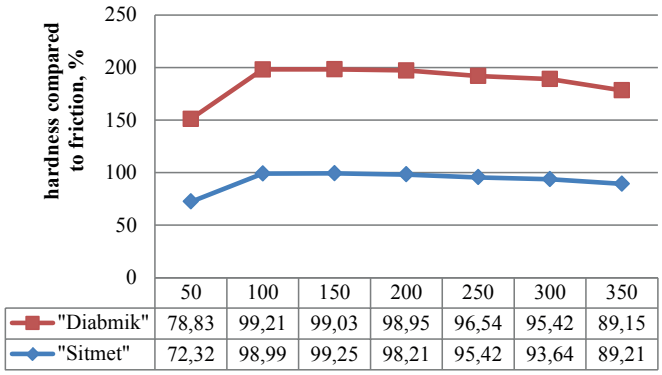


Figure 4. The recommended sealing of pressing pressure to the indicators of hardness relative to friction results of the study of the effect

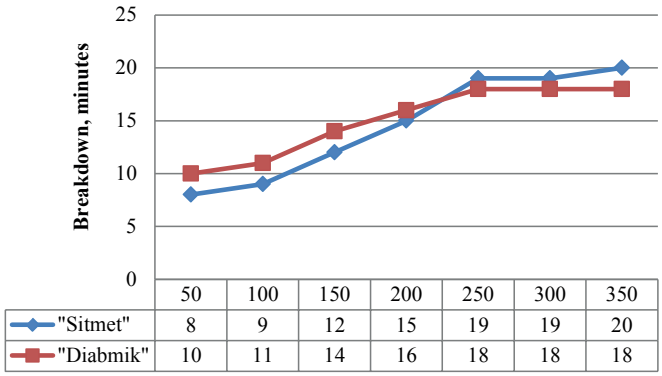


Figure 5. The results of the study of the effect of pressing pressure on the recommendedetetka disintegration indicators

Based on the results of the analysis, the effect of pressing mass under pressure in the range of 100-150 MPa on the quality of tablets was guaranteed for both tablets recommended.

Conclusion:

1. From the results of the above research, it is possible to conclude thatetkaetka masses andetetka obtained from the recommended composition are low in moisture absorption Kinetics, among non-hygroscopic preparations.

2. A certain residual moisture content ofetkaetka mass was selected as 1-3% for diabetics and 3-5% for Citmetka mass and a certain residual moisture content was selected for obtaining quality tabletka.

3. The effect of pressing mass under pressure in the range of 100-150 MPa on the quality of tablets was guaranteed for both tablets recommended.

REFERENCES

1. Shodieva N.B., Yunusova Kh.M. The influence of the environment on the quality of tablets based on piracetam // Medicines to man. Modern problems of pharmacotherapy and prescription of medicines. National Pharmaceutical University. Harkov, 2017. P. 368-369. (in Russian)

2. Shodieva N.B., Yunusova Kh.M. Study influencing factors in quality for recommended tablets «Piracetam» // British journal of educational and scientific studies. 2016. Vol. 1(23). P. 845-850

3. Jaloliddinova M.Sh., Yunusova Kh.M. The influence of specific pressing pressure on the stability of combined tablets «Orthof-S» // Pharmacy. 2020. P. 514-517. (in Russian)

4. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288. DOI:10.20959/wjpps20191-12943

5. Shodieva N.B., Yunusova H.M., Akhmedova D.T. Standardization of tablets «Piracetam 0.2 and 0.4g» // Infection, Immunity and Pharmacology. 2016. Vol. 6. P. 499-502. (in Russian)

6. Jaloliddinova M. Sh., Yunusova Kh. M. Studied physico-chemical and technological all substances of bisoprolol fumarate // Materials of the intercity scientific and practical conference «Liki-lyudini. The problems of pharmacotherapy are a recognized medical aid» 2021. P. 346-347 (in Russian)

7. Abdijalilova Z.Kh., Yunusova Kh.M., Ilkhamova N.B. Pre-clinical study of expectorant properties of «Ambrol» tablets. // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(04). P. 2349-2354. DOI: 10.37200/IJPR/V24I4/PR201345

ДЕЙСТВИЕ ФАКТОРОВ НА КАЧЕСТВО РЕКОМЕНДУЕМЫХ ТАБЛЕТОК

Ташматова М.А., соискатель
Руководитель: **Юнусова Х.М.,** докт. фарм. наук, проф.
Илхамова Н.Б., докт. фарм. наук.
Ташкентский фармацевтический институт,
100015, Ташкент, ул. Айбека, д.45, Республика Узбекистан
E-mail: samina1809@mail.ru

Представлены результаты изучения основных научных критериев выбора состава и технологии рекомендуемых таблеток «Диабмик» и «Ситмет» с гипогликемическим действием. В результате полученных показателей были собраны диагностические данные для следующего этапа исследований и подобран набор вспомогательных веществ, которые можно было использовать при подборе состава. Представлены результаты исследования кинетики влагопоглощения, влияния остаточной влаги и давления прессования на качество рекомендуемых таблеток.

Ключевые слова: *остаточная влага, давление сжатия, факторы, показатели качества, таблетка, кинетика влагопоглощения.*

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.45.39. Готовые лекарственные формы

ЛИТЕРАТУРА

1. Шодиева Н.Б., Юнусова Х.М. Влияние окружающей среды на качество таблеток на основе пирацетама // Лекарства-человеку. Современные проблемы фармакотерапии и назначения лекарственных средств. Национальный фармацевтический университет. Харковь, 2017. С. 368-369.

2. Shodieva N.B., Yunusova Kh.M. Study influencing factors in quality for recommended tablets «Piracetam» // British journal of educational and scientific studies. 2016. Vol. 1(23). P. 845-850

3. Жалолиддинова М.Ш., Юнусова Х.М.Влияния удельного давления прессования на устойчивость комбинированных таблеток «Ортоф-S» // Фармация. 2020. С. 514-517

4. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288. DOI:10.20959/wjpps20191-12943

5. Шодиева Н.Б., Юнусова Х.М., Ахмедова Д.Т. Стандартизация таблеток «Пирацетам по 0,2 и 0,4г» // Инфекция, Иммунитет и Фармакология. 2016. Т. 6. С. 499-502.

6. Жалолиддинова М.Ш., Юнусова Х.М. Изучение физико-химических и технологических свойств субстанций бисопролола фумарата // Материалы V Международной научно-практичной конференции «Ликі –людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів» 2021. С.346-347.

7. Abdijalilova Z.Kh., Yunusova Kh.M., Ilkhamova N.B. Pre-clinical study of expectorant properties of «Ambrol» tablets. // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(04). P. 2349-2354. DOI: 10.37200/IJPR/V24I4/PR201345

УДК 615.041.21

RESEARCH ON THE DEVELOPMENT OF A SPECIFIC COMPOSITION AND TECHNOLOGY OF «SEDTAB» TABLETS

Turdieva Z.V., applicant
Supervisor: **Yunusova H.M.,** doctor. pharm. sciences, prof.,
Ilkhamova N.B., doctor. pharm. sciences.
Tashkent Pharmaceutical Institute,
45 Aybek str., Tashkent, 100015, Republic of Uzbekistan
Email: zilolaturdieva1988@gmail.com

The results of the study of the main criteria for the development of technology of tablets «Sedtab» with sedative properties, obtained on the basis of new plant ingredients. As a result of the obtained indicators, it was shown that they can be included in the set of normative documents and use these methods in the production process on an industrial scale.

Keywords: *natural raw materials, bioactive substance, technology, granulation, technological properties.*

Introduction. The development of the country's social health sector will be ensured mainly through the development and implementation of technology of import-substituting drugs based on original local natural resources through the modernization of technological solutions for the conversion of new types of plant raw materials. People with chronic or dangerous disease (kovid) can also suffer from a number of neuroses as a result of nervousness. These symptoms may include confusion (delirium), anxiety, restlessness, shortness of breath, pain, vomiting, and stress [1, 4, 5].

Given the growing demand for herbal medicines, the creation of medicines based on local raw materials will play an important role in enriching the pharmaceutical industry. It is no coincidence that about 30% of products are used as components of pharmaceuticals [2, 6, 9].

This information presents the results of research on the development of technology of liquid drugs with a sedative effect.

The purpose of the study. Selection of specific conditions for the development of tablet technology on the basis of dry extract «Sedeks» and guaranteeing the quality of the finished product.

Materials and methods of research. The object of the planned research was a dry extract «Sedeks» based on medicinal lemon grass (lemon balm) and lion's tail. Gazanda (Stinging nettle, scorpion) is a medicinal plant that has long been used in folk medicine. It grows in almost all mountainous areas of Uzbekistan, in areas close to water, along roadsides, near residential areas, in shrubs, around houses. Medicinal lemon is a perennial herb, reaching a height of 30-60 cm, with a lemon odor. It flowers in June-August and ripens in July-September.

When the lemon blossoms, the leaves and the surface are collected and the shade is dried on the ground. Liontail – A simple lion's tail and a five-leafed lion's tail are collected and dried during the flowering of a wild and culturally grown, perennial herbaceous plant [3, 7, 10].

Dry extract was obtained from the above plant collection by the method of maceration-circulation, and research was conducted on the development of tablet technology based on yurui extract [8, 9].

Studies have shown that the technological properties of the recommended dry extract are negative and that it is necessary to use excipients when taking tablets. It was noted that taking into account the fact that the high moisture absorption kinetics of the dry extract directly affects its technological properties, it is necessary to obtain excipients that improve their technological properties. From the negative technological parameters of the dry extract had to use excipients that have a specific gravity, such as specific gravity, friability, porosity, the positive angle of inclination and the extreme hygroscopicity of the dry extract. In order to improve the technological properties of the recommended dry extract, the following excipients are used in pharmaceutical production: lactose, glucose, sucrose, potato starch, corn starch, microcrystalline cellulose, calcium carbonate, magnesium oxide, calcium stearate, calcium stearate.

In their application, more than 20 ingredients were studied separately and together in several compositions.

In the initial study, the possibility of direct tablet pressing from the recommended ingredients was studied.

Table 1 shows the contents of the studies, which are closely related to each other.

Table 1 – Ingredients recommended for taking «Sedtab» tablet by direct pressing

Ingredients	Quantity of ingredients, g						
	Contents						
	1	2	3	4	5	6	7
«Sedeks» dry extract	0,25	0,25	**0,25**	0,25	0,25	0,25	0,25
Lactose		0,042	**0,063**			0,037	
Glucose	0,042	0,021			0,063		
Sucrose	0,021						0,063
Microcrystalline cellulose				0,063		0,026	
Calcium carbonate		0,011					

Ingredients	Quantity of ingredients, g						
	Contents						
	1	2	3	4	5	6	7
Potato starch	0,034		**0,034**	0,034		0,34	
Corn starch		0,023			0,034		0,034
Calcium stearate			**0,003**		0,003		0,003
Magnesium stearate	0,003					0,003	
Stearic acid		0,003		0,003			
Average mass	0,35	0,35	**0,35**	0,35	0,35	0,35	0,35

The research was continued with a comparative study of the masses obtained in the above compositions and the technological properties of the dry extract. The following were studied from the technological properties: friability, friable density, fractional composition, residual moisture, compression coefficient, compaction coefficient, residual moisture, etc.

The results obtained are presented in Table 2.

Table 2 – The results of a comparative study of the technological properties of dry extract «Sedeks» and the pressed mass

Technological indicators studied	Indicators							
	«Sedeks» dry extract	1	2	3	4	5	6	7
Fractional content, %: +2000 -2000+1000 -1000+500 -500+250 -250	17,18 25,53 28,97 18,82 9,50	12,46 27,16 35,98 29,45 3,60	11,46 25,12 34,97 27,40 3,041	12,15 25,39 27,11 28,05 7,30	14,12 27,11 29,53 30,14 3,60	12,46 25,16 33,08 29,45 4,60	14,54 25,55 26,45 28,30 5,16	15,43 23,56 25,21 30,23 5,57
Scattering, 10^{-3} kg/s	0,96	1,45	1,63	4,47	2,87	1,89	1,93	3,11
Natural angle of inclination, degrees	27,43	36,76	43,98	38,85	44,36	39,98	44,69	42,18
Scattering density, kg/ m^3	395,37	654,34	712,43	698,43	711,43	675,99	698,23	701,56
Compression coefficient	3,45	6,12	6,67	5,99	7,11	6,98	7,25	6,97
Density coefficient	1,36	6,12	6,11	7,79	5,54	4,76	5,34	6,47
Residual moisture, %	6,74	4,95	4,84	3,25	3,99	4,05	5,22	4,67

The results of the study show that the excipients used in the composition have a positive effect on the negative properties of the dry extract. Excipients from the obtained indicators changed the fractional composition, which in turn led to a positive change in the remaining technological properties. It can be seen that the compression coefficient of the tablet mass increased from 3.45 to 7.25. Also, the index of mass hygroscopicity decreased from 6.74% to 3.95%.

In the first stage of obtaining tablets, we obtained tablets by direct pressing using the entire composition. This process was carried out as follows: the dry extract is sifted through a sieve with a hole diameter of 0.16 and the sifted excipients are mixed and pulverized with an antifriction agent – calcium stearate. The finished tablet mass is pressed in a hand hydropress.

Table 3 shows the results of the study of the quality of Sedtab tablets obtained by direct pressing.

Table 3 – The results of the study of the quality of «Sedtab» tablets directly pressed

The indicators studied	Results						
	1	2	3	4	5	6	7
Appearance	Brown, holder, tablets with broken cylindrical edges						
Proportion of tablet height to diameter, %	26	29	26	24	27	28	21
Average weight and deviation from it, %	0,35 ± 2,87	0,35 ± 3,55	0,35 ± 4,22	0,35 ± 4,09	0,35 ± 2,99	0,35 ± 3,81	0,35 ± 2,86
Hardness to break, H	51,33	55,14	53,54	55,54	49,05	51,35	53,45
Stiffness to friction, %	77,75	81,54	80,64	75,73	83,24	70,34	69,21
Disintegration, min.	17	18	16	18	22	18	19
Melting, %	96,98	96,98	96,98	96,98	96,98	96,98	96,98

«Sedtab» tablets obtained by direct pressing in all compositions from the obtained parameters do not meet the requirements for tablets with the studied quality indicators. Studies have shown that the mass to be pressed sticks to the press instrument, and tablets with broken edges are obtained. It was also observed that the ratio of the diameter of the tablet to the height, the hardness of the tablet against fracture and friction is not at the required level.

Based on the results of the above study, it was determined that the wet granulation method should be used in the next stage of research.

When taking the tablets using the wet granulation method in the recommended formulations, purified water, sugar syrup, 30-90% and 2-10% starch solution were used to moisten the ingredients in Table 2 above.

Studies have shown that the edges of the tablets obtained from the mass moistened with purified water are broken, the ratio of the diameter of the tablet to the height, and the disintegration time is higher than normal (22 min). Studies have shown that the tablets do not meet the requirements for tablets, as the edges of the tablets are broken when all concentrations of ethyl alcohol are added, and the disintegration time is high (18-23 min.).

When 2% potato starch was added to the pressed mass, the tablet did not meet the requirement with hardness values (26 N). Required tablets were obtained by soaking with a 7-10% solution of potato starch. From an economic point of view, a 7% starch solution was selected for further study.

The evaluation of the quality of tablets containing 7% using a 7% starch solution is given in Table 4.

The results in the table show that the results of «Sedtab» tablets obtained by the method of wet granulation on all ingredients showed a positive change in them, in contrast to the tablets obtained directly. In particular, tablets with a melting point of 98.71% to 98.95%, refractive hardness ranges from 57.97N to 65.99N, and the average weight of tablets meet the requirements of XIII DF. However, the unsatisfactory disintegration time of the studied ingredients outside the TK-3 composition (15-20 min.), As well as the low ratio of the height of the tablets to the diameter (20 -26%) showed that it is not possible to obtain quality tablets in these compositions. Therefore, it contains TK -3 for further studies the composition was selected.

Table 4 – The evaluation of the quality of tablets containing 7% using a 7% starch solution is given

The indicators studied	Results						
	TK-1	TK-2	TK-3	TK-4	TK-5	TK-6	TK-7
Appearance	Brown, holder, tablets with broken cylindrical edges						
Proportion of tablet height to diameter, %	23	21	37	20	24	26	18
Average weight and deviation from it, %	0,33 ± 3,21	0,36 ± 2,89	0,32 ± 3,54	0,35 ± 1,35	0,34 ± 4,23	0,32 ± 4,76	0,33 ± 3,57
Hardness to break, H	57,54	58,53	65,99	59,25	59,67	58,76	57,97
Stiffness to friction, %	81,32	85,98	98,21	77,98	86,78	74,67	73,57
Disintegration, min.	18	16	9	18	20	16	15
Melting, %	98,11	98,43	98,95	97,89	98,43	98,21	98,46

The technological process of obtaining «Sedtab» tablets was carried out in the following sequence: the extracted and sifted dry extract and lactose were thoroughly mixed until a homogeneous mass was formed and moistened with a 7% starch solution. Dried on a drying rack at 40-50^{0}C and powdered with a mixture of starch and calcium stearate.

The next stage of research was continued by studying the technological properties of the tablet mass obtained by the method of wet granulation. In these studies, technological parameters such as fractional composition, fracture density, friability, natural drop angle, porosity, compaction coefficient, compression coefficient and residual moisture were studied and the comparative results of the raw material and the mass obtained by the two methods were compared in Table 5.

Table 5 – Results of the raw material and the mass obtained

Technological indicators studied	Indicators															
	Raw materials	Tablet mass for direct pressing							Wet granulated tablet mass						
	«Sedeks» dry extract	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Fractional content, %:															
+2000	17,18	12,46	11,46	11,15	14,12	12,46	14,54	15,43	17,18	18,35	16,39	12,15	11,28	14,22	12,24
-2000+1000	25,53	27,16	25,12	25,34	27,11	25,16	25,55	23,56	20,36	20,19	23,15	25,39	25,26	23,10	26,30
-1000+500	28,97	35,98	34,97	28,14	29,53	33,08	26,45	25,21	28,21	26,16	28,16	27,11	29,26	27,31	27,11
-500+250	18,82	29,45	27,40	26,06	30,14	29,45	28,30	30,23	28,00	28,10	26,10	28,05	28,08	29,11	30,17
-250	9,50	3,60	3,041	9,35	3,60	4,60	5,16	5,57	6,25	7,20	3,20	7,30	6,13	6,04	5,18
Scattering, 10^{-3} kg/s	0,96	1,45	1,63	3,43	2,87	1,89	1,93	3,11	3,47	4,47	6,47	4,32	3,67	4,01	5,11
Natural angle of inclination, degrees	27,43	36,76	43,98	48,98	44,36	39,98	44,69	42,18	43,78	48,78	45,25	39,32	42,54	43,93	48,15
Scattering density, kg/m^3	395,37	654,34	712,43	699,68	711,43	675,99	698,23	701,56	698,43	698,43	598,43	591,43	586,12	586,95	611,38
Compression coefficient	3,45	6,12	6,67	6,34	7,11	6,98	7,25	6,97	5,99	5,32	2,99	4,57	3,11	3,93	4,09
Density coefficient	1,36	6,12	6,11	7,83	5,54	4,76	5,34	6,47	5,22	5,86	4,22	5,97	6,10	5,22	5,18
Residual moisture,%	6,74	4,95	4,84	4,65	3,99	4,05	5,22	4,67	4,37	3,68	3,25	3,44	3,98	3,86	4,11

The indicators in Table 5 show that almost all the technological properties of the mass prepared by the wet granulation method have changed for the better. In particular, the scattering density of the mass, the scattering parameters, as well as the angle of natural deflection, the coefficients of compression and compaction, as well as the fractional composition have changed.

Results and discussion: These results, in turn, show the advantages of the wet granulation method, as well as the correct selection of excipients used in the composition.

Based on the above results, the SK-3 composition obtained for wet granulation was selected for further studies, and further studies were continued with the same composition and tablets obtained in the proposed technology.

Conclusion. Thus, based on the results of the above research, specific ingredients and technology were selected for «Sedtab» tablets. The tablets obtained in the proposed composition and technology will serve as a basis for further research.

REFERENCES

1. Alekseeva R.R. Fitoterapevticheskiy sedativnyy preparations // International journal of applied and fundamental studies. 2016. N 8-4. P. 573-576. (in Russian)

2. Ryabokon I.V., Vorobeva O.V. Stress and antistress therapy // Lechashchiy vrach. 2011. N 5. P. 85–89. (in Russian)

3. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Evaluation of biopharmaceutical and pharmacological properties of combined ternary componential analgesic tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(02). P. 6009-6017. (in Russian)

4. Yunusova Kh.M., Abdijalilova Z.H. Research On The Choice Of "Ambronat" Syrup Technology // The American Journal of Medical Sciences and Pharmaceutical Research. 2021. Vol. 03(02-01). P. 1-9. (in Russian)

5.Yunusova Kh.M., Abdijalilova Z.H. Research on the Selection of aCertain Content of " Ambronat " Juice Syrup // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research. 2021. Vol. 20(4). P. 62-71. (in Russian)

6. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Biopharmaceutical aspects of capsulirine drug based on NSAIDs // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(04). P. 2258-2265. (in Russian)

7. Ilkhamova N.B., Nazarova Z.A., Yunusova Kh.M. Studying the effect of a relative humidity and compaction pressure on the quality of tablets and pressed mass // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2019. Vol. 8(6). P. 35-40. (in Russian)

8. Sherkhadjayeva N.N., Yunusova Kh.M, Ilkhamova N.B. On the of choosing the composition of soluble tablets with licorice extract // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2019. Vol. 8(6). P. 41-47. (in Russian)

9. Ravshanova S.E., Yunusova Kh.M. Evaluation of aceutical biopharm and pharmacological properties of combined ternary componential analgesic tablets // International Journal of Psychosocial Rehabilitation. 2020. Vol. 24(02). P. 6009-6017. (in Russian)

10. Yunusova Kh.M., Jaloliddinova M.Sh. Studying pharmacotechnological aspects and stability of "Ortof-S" tablets // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2019. Vol. 8(1). P. 277-288. (in Russian)

ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ РАЗРАБОТКИ ОПТЫМАЛЬНОГО СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ТАБЛЕТОК «СЕДТАБ»

Турдиева З.В., соискатель
Руководитель: **Юнусова Х.М.,** докт. фарм. наук, проф.
Илхамова Н.Б., докт. фарм. наук
Ташкентский фармацевтический институт,
100015, Ташкент, ул. Айбека, д.45, Республика Узбекистан
E-mail: zilolaturdieva1988@gmail.com

Были представлены результаты исследования основных критериев разработки технологии таблеткасини «Седтаб», обладающего седативным свойством, полученного на основе сырья нового состава цимлик. В результате полученных показателей было показано, что эти методы могут быть включены в набор нормативных документов и использованы в производственном процессе в промышленных масштабах.

Ключевые слова: *натуральное сырье, биологически активное вещество, технология, гранулирование, технологические свойства.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Р.Р. Фитотерапевтический седативный препарат // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. N 8-4. С. 573-576.

2. Рябоконь И.В., Воробьева О.В. Стресс и антистрессовая терапия // Лечащий врач. 2011. N 5. С. 85–89.

3. Равшанова С.Е., Юнусова Х.М. Оценка биофармацевтических и фармакологических свойств комбинированных трехкомпонентных анальгетических таблеток // Международный журнал психосоциальной реабилитации. 2020. Т. 24. Вып. 02. С. 6009-6017.

4. Юнусова Х.М., Абдиджалилова З.Х. Исследование по выбору технологии сиропа «Амбронат» // Американский Журнал Медицинских Наук и Фармацевтических Исследований. 2021. Т. 03. Вып. 02-01. С. 1-9.

5. Юнусова Х.М., Абдиджалилова З.Х. Исследование по выбору определенного содержания сиропа сока «Амбронат» // Международный журнал фармации и фармацевтических исследований. 2021. Т. 20. Вып. 4. С. 62-71.

6. Юнусова Х.М., Жалолиддинова М.Ш. Биофармацевтические аспекты капсулиринового препарата на основе НПВП // Международный журнал психосоциальной реабилитации. 2020. Т. 24. Вып. 04. С. 2258-2265.

7. Илхамова Н.Б., Назарова З.А., Юнусова Х.М. Изучение влияния относительной влажности и давления прессования на качество таблеток и прессованной массы // Всемирный журнал фармации и фармацевтических наук. 2019. Т. 8. Вып. 6. С. 35-40.

8. Шерхаджаева Н.Н., Юнусова Х.М., Илхамова Н.Б. О выборе состава растворимых таблеток с экстрактом солодки // Всемирный журнал фармации и фармацевтических наук. 2019. Т. 8. Вып. 6. С. 41-47.

9. Равшанова С.Э., Юнусова Х.М. Оценка фармацевтических биофарм и фармакологических свойств комбинированных трехкомпонентных таблеток для обезболивания // Международный журнал психосоциальной реабилитации. 2020. Т. 24. Вып. 02. С. 6009-6017.

10. Юнусова Х.М., Жалолиддинова М.Ш. Изучение фармакотехнологических аспектов и стабильности таблеток «Ортоф-С» // Всемирный журнал фармации и фармацевтических наук. 2019. Т. 8. Вып. 1. С. 277-288.

УДК 54.061; 54.066

АДСОРБЦИЯ РУТИНА НА АКТИВИРОВАННОМ УГЛЕ

Лебедев А.А., студ. 2 курса, 1800 группа, ФПТЛ
Руководители: **Васильева П.А.**, аспирант 2 года обучения,
Дмитриева И.Б., доцент кафедры химической и коллоидной химии. доктор химических наук
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: andrej.lebedev@spcpu.ru

Исследован процесс адсорбции и десорбции рутина на активированном угле. Количество адсорбированного рутина определяли по изменению концентрации растворов до адсорбции и после адсорбции спектрофотометрическим методом по реакции комплексообразования с алюминием хлорида. Обнаружено, что с поверхности адсорбента десорбируется менее 5 % рутина, что свидетельствует об образовании крепких связей между рутином и адсорбционными центрами на активированном угле.

Ключевые слова: *адсорбция, рутин, активированный уголь, дессорбция, спектрофотометрия.*

В современном мире фитопрепараты играют важную роль в фармацевтической отрасли [1]. Повсеместное широкое применение растительного материала в качестве исходного сырья для производства лекарственных средств в медицине происходит благодаря уменьшению побочного действия при использовании препарата, низкой стоимости исходного сырья и обширному спектру действия. Растительное сырье обладает большим спектром терапевтического действия за счет содержания в них флавоноидов, сапонинов, катехинов и других биологически активных веществ (БАВ) [2]. Увеличение выхода экстрактивных веществ из растительного материала является важной задачей фармацевтической отрасли. Основные пути для достижения данной цели являются варьирование временем, температурой, pH, подбор соответствующих растворителей и применение добавок в процессе экстракции. Эти показатели могут влиять на установление адсорбционно-десорбционного равновесия, что способствует определению лучших параметров экстракции растительного материала. Изучение адсорбционно-десорбционного равновесия в системе растительный материал – БАВ представляет интерес как с научной, так и с практической точек зрения.

Цель работы: Изучение процессов адсорбции – десорбции в частности на системе рутин – активированный уголь.

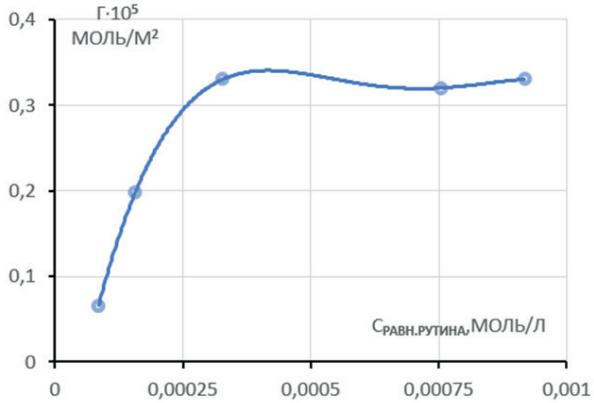
Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использовался Рутин: Rutin, партия 332, годен до 26.03.2023, Sichuan Guangsong Pharmaceutical Co., Ltd., Китай, ФС 000569-06514. Брутто формула – $C_{27}H_{30}O_{16}$. Молярная масса рутина – 610,52 г/моль.

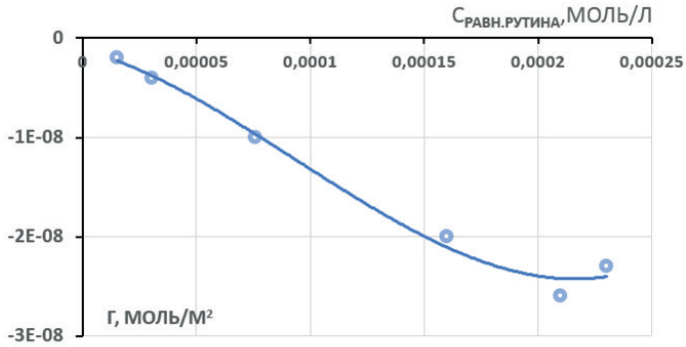
Зависимость количества адсорбированного рутина определяли по изменению концентрации до и после адсорбции и десорбции.

Концентрацию рутина определяли спектрофотометрическим методом по реакции комплексообразования с алюминием хлорида [3]. Для определения адсорбции в 6 колб вводилось по 50 мл растворов рутина различной концентрации (10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%), затем в каждую колбу добавлялось по 0,5 г. активированного угля, растворы выдерживались более часа. Растворы периодически перемешивались, затем отфильтровывались и определялась зависимость концентраций растворов после адсорбции. Пробы с адсорбированным рутином на активированным угле высушивались, а затем в них добавлялось по 25 мл спирта в каждую пробу для десорбции рутина и определялась в них концентрация рутина после десорбции. Измерения проводились на спектрофотометре СФ 2000. Предварительно найдена аналитическая длина волны для спиртового раствора рутина – 410 нм. Далее проводились измерение оптической плотности (D) исследуемых растворов при длине волны 410 нм. Затем рассчитывали количество адсорбированного и десорбированного рутина [4]. Удельная поверхность активированного угля составляла 200 м^2/г и определена методом БЭТ.

На рис. 1 представлена изотерма адсорбированного рутина. Из этого графика видно, что изотерма адсорбции резко возрастает, а затем выходит на насыщение. Используя уравнение Ленгмюра [4] рассчитали величину предельной адсорбции и площадь, занимаемую одной молекулой рутина – $42 \cdot 10^{-20}$ м^2.



На рис. 2. представлен изотерма десорбции рутина. Сопоставление количество адсорбированного и десорбированного показывает, что десорбировалось мене 5 % адсорбированного рутина. Такая малая величина десорбции показывает об образовании крепких связей рутина с поверхностью адсорбента.



Заключение

В работе установлено, что рутин создаёт прочные химические связи с абсорбентом. В связи с чем десорбция проходит незначительно. Разрушая механизм взаимодействия рутина с адсорбентом, можно увеличить количество десорбированного рутина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications / Eds. Goodwin M.A., K.R. Markham. 2006. 1256 p.

2. Лобанова А.А., В.В. Будаева, Г.В. Сакович. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья // Химия растительного сырья. 2004. N 1. С. 47-52.

3. Условия экстракции и идентификации флавоноидов, стимулирующих регенерацию тканей / Феськова Е. В. [и др.] // Труды БГТУ. 2019. серия 2. N 1. С. 49-53.

4. Физическая и коллоидная химия: руководство к практическим занятиям: учебное пособие / под ред. А.П. Беляева. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2012. 319 с.

SUMMARY

ADSORPTION OF RUTIN ON ACTIVATED CHARCOAL

Lebedev A.A., 2nd year student, 1800 group, FPTL
Leader: **Vasilyeva P.A.,** second year phD student, **Dmitrieva I.B.,** Doctor of Chemical Sciences, Assoc. Prof.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University,
197376, St. Petersburg, Prof. Popova Street, 14, Russian Federation

The process of adsorption and desorption of rutin on activated carbon was studied. The amount of adsorbed rutin was determined by the change in the concentration of solutions before adsorption and after adsorption by the spectrophotometric method according to the reaction of complex formation with aluminum chloride. It was found that less than 5% of rutin is desorbed from the surface of the adsorbent, which indicates the formation of strong bonds between rutin and adsorption centers on activated carbon.

Keywords: *adsorption, rutin, activated carbon, desorption, spectrophotometry.*

REFERENCES

1. Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications / Eds. Goodwin M.A., K.R. Markham. 2006. 1256 p.

2. Lobanova A.A., V.V. Budaeva, G.V. Sakovich. Study of biologically active flavonoids in extracts from plant materials // Chemistry of plant raw materials. 2004. N 1. P. 47-52 (in Russian)

3. Feskova E. V., Leontiev V. N., Ignatovets O. S., Adamtsevich N. Yu., Besarab A. Yu. Conditions for extraction and identification of flavonoids that stimulate tissue regeneration / Proceedings of BSTU. 2019. Series 2. N 1. P. 49-53. (in Russian)

4. Physical and colloidal chemistry: a guide to practical exercises: a textbook / Ed. A.P. Belyaeva. Moscow: GEOTAR-Media. 2012. 319 p. (in Russian)

Секция 6. Фармацевтическая отрасль: тенденции в экономике и управлении

15 апреля 2022 г в рамках XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» состоялось заседание секции «Фармацевтическая отрасль: тенденции в экономике и управлении», объединившей молодых ученых, профильных специалистов-практиков и работников образовательного сектора фармацевтической отрасли.

В рамках секционного заседания были заслушаны 19 докладов, которые признаны лучшими по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов на предварительных заседаниях кафедр управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товароведения, а также экономики и управления фармации.

Представленные участниками тематики охватывали вопросы совершенствования лекарственного обеспечения населения, в т.ч. пациентов с Covid-19, прогнозирования спроса на лекарственные препараты и растительное сырье, разработки оригинальных подходов менеджмента и маркетинга в сфере обращения лекарственных средств.

Приятно, что в работе секционного заседания приняли участие представители медицинских вузов Российской Федерации. Живой интерес вызвали выступления студентов, ординаторов и аспирантов из Самарского, Сибирского, Казанского, Ярославского медицинских университетов. Примечательным является тот факт, что все доклады сопровождались широкой научной дискуссией.

Практическая востребованность результатов представленных докладов была отмечена представителями практического сектора фармации в лице Базаровой Юлии Игоревны - руководителя отдела стратегического маркетинга компании АО «Вертекс». Гости конференции подчеркнули широкую грань возможностей применения научного потенциала молодых ученых, обозначили перспективы исследований и приняли активное участие в выборе наиболее достойных выступлений. При этом эксперты отметили несомненную актуальность и высокий уровень представленных научно-исследовательских работ.

Лучшим признано выступление аспиранта кафедры ФГБОУ АО СамГМУ Минздрава России Широбокова Ярослава Евгеньевича, посвященное вопросам оптимизации лекарственного обеспечения больных с Covid-19. Экспертами компании АО «Вертекс» отмечены также доклад Матлашевской Юлии Вадимовны, в котором были представлены результаты комплексной маркетинговой оценки фармацевтического рынка в сегменте препаратов для лечения кампилобактериоза у детей, и выступление Соловьевой Виктории Антоновны и Бадалян Даниэля Владимировича, посвященное студенческим стартапам.

Надеюсь, что в рамках секции «Фармацевтическая отрасль: тенденции в экономике и управлении» нам удалось сформировать площадку обмена опытом между молодыми учеными, а также создать условия для конструктивного диалога между фармацевтической наукой и практикой. Уверена, что полученные результаты будут полезны всем участникам, а предложенные рекомендации действительно найдут свое применение на современном фармацевтическом рынке!

Модератор секции
Оксана Дмитриевна Немятых,
заместитель заведующего кафедры Управления и экономики фармации,
доктор фармацевтических наук, профессор ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России

УДК 61:615.1

ОТДЕЛЬНОЕ ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕЧЕНИЯ ОСТЕОПЕНИИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Алексеева В.А., аспирант 1 года обучения
Научный руководитель: **Крикова А.В.**, докт. фарм. наук, зав. кафедрой УиЭФ
Смоленский государственный медицинский университет
214019, Смоленск, ул. Крупской, д. 28, Российская Федерация
E-mail: vasilina.alekseeva@pharminnotech.com

В результате проведенного исследования был проведен ретроспективный анализ врачебных назначений пациентам с признаками остеопении до 17 лет, включительно. Сделаны выводы о том, что лечение проводится комплексно, его основой является прием витамина D, доза рассчитывается в зависимости от данных анализов. Рассчитаны затраты на лекарственную терапию и выделен наименее затратный препарат.

Ключевые слова: *дети и подростки, остеопения, витамин D, лечение, фармакоэкономическое исследование, контент-анализ.*

Остеопенический синдром – это патологическое состояние нарушения костной прочности, которое характеризуется снижением минеральной плотности кости и ухудшением ее качества. Наличие остеопении может приводить к остеопорозу – системному заболеванию скелета, проявляющемуся в снижении массы кости и нарушению микроархитоники костной ткани. По данным Международной Организации Остеопороза (IOF), только в России примерно 14 млн. человек (10% населения) имеют соответствующий диагноз, а 20 млн. страдают от симптомов остеопении [1]. Исследования последних лет подтверждают, что одно из лидирующих мест среди патологий у детей и подростков в России занимает остеопенический синдром, который включает в себя различные деформации скелета [2-3]. Лечение и профилактика остеопений у детей требует комплексного подхода, который включает употребление продуктов богатых кальцием: молоко, творог, сливки, сыры, минеральная вода, бобовые; физическую активность, а также прием медикаментов, в частности, витамина D [4].

Целью исследования стал анализ врачебных назначений пациентам с признаками остеопении и проведение контент-анализа препаратов витамина D.

Исследование проводилось ретроспективным методом на основании данных медицинской документации с 2012 по 2021 гг. Было проанализировано 100 медицинских карт пациентов от 0 до 17 лет, включительно, получающих медицинскую помощь в ФГБУ «Федеральном центре травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Министерства Здравоохранения РФ (г. Смоленск). Контент-анализ препаратов витамина D проводился методом описательной статистики на основе справочной документации (Реестр лекарственных средств, февраль 2022). Стоимость ЛП рассчитывалась исходя из цен без скидок и акций в лицензированных аптеках г. Смоленска.

В результате исследования было проанализировано 100 медицинских карт наблюдаемых пациентов, из которых была сформирована группа в составе 44 человека (44% от общего количества), которым был назначен анализ на содержание 25-OH витамина D в крови. Наиболее частыми жалобами являлись различные деформации скелета – 37 случаев (84%) и болевой синдром – 7 случаев (16%). На основании этого, было поставлено 11 диагнозов по МКБ-10, наиболее частые – различные формы плоскостопии и сколиоз.

Важным критерием является возраст первого обращения за медицинской помощью. Наибольшее количество пациентов входит в возрастной промежуток от 0 до 3 лет (рис.1), который является критическим и характеризуется повышенным костным метаболизмом, недостаточным накоплением костной массы при интенсивном увеличении длины тела [5]. Было установлено, что возраст первого обращения у девочек – 3,4±3,3 года, у мальчиков – 4,9±4,5 года. Это подтверждает гендерное различие, связанное с наступлением половой зрелости. Накопление костной массы у девочек наступает раньше, в среднем ±1-2 года от менархе [6].

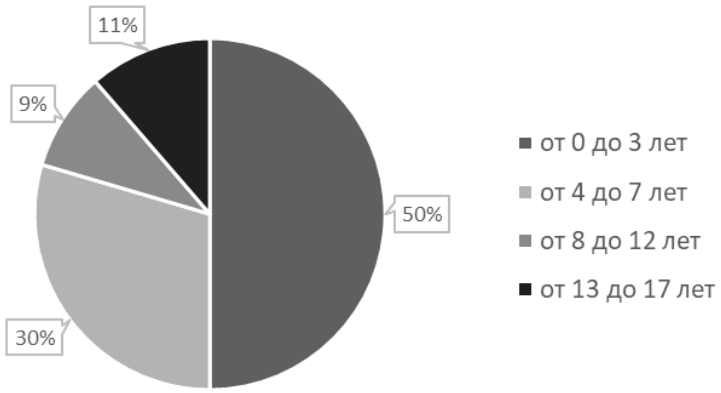


Рисунок 1. Частота первого обращения пациентов с признаками остеопении в разные возрастные периоды

Исходя из данных анализов на содержание 25-ОН витамина D в крови, пациенты были разделены на три группы. При показателе < 20 нг/мл диагностировался дефицит витамина D, при значениях 20-30 нг/мл – недостаточность витамина D. Показатель выше 30 нг/мл считался нормой. На основании этого выделено три схемы приема препаратов витамина D. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Схемы приема витамина D в зависимости от показателя уровня 25-ОН холекальциферола в крови

№ п/п	Показатель уровня 25-ОН холекальциферола	Схема приема:	Количество на курс, кап
1.	< 20 нг/мл – дефицит	8 капель 1 р/день – 1 месяц, затем по 6 капель 1 р/день – 1 месяц, затем по 4 капли 1 р/день – 1 месяца.	540
2.	20-30 нг/мл – недостаточность	4 капли 1 р/день – 2 месяца, затем по 3 капли 1 р/день – 1 месяц.	330
3.	30-100 нг/мл – адекватный уровень	3 капли длительно.	270

Препараты холекальциферола являются основой медикаментозной терапии при остеопении у детей и подростков. Для определения ценового диапазона препаратов витамина D на российском рынке, был проведен контент-анализ «Реестра лекарственных средств». В исследовании рассматривалась лекарственная форма капли для приема внутрь, в дозировке 500 МЕ/кап, разрешенная к применению с рождения. Всего зарегистрировано 4 лекарственных препарата холекальциферола, удовлетворяющих критериям выборки: «Компливит® Аква Д3» (ОАО «Фармстандарт-Лексредства», Россия), 10 и 20 мл; «ДэТриФерол» (ООО «Гротекс», Россия), 15 мл; «Аквадетрим» («ПОЛЬФАРМА», Польша), 10 и 15 мл; «Вигантол» (Лузомедикамента Сосьедаде Текника Фармасеутика, С.А., Португалия), 10 мл. Был проведен расчет затрат на 3-х месячный прием препаратов, для каждого рассчитаны цены в среднем за упаковку и стоимость лечения на курс. Данные представлены в Таблице 2. При расчетах были взяты наиболее распространенные объемы ЛП, представленные в аптеках: «Аквадетрим», 10 мл, и «Компливит® Аква Д3», 10 мл.

Таблица 2 – Ценовой диапазон препаратов витамина D в зависимости от уровня 25-ОН витамина D

№ п/п	Лекарственный препарат	Количество на курс, мл.	Количество упаковок на курс, шт.	Средняя цена за упаковку, руб.	Средняя стоимость курса лечения, руб.
< 20 нг/мл – дефицит, (n=540)					
1.	«Вигантол»	13,5	2	176	352
2.	«Аквадетрим»	16,2	2	201	402
3.	«ДэТриФерол»	16,2	2	259	518
4.	«Компливит® Аква Д3»	16,2	2	161	322
20-30 нг/мл – недостаточность, (n=330)					
1.	«Вигантол»	8,25	1	176	176
2.	«Аквадетрим»	9,9	1	201	201
3.	«ДэТриФерол»	9,9	1	259	259
4.	«Компливит® Аква Д3»	9,9	1	161	161
30-100 нг/мл – адекватный уровень, (n=270)					
1.	«Вигантол»	6,75	1	176	176
2.	«Аквадетрим»	8,1	1	201	201
3.	«ДэТриФерол»	8,1	1	259	259
4.	«Компливит® Аква Д3»	8,1	1	161	161

Примечание: n – количество капель на курс.

Анализ фармацевтического рынка препаратов холекальциферола показал, что, в зависимости от торгового наименования, цены имеют существенные различия. Цена за единицу товара варьируется от 161 до 469 руб. и в среднем составляет 265,3±105,3 руб. Самым затратным препаратом во всех схемах является «ДэТриФерол», самым выгодным – «Компливит Аква Д3».

Кроме медикаментозного лечения каждому пациенту была рекомендована диета с повышенным содержанием кальция, а также назначены различные способы немедикаментозной терапии. Они включали в себя физиотерапевтическое лечение, массаж и умеренную физическую нагрузку.

Исходя из проведенного исследования можно сделать следующие выводы, что лечение остеопении у детей и подростков проводится комплексно, включает в себя медикаментозную и немедикаментозную терапию, основой которой является прием витамина D. Установлено, что возможен подбор лекарственных препаратов холекальциферола в зависимости от ценовой доступности и необходимого объема на курс лечения.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.29.47. Педиатрия
06.00.00. Экономика. Экономические науки

ЛИТЕРАТУРА

1. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA) / E. Hernlund [et al.] // Archives of Osteoporosis. 2013. Vol. 8(1). P.136. doi: 10.1007/s11657-013-0136-1

2. Васильева Т.Г., Максимова О.Г., Кочеткова Е.А. Распространенность остеопенического синдрома и особенности костного метаболизма у здоровых детей Приморского края // Остеопороз и остеопатии. 2006. N 3. С. 11-13. doi: 10.14341/osteo2006311-13

3. Верихов Б.В., Зайцева Н.В., Устинова О.Ю. Остеопенический синдром у детей Пермской области // Экология человека. 2007. N 4. С. 32-35.

4. Новиков П.И. Роль кальция, витамина D и остеотропных минералов в профилактике и лечении остеопороза // Русский Медицинский Журнал. 2019. Т. 1. N 1. С. 15–20.

5. Ефременкова А.С., Крутикова Н.Ю. Патология костной ткани у детей с эндокринными заболеваниями // Вятский медицинский вестник. 2021. Т. 1. N 69. С. 81-87. https://doi.org/10.24411/2220-7880-2021-10158.

6. Фомина Л.А., Зябрева И.А. Гендерные аспекты остеопороза и их связь с кальциевым балансом // Казанский медицинский журнал. 2017. Т.98 N 3. С. 343-348. https://doi.org/10.17750/KMJ2017-343.

SUMMARY

OSTEOPENIA IN CHILDREN AND ADOLESCENTS: A SEPARATE PHARMACOECONOMICAL STUDY

Alekseeva V.A., 1st year post-graduate
Academic advise: **Krikova A.V.**, Doctor of Pharmacy, chairholder of management and economics of pharmacy
Smolensk State Medical University
28, Krupskaya St., Smolensk, 214019, Russian Federation
E-mail: vasilina.alekseeva@pharminnotech.com

As a result of the study, a retrospective analysis of medical prescriptions for patients with signs of osteopenia up to 17 years old, inclusive. Conclusions are drawn that the treatment is carried out in a complex, its basis is the intake of vitamin D, the dose is calculated depending on the data of the 25-OH cholecalciferol analyzes. The costs of drug therapy were calculated and the most profitable drug was selected.

Keywords: *children and adolescents, osteopenia, vitamin D, treatment, pharmacoeconomical research, content analysis.*

REFERENCES

1. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA) / E. Hernlund [et al.] // Archives of Osteoporosis. 2013. Vol. 8(1). P.136. doi: 10.1007/s11657-013-0136-1

2. Vasilyeva T., Maksimova O., Kochetkova E. Prevalence of osteopenic syndrome and features of bone metabolism in healthy children of Primorsky Krai // Osteoporosis and osteopathies. 2006. N 3. P. 11-13. (in Russian) doi: 10.14341/osteo2006311-13

3. Verikhov B., Zaitseva N., Ustinova O. Osteopenic syndrome in children of the Perm region // Human ecology. 2007. N 4. P. 32-35. (in Russian)

4. Novikov P.I. The role of calcium, vitamin D and osteotropic minerals in the prevention and treatment of osteoporosis // Russian Medical Journal. 2019. Vol. 1(1). P. 15-20. (in Russian)

5. Efremenkova A., Krutikova N. Pathology of bone tissue in children with endocrine diseases // Vyatka medical Bulletin. 2021. Vol. 1(69). P. 81-87. (in Russian) doi: 10.24411/2220-7880-2021-10158

6. Fomina L., Zyabreva I. Gender aspects of osteoporosis and their relationship with calcium balance // Kazan Medical Journal. 2017. Vol. 98(3). P.343-348. (in Russian) doi: 10.17750/KMJ2017-343

УДК 616.24

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПОДХОДОВ К ЛЕЧЕНИЮ ДЕТЕЙ С COVID-19 (НА ПРИМЕРЕ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН)

Алмас С.А., Бидан Н.М., Болат Б.Б., магистранты 1 года обучения
НАО «КазНМУ» им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы, Казахстан,
Научные руководители: **Серикбаева Э.А.**, PhD, лектор кафедры ОУЭФиКФ НАО «КазНМУ» им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы, Казахстан, **Датхаев У.М.**, д.фарм.н.,
профессор кафедры ОУЭФиКФ НАО «КазНМУ» им. С.Д. Асфендиярова, г.Алматы, Казахстан,
050000, г. Алматы, ул. Толе Би 94, Казахстан
Немятых О.Д., д.фарм.н., профессор кафедры УЭФ СПХФУ,
197376 г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова 14, Российская Федерация
E-mail: sara25_01@mail.ru, nur.bi@mail.ru, bolatkyzybalgyn@gmail.com

В работе представлен профиль пациента в условиях стационарного лечения детей с COVID-19 на примере Туркестанской области. Показано, что наиболее уязвимая группа для возникновения и развития патологии средней степени тяжести представлена детьми в возрасте от 3 до 18 лет (74,00% генеральной совокупности). Показано, что расширение национальных клинических рекомендации с учетом зарубежного опыта, а также регистрация новых лекарственных средств, соответствующих современному уровню развития медицины и фармации, представляет собой один из векторов совершенствования лекарственного обеспечения детей с COVID-19 в Республике Казахстан.

Ключевые слова: *лекарственное обеспечение, педиатрия, COVID-19.*

Введение. Пандемия COVID-19, вызванная коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2), является серьезным испытанием для систем общественного здравоохранения всех современных государств. Одним из факторов, определяющих клиническое проявление и исходы COVID-19, является возраст пациента. В течение первых месяцев пандемии COVID-19 сложилось мнение, что у детей это заболевание, как правило, протекает в легкой форме и не приводит к летальному исходу. Однако по мере накопления новых сведений стала очевидной возможность тяжелого течения COVID-19 у детей, приводящего к развитию патологии. С начала текущего года число заболевших в г. Алматы превысило 22 тысячи, с начала пандемии зарегистрировано более 40 тысяч случаев, из них 180 новорожденных: 26 тысяч – симптоматических и 14 тысяч – бессимптомных.

При этом, судя по статистике, количество болеющих детей в Казахстане балансирует в коридоре от 7,7% до 10,7% (от общего числа регистрируемых случаев ежемесячно) [1,2,3].

Целью работы было провести сравнительную оценку подходов к лечению детей с COVID-19 на примере Республики Казахстан.

Основная часть. В соответствии с возрастными периодами детства пациенты были распределены на пять групп (таблица 1). Установлено, что на стационарном лечении находились преимущественно дети III и IV возрастных периодов, что в значительной степени обусловлено тяжестью течения заболевания у данной категории пациентов. Распределение пациентов по гендерному признаку выявило незначительное превалирование мальчиков в структуре заболеваемости. В исследуемой выборке пациентов мальчики составили 52%, девочки – 48%. Все наблюдаемые больные переносили среднетяжелую форму.

Таблица 1 – Распределение по возрастным периодам (по данным Туркестанской области)

Возрастной период	Границы возрастного периода	Удельный вес в выборке, %	Продолжительность лечения, сут
I	до 1 года	14,0%	8,28
II	1-3 лет	12,0%	7,83
III	3-7 лет	32,0%	7,56
IV	7-12 лет	18,0%	6,11
V	12-18 лет	24,0%	8,25

На сегодняшний день в Казахстане разработан «Клинический протокол диагностики и лечения коронавирусной инфекции COVID-19 у детей» [4]. В качестве объекта сравнения использованы «Клинический протокол лечения детей с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19)» находящихся на стационарном лечении в медицинских организациях государственной системы здравоохранения города Москвы, а также рекомендации по лечению COVID-19 у детей США [5,6].

Сравнительный анализ показал, что ряд международных непатентованных наименований (МНН) не обозначен в национальных документах. Так, в рамках группы ингибиторы нейраминидазы и РНК-полимеразы в исследуемых клинических рекомендациях (КР) не представлен осельтамивир и ремдесевир. Кроме того, в КР отсутствуют 57% МНН, отнесенных к антисинегнойным бета-лактамам, а именно цефоперазон/сульбактам, цефепим/сульбактам, цефотаксим/сульбактам, ципрофлоксацин. В рамках категории антикогулянтов в протоколе лечения не обозначен далтепарин натрия, так как он не зарегистрирован в РК. Важно подчеркнуть, что в казахских КР отсутствуют карбапенемы и аминогли-

козиды нетилмицин и фосфомицин. При этом стоит отметить, что рекомендации США охватывают исключительно применение ремдесевира, тоцилизумаба и кортикостероидов (Таблица 2).

Обращает на себя внимание тот факт, что 5 лекарственные препараты , назначаемых в рамках схем лечения за рубежом, не зарегистрированы в РК, из них 2 являются комбинированными лекарственными средствами в фиксированных дозировках с однократным приемом.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика ассортимента лекарственных средств, рекомендуемых лечения детей с COVID-19

Группа ЛС	МНН	РК	РФ	США	Наличие регистрации ЛС в РК
Ингибитор нейраминидазы.	осельтамивир	-	+	-	+
Ингибитр РНК-полимеразы	ремдесевир	-	-	+	+
Кортикостероиды	метилпреднизолон	+	+	+	+
	дексаметазон	+	+	+	+
	преднизолон	+	+	-	+
Внутривенный иммуноглобулин	иммуноглобулин человека нормальный	+	+	-	+
Антитела моноклональные	тоцилизумаб	+	+	+	+
Антикоагулянты	далтепарин натрия	-	+	-	-
	гепарин натрия	+	+	-	+
Противоинфекци онные препараты. Пенициллины	амоксициллин	+	+	-	+
	амоксициллин/ клавулановая кислота	+	+	-	+
Антибактериальные средства. Цефалоспорины	цефтриаксон	+	+	-	+
	цефотаксим	-	+	-	+
	цефепим	+	+	-	+
	цефтаролина фосамил	-	+	-	+
Антисинегнойные бета-лактамы	цефоперазон/ сульбактам,	-	+	-	-
	цефепим/ сульбактам	-	+	-	+
	пиперациллин/ тазобактам	+	+	-	+
	меропенем	+	+	-	+
	имипенем/ циластатин	+	+	-	+
	цефотаксим/ сульбактам	-	+	-	-
	ципрофлоксацин	-	+	-	+
Антибактериальные средства. Карбапенемы	эртапенем	-	+	-	+
Противомикробные препараты. Оксазолидиноны	линезолид	+	+	-	+
Аминогликозиды	нетилмицин	-	+	-	-
	амикацин	+	+	-	+
	фосфомицин	-	+	-	+
	инфликсимаб	+	-	-	+
Иммунодепрессанты	анакинра	+	-	-	-
Анальгетики – антипиретики	ацетилсалициловая кислота	+	-	-	+

Заключение. Таким образом, дети составляют основной трансмиссивный потенциал для продолжения пандемии. Стоит отметить, что расширение национальных клинических рекомендации с учетом зарубежного опыта, а также регистрация новых лекарственных средств, соответствующих современному уровню развития медицины и фармации, представляет собой один из векторов совершенствования лекарственного обеспечения детей с COVID-19 в Республике Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

1. Preparing your intensive care unit for the second wave of H1N1 and future surges / S. Hota [et al.] // Crit Care Med. 2010. Vol. 38(4) P. e110–9. /doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181c66940

2. An integrated emergency department/hospital at home model in mild COVID-19 pneumonia: feasibility and outcomes after discharge from the emergency department / P. Llorens [et al.] // Intern Emerg Med. 2021. Vol. 16. P. 1673–82. doi.org/10.1007/s11739-021-02661-8

3. Фармакоэкономические аспекты лечения COVID-19 / И.В. Рогова [и др.] // ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2021. Т. 14 N 3. С. 357–364. doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2021.086

4. Клинический протокол диагностики и лечения коронавирусные инфекции COVID-19 у детей / Министерство здравоохранения Республики Казахстан. [Internet]. URL: https://semeymedicaluniversity.kz/wp-content/uploads/2020/11/klinicheskiy-protokol-diagnostiki-i-lecheniya-kvi-covid-19.pdf (дата обращения 03.03.2022).

5. Хрипун А. И. (Председатель), Анциферов М. Б., Белевский А. С. Клинический протокол лечения детей с новой коронавирусной инфекцией. [Internet]. URL: https://niioz.ru/upload/iblock/6d8/6d8e951fb4f8033881ce6cdbfb8e716d.pdf (дата обращения: 04.03.2022).

6. CHKD Treatment Guideline for COVID-19 in Children. [Internet]. URL: https://www.chkd.org/uploadedFiles/Documents/COVID-19/CHKD%20COVID%2019%20treatment%20guideline.pdf (дата обращения: 04.03.2022).

SUMMARY

COMPARATIVE ASSESSMENT OF APPROACHES TO THE TREATMENT OF CHILDREN WITH COVID-19 (ON THE EXAMPLE OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN)

Almas S.A., Bidan N.M., Bolat B.B., master students 1 year of study,
NTC «KazNMU» named after S.D.Asfendiyarov, Almaty, Kazakhstan,
Academic advisor: **Serikbaeva E.A**. PhD, lecturer of the department of OMEPaCP NTC «KazNMU» named after S.D. Asfendiyarov, Almaty, Kazakhstan, **Datkhaev U.M.** PharmD., Professor of the department of OMEPaCP NTC «KazNMU» named after S.D.Asfendiyarov, Almaty, Kazakhstan,
050000, 94 Tole bi street, Almaty, Kazakhstan
Nemyatyh O.D., PharmD, Professor of the department of MEP SPCPU,
14, Prof. Popova St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: sara25_01@mail.ru, nur.bi@mail.ru, bolatkyzybalgyn@gmail.com

The paper presents a patient profile in the conditions of inpatient treatment of children with COVID-19 on the example of the Turkestan region. It is shown that the most vulnerable group for the occurrence and development of pathology of moderate severity is represented by children aged 3 to 18 years (74.00% of the general population). It is shown that the expansion of national clinical recommendations taking into account foreign experience, as well as the registration of new medicines corresponding to the current level of development of medicine and pharmacy, is one of the vectors of improving the drug provision of children with COVID-19 in the Republic of Kazakhstan.

Keywords: *drug provision, pediatrics, COVID-19*.

REFERENCES

1. Preparing your intensive care unit for the second wave of H1N1 and future surges / S. Hota [et al.] // Crit Care Med. 2010. Vol. 38(4) P. e110–9. /doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181c66940

2. An integrated emergency department/hospital at home model in mild COVID-19 pneumonia: feasibility and outcomes after discharge from the emergency department / P. Llorens [et al.] // Intern Emerg Med. 2021. Vol. 16. P. 1673–82. doi.org/10.1007/s11739-021-02661-8

3. Pharmacoeconomical aspects of COVID-19 treatment / I.V. Rogova [et al.] // PHARMACOECONOMICS. Modern pharmacoeconomics and pharmacoepidemiology. 2021. Vol. 14(3). P. 357–364. doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2021.086 (in Russian)

4. Clinical protocol for the diagnosis and treatment of COVID-19 coronavirus infections in children. Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan. [Internet]. URL: https://semeymedicaluniversity.kz/wp-content/uploads/2020/11/klinicheskiy-protokol-diagnostiki-i-lecheniya-kvi-covid-19.pdf (date of treatment: 03.03.2022). (in Russian)

5. Khripun A. I. (Chairman), Antsiferov M. B., Belevsky A. S. Clinical protocol for the treatment of children with a new coronavirus infection. [Internet]. URL: https://niioz.ru/upload/iblock/6d8/6d8e951fb4f8033881ce6cdbfb8e716d.pdf (date of treatment: 04.03.2022). (in Russian)

6. CHKD Treatment Guideline for COVID-19 in Children. [Internet]. URL: https://www.chkd.org/uploadedFiles/Documents/COVID-19/CHKD%20COVID%2019%20treatment%20guideline.pdf (date of treatment: 04.03.2022).

УДК 615.12

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА FMEA ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ФОРМЕ СУХИХ ПОРОШКОВ ДЛЯ ИНГАЛЯЦИИ

Алхутова И.М., магистрант 2 года обучения
Научный руководитель: **Венгерович Н.Г.** д.м.н., профессор кафедры промышленной экологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: inna.drachkova@spcpu.ru

Одним из важных элементов для развития и совершенствования научно-исследовательских центров является не только избегание экологических рисков, но и предвидение, и снижение их до минимального уровня на всех этапах научного исследования нового лекарственного препарата. Рассмотрена возможность применения метода Failure Mode and Effect Analysis (FMEA) при проведении экспериментальных исследований лекарственных средств в форме сухих порошков для ингаляции.

Ключевые слова: *метод FMEA, экологические риски, экспериментальные исследования лекарственных средств, сухие порошки для ингаляции, система экологического менеджмента (СЭМ), риск.*

Отходы и выбросы фармацевтического производства образуются на протяжении всего жизненного цикла лекарственного средства от разработки до утилизации просроченных фармацевтических продуктов. Лекарственные субстанции и их активные метаболиты постоянно поступают в окружающую среду через необработанные канализационные стоки или вытяжные шкафы в атмосферный воздух. Неконтролируемое поступление физиологически активных веществ в окружающую среду может приводить к возникновению негативного влияния на экосистемы и человека. Всё это дает развитие дополнительного направления в изучении путей утечки, загрязнения окружающей среды и расчетов экологический рисков на стадии разработки фармакологических препаратов, в также усовершенствованию системы соответствующих законодательных и нормативно-правовых актов.

Известно, что на сегодняшний день на фармацевтических производствах успешно применяются методы производственного экологического контроля и экологического менеджмента как наиболее эффективный способ достижения конкретных результатов в области охраны окружающей среды. Система экологического менеджмента (СЭМ) позволяет организации-производителю лекарственных средств решать основные задачи, и ее принято рассматривать как неотъемлемую часть общей системы менеджмента [1]. Однако важным вопросом остается разработка метода предотвращения и снижения нежелательных последствий на окружающую среду при проведении экспериментальных исследований на стадии разработки новых лекарственных средств в научно-исследовательских институтах и центрах.

Известно, что на сегодняшний день для оценки экологических рисков и анализа потенциально опасного влияния на окружающую среду используют метод Failure Mode and Effect Analysis (FMEA) в производственных процессах фармацевтической отрасли [2].

Цель исследования – изучение возможности применения метода расчета анализа видов и последствий потенциальных отказов (FMEA) на примере проведения экспериментальных исследований безопасности лекарственных средств в форме сухих порошков для ингаляции.

В соответствии с целью исследования были определены его задачи:

1. Изучить проблему экологического риска и основные его понятия в научно-исследовательских центрах.
2. Установить возможность применения метода FMEA для анализа экологических рисков при разработке лекарственных средств.

Основная часть.

Под оценкой экологического риска следует определять процесс оценки вероятности возникновения обратимых или необратимых изменений в биогеохимической структуре и функциях экосистем в ответ на антропогенное воздействие.

Таким образом, экологический риск – это вероятность возникновения определенного явления или процесса в промежутке конкретного времени или при конкретных обстоятельствах.

Можно выделить следующие основные аспекты экологической деятельности:

• сокращение выбросов, сбросов, размещение отходов;

• минимизация источников физического воздействия на окружающую среду;

• минимизация использования опасных веществ и материалов, источников образования отрицательного воздействия на окружающую среду и источников образования отходов;

• соблюдение технологических процессов производства работ; предупреждение и сокращение воздействия на окружающую среду;

• повышение безопасности и снижение экологических рисков для персонала и населения;

• соблюдение природоохранных требований, включая экологические требования, установленные предприятием самостоятельно;

• повышение прямой экономической эффективности и потенциальных экономических выгод и преимуществ экологической деятельности;

• демонстрация и распространение результатов и опыта деятельности в области экологического менеджмента;

• развитие инициативной экологической деятельности, не связанной с требованиями действующего законодательства и совершенствование системы экологического менеджмента на предприятиях в целом [3].

FMEA или анализ причин и последствий отказов – метод, широко применяемый в оценке качества процессов и продуктов, предназначен для выявления потенциальных дефектов, причин их возникновения и последствий для конечного потребителя.

Метод FMEA может затрагивать не только отдельные конструкции, но и производственные процессы, функционирование всей системы в целом, а также каждой части по отдельности. Данный метод рассматривается как эффективная методика по снижению рисков, что особенно актуально при исследовании фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов, к которым предъявляются особые требования по безопасности.

FMEA можно применять к оборудованию и помещениям, а также для анализа технологической операции, определяет элементы системы, делающие ее уязвимой. Результаты данного метода могут быть использованы как основа для планирования либо последующего анализа, либо для рекомендаций относительно использования ресурсов [4].

Анализ форм и последствий отказов, используется в качестве одной из мер для системного обнаружения причин, вероятных последствий, а также для планирования возможных противодействий по отношению к отслеживаемым отказам. Это эффективный инструмент повышения качества разрабатываемых технических объектов, направленный на предотвращение дефектов или снижение негативных последствий от них на окружающую среду, что достигается благодаря предвидению дефектов и/или отказов и их анализу, проводимому на этапах проектирования конструкции и исследовательских процессов[5].

Таким образом, цель применения метода FMEA в исследовательских центрах заключается в проактивной оценке и идентификации возможных рисков, устранении нежелательных явлений, которые могут оказать неблагоприятное воздействие на окружающую среду.

Существует два ключевых вида FMEA:

1. Процессный анализ – фокусируется на процессе;

2. Проектный анализ – фокусируется на продукте и его частях. Как первый, так и второй анализ является составной частью методов совершенствования процесса.

При проведении анализа методом FMEA осуществляется: формирование команды экспертов, сбор и изучение исходных данных и сведений о технических характеристиках и требованиях исследовательских процессов; выбор объектов, подлежащих анализу.

Для оценки экологических рисков при разработке фармакологических субстанций и лекарственных препаратов в форме сухих порошков в научно-исследовательском центре необходимо производить компонентный, структурный и функциональный анализы процесса.

Компонентный анализ проводится для выявления частей, из которых состоит данный процесс. В результате анализа строится компонентная модель процесса, представляющая собой список элементов процесса, а также внешних элементов, с которыми взаимодействует процесс – элементов надсистемы (рис. 1). При ее создании используют данные, содержащиеся в технической документации (технологической схеме производства).

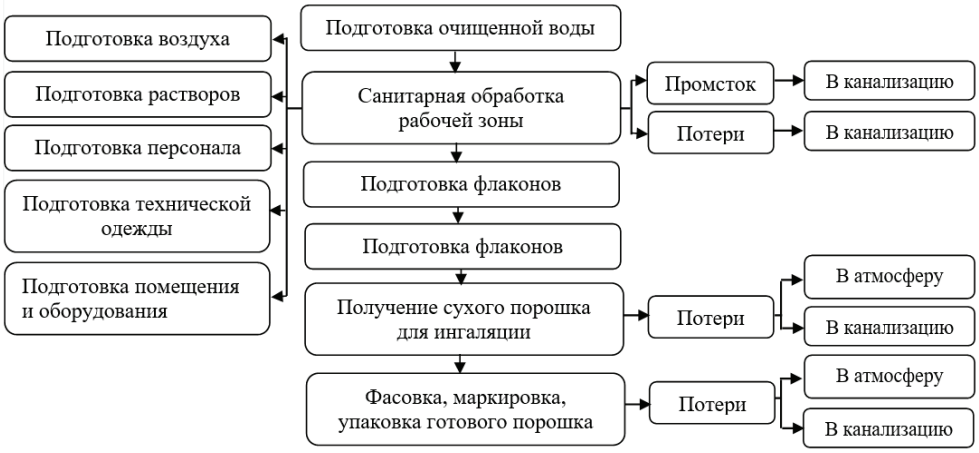


Рисунок 1. Компонентная модель процесса производства

Технологический процесс приготовления твердых частиц сухого порошка для ингаляций отрабатывали в научно-исследовательской лаборатории с использованием распылительной сушки Nano Spray Dryer B-90 (могут применяться аналоги с различной производственной мощностью) (рис. 2). Принцип действия распылительной сушки основан на применении сушильного газа, подаваемого в верхнюю часть аппарата, где он нагревается до определенной температуры и спускается в сушильную камеру, после чего выходит в нижней части камеры. Отходящий воздух предварительно фильтруется перед выходом из аппарата. Жидкий образец лекарственного препарата подает в сушильную камеру с помощью распылительной форсунки с помощью перистальтического насоса.

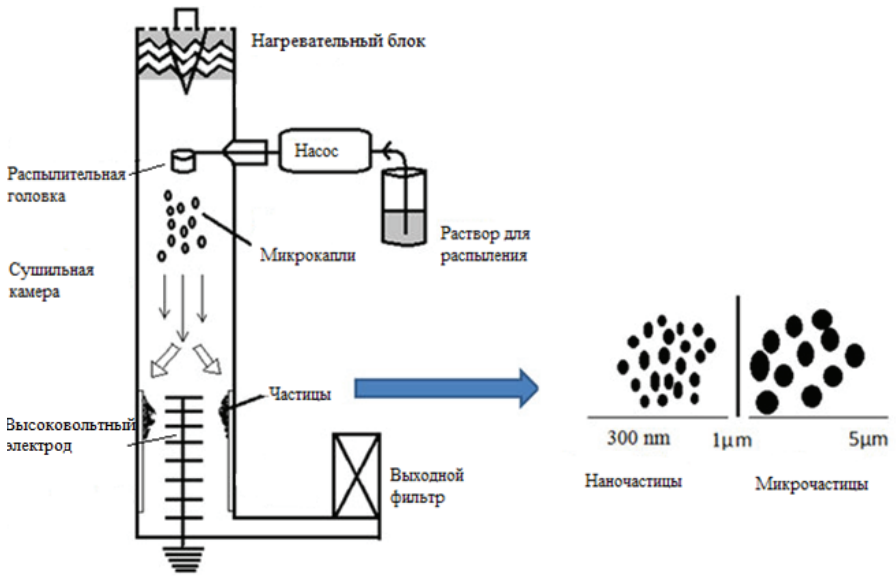


Рисунок 2. Технологическая схема распылительной сушки Nano Spray Dryer B-90

Образование мельчайших частиц образца осуществляется за счет прохождения через вибрирующую перфорированную мембрану из нержавеющей стали. Мембрана имеет отверстия микронного размера (от 4 до 7 мкм). Благодаря вибрации мембраны за одну секунду происходит образование миллионов микроразмерных частиц с очень узким диапазоном распределения по размерам. Полученные частицы высушивали в потоке газа и собираются на электроде.

Данный метод приготовления сухих порошков является эффективным способом производства новых ингаляционных форм лекарственных средств, что обусловлено перспективным направлением научно-исследовательской работы.

Структурный анализ технологического процесса направлен на выявление взаимодействий между компонентами и их соподчиненности (рис. 3).

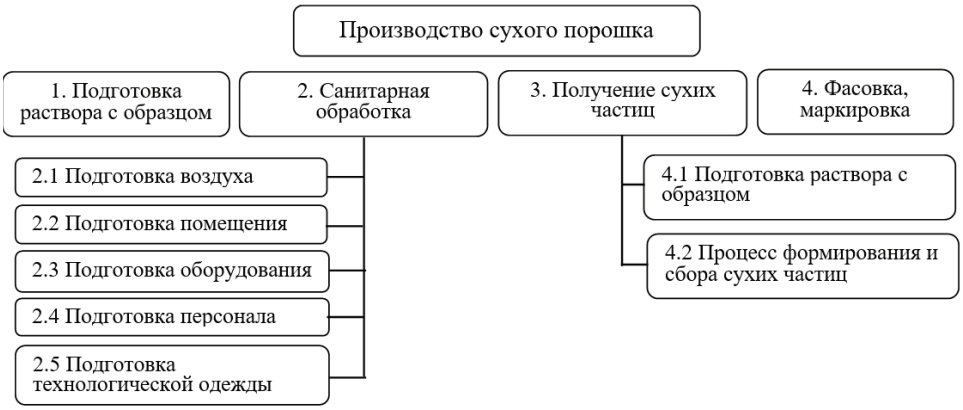


Рисунок 3. Структурная модель производственного процесса

Таким образом, процесс производства сухих частиц включал в себя подпроцессы и микропроцессы, корректность выполнения которых сильно влияло на качество производства в целом. К подпроцессам производства сухих частиц следует отнести:

- подготовку раствора с образцом;
- санитарную обработку помещения и оборудования;
- получение сухих частиц;
- фасовку и маркировку готового порошка.

Производство сухого порошка для ингаляции производили в лаборатории. К участникам производственного процесса относятся: руководитель исследования, научный сотрудник, лаборант-исследователь, вспомогательный персонал.

Функционально-структурная модель процесса производства сухого порошка представлена в виде таблице.

Таблица – Функционально-структурная модель процесса производства сухого порошка

Стадия	Участники процесса (структурные элементы)			
	Руководитель исследования	Научный сотрудник	Лаборант-исследователь	Вспомогательный персонал
Подготовка раствора с образцом		+		
Санитарная обработка				+

Стадия	Участники процесса (структурные элементы)			
	Руководитель исследования	Научный сотрудник	Лаборант-исследователь	Вспомогательный персонал
Подготовка воздуха				+
Подготовка помещения				+
Подготовка оборудования		+	+	
Подготовка персонала	+	+		
Получение сухих частиц		+	+	
Подготовка раствора с образцом		+	+	
Процесс формирования и сбора сухих частиц		+	+	
Фасовка и маркировка готового порошка			+	

Далее на стадии исследования моделей определяли возможные экологические риски, предполагаемые последствия аспектов, потенциальные причины аспектов, количественно оценивали риск, определяли степень контролируемости рисков.

На рисунке 4 представлены возможные экологические риски для процесса производства сухих порошков для ингаляции.

Рисунок 4. Экологические риски производственного процесса

Таким образом, к наиболее значимым экологическим рискам следует отнести залповые выбросы порошка как в атмосферный воздух и канализационные сливы, выбросы паров растворителя, разлив и разбрызгивание растворов с действующим веществом, отходы с фильтрующей ткани и макулатуры. Помимо этого, стоит обратить внимание на истощение водных и энергетических ресурсов при работе на технологическом оборудовании.

Проведение анализа экологических рисков методом FMEA исследовательской деятельности, как правило, процесс трудоемкий, требующий учета многих факторов. Помимо этого, для правильной оценки значимости экологического риска, необходимо знать класс опасности веществ, которые в результате потенциального нежелательного события попадают в окружающую среду.

Заключение

Проведенное аналитическое исследование показало, что применение метода FMEA при планировании экспериментальных исследований фармацевтических субстанций или лекарственных препаратов в виде сухих порошков для ингаляций может способствовать идентификации возможных экологических рисков, которые возникают при нарушении той или иной функции любым из структурных элементов. Далее на стадии исследования моделей следует определять возможные экологические риски, последствия ошибок, их потенциальные причины, выполнять количественную оценку рисков, определять степень контролируемости рисков.

Помимо прочего, метод FMEA позволяет рассчитать наибольший (критический) риск, определить его потенциальные причины, выработать предупреждающие действия по их предотвращению и, таким образом, предупредить затраты на нейтрализацию последствий, что очень важно как с экологической, так и с экономической точки зрения. Суть главной задачи FMEA заключается в трансформации стиля управления из реактивного (посредством корректировок проблем) в проактивный (методом их предупреждения).

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00. Биотехнология

62.01.75. Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование

ЛИТЕРАТУРА

1. Савина В.О. Идентификация и ранжирование экологических аспектов организаций // Методы менеджмента качества. 2010. N 4. С. 30–33.
2. Приймака Е.В. Николаева Н.Г. Применение метода FMEA при анализе экологических рисков фармацевтического предприятия // Мет. менедж. Качества. 2011. N 11. С. 22–30.
3. Гавриленко Т.Ю., Григоренко О.В., Ткаченко Е.К. Управление корпоративными рисками в рамках соответствия критериям рейтингов ESG // Журнал прикладных исследований. 2021. Т.1. N 5. С. 23-26.
4. Никитченко В.Е., Рысцова Е.О., Чернышева А.Н. Анализ и предупреждение рисков при изготовлении лабораторных микробиологических питательных сред методом FMEA // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2019. Т. 14. N 1. С. 90-98
5. Антипов Д.В., Буркова В.А. Совершенствование метода FMEA – анализа для оценки рисков // Дневник науки. 2019. N 5. С. 79–86.

SUMMARY

APPLICATION OF THE FMEA METHOD FOR ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT IN EXPERIMENTAL STUDIES OF THE SAFETY OF DRUGS IN THE FORM OF DRY POWDERS INHALATION

Alhutova I.M., 2nd year post-graduate student.
Academic advise: **Vengerovich N.G.** Doctor of medical sciences, professor of the department of industrial ecology
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: inna.drachkova@spcpu.ru

One of the important elements for the development and improvement of research centers is not only the avoidance of environmental risks, but also the anticipation and reduction of them to a minimum level at all stages of scientific research of a new drug. The possibility of using the Failure Mode and Effect Analysis (FMEA) method in experimental studies of drugs in the form of dry powders for inhalation is considered.

Keywords: *FMEA method, environmental risks, experimental studies of drugs, dry powders for inhalation, environmental management system (EMS), risk.*

REFERENCES

1. Savina V.O. Identification and ranking of environmental aspects of organizations // Quality Management Methods. 2010. N 4. P. 30-33. (in Russian)
2. Priymaka E.V. Nikolaeva N.G. Application of FMEA method in the analysis of environmental risks of pharmaceutical enterprise / Met. Quality. 2011. N 11. P. 22-30. (in Russian)
3. Gavrilenko T.Y., Grigorenko O.V., Tkachenko E.K. Management of corporate risks as part of compliance with ESG rating criteria // Journal of Applied Research. 2021. Vol. 1(5). P. 23-26. (in Russian)
4. Nikitchenko V.E., Rystsova E.E., Chernysheva A.N. Analysis and prevention of risks in the manufacture of laboratory microbiological nutrient media by FMEA / Bulletin of Peoples' Friendship University of Russia. Series: Agronomy and animal husbandry. 2019. Vol. 14(1). P. 90-98 (in Russian)
5. Antipov D.V., Burkova V.A. Improvement of FMEA-analysis method for risk assessment // Diary of Science. 2019. N 5. P. 79-86. (in Russian)

УДК 615.12.254:614.27:616.4

РЫНОК ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Андриашвили Т.М., студ. 3 года обучения (ORCID: 0000-0002-0983-666),
Соколова А.А., студ. 4 года обучения (ORCID: 0000-0002-5116-8458), **Фомичев Е.А.**, студ. 3 года обучения, (ORCID: 0000-0003-1837-4337), **Пустынников В.Э.**, студ. 3 года обучения (ORCID: 0000-0001-9561-5320)
Руководитель: **Куркин Д.В** д.фарм.н., доцент (ORCID: 0000-0002-1116-3425)
ФГБОУ ВО Волгоградский Государственный Медицинский университет
400066, Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1, Российская Федерация
E-mail: tamuna.andriashvili@yandex.ru

В результате проведенного исследования были получены данные о состоянии рынка гипогликемических препаратов Российской Федерации. Были сделаны выводы о том, что препараты метформина и производных сульфонилмочевины доминируют в фармакотерапии сахарного диабета и выборе пациентов.

Ключевые слова: *сахарный диабет, фармацевтический рынок, инсулин, ингибиторы ДПП-4, аГПП-1, иНГЛТ2, производные сульфонилмочевины, метформин.*

По данным аналитических компаний российский фармацевтический рынок является динамично развивающимся и расширяющимся. Учитывая число пациентов с диагнозом сахарный диабет, мы сочли целесообразным проанализировать структуру и объем рынка гипогликемических лекарственных средств.

В данной работе предпринята попытка проведения анализа аптечных продаж гипогликемических лекарственных средств на территории РФ за 2019 и 2020 годы, что позволяет обозначить тренд в потреблении пациентами сахароснижающих препаратов.

Задачами данного исследования являлись:

1. Оценка объема и динамики рынка анализируемых препаратов;
2. Обозначение проблемы большой доли метформина и производных сульфонилмочевины на рынке;
3. Обозначение необходимости модернизации существующих препаратов.

Основная часть

Современная фармакотерапия сахарного диабета включает в себя препараты, относящиеся к 9 фармакотерапевтическим группам различного ценового диапазона (рису. 1 и рис. 2), лекарственных форм. Точный объём такого масштабного фармацевтического рынка, как российский, подсчитать не представляется возможным ввиду наличия объективных причин.

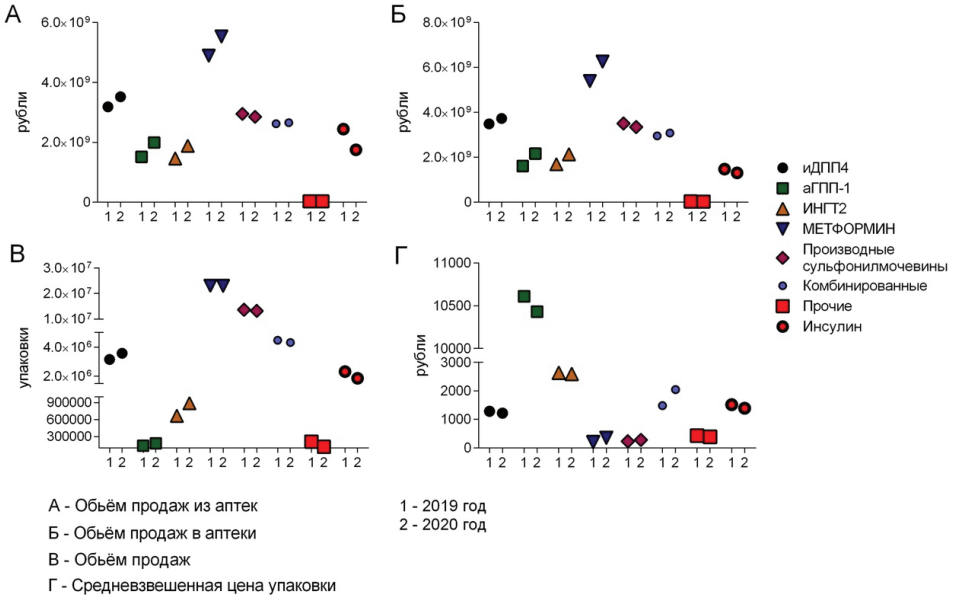


Рисунок 1. Обзор рынка гипогликемических лекарственных средств, сумма продаж гипогликемических ЛС в упаковках (А), рублях в аптеки (Б), рублях из аптеки (В) и средняя цена закупки ЛС в аптеку (Г)

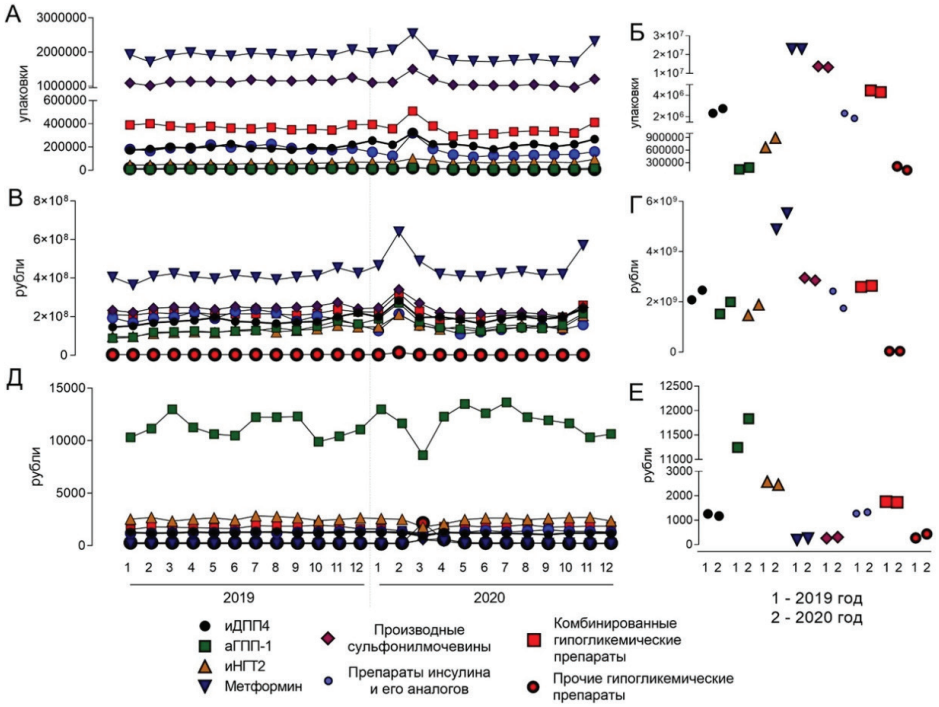


Рисунок 2. Обзор рынка гипогликемических лекарственных средств, сумма продаж гипогликемических ЛС в упаковках (А), рублях в аптеки (Б), рублях из аптеки (В) и средняя цена закупки ЛС в аптеку (Г) в другой вариации

С пониманием патофизиологии СД2 (сахарный диабет 2го типа) изменилось представление патогенеза диабета и его таргетные точки (точки терапии). Согласно последним рекомендациям основной целью современной фармакотерапии является не столько установление эффективного гликемического контроля, сколько профилактика сердечно-сосудистых осложнений СД2 – основной причины снижения качества жизни (риск ампутации), временной и постоянной утраты трудоспособности, смерти [1].

Безопасность применения гипогликемических препаратов в настоящее время является важнейшим их качеством. Развитие гипогликемических состояний, в том числе в результате проведения терапии препаратами сахароснижения, действие которых не зависит от уровня глюкозы в крови, может приводить к развитию жизнеугрожающих состояний, поскольку гипогликемия запускает контринсулярную ось и секрецию адреналина, что в условиях эндотелиальной дисфункции (отмечается уже на ранних сроках заболевания) значительно повышает риск развития сердечно-сосудистых осложнений. Если применять некоторые из этих препаратов неправильно или небрежно, могут возникать критические состояния (гипогликемия). Многие препараты для лечения СД2 не безопасны, учитывая специфику заболевания (сниженная когнитивная функция, депрессия, материальные проблемы). Все это вызывает снижение приверженности к лечению, неадекватное применение противодиабетических лекарственных средств, неадекватный контроль эффективности проводимой терапии (пациенты не измеряют уровень глюкозы в крови и не контролируют тем самым эффективность лечения и не подбирают дозы, не корректируют её) [2,3,4].

Материалы и методы

Исследование рынка гипогликемических лекарственных препаратов (ЛП) было проведено по объему продаж за 2019 и 2020 годы, анализируя данные, предоставленные аналитическими компаниями [5].

Результаты и обсуждение

Всего за 2019 и 2020 годы из аптек было реализовано около свыше 93 млн. упаковок гипогликемических лекарственных средств на сумму свыше 37 083 млн. рублей.

Ингибиторы ДПП-4 (дипептидилпептидазы – 4) за 2019 и 2020 годы были реализованы в количестве, более 6 800 тысяч упаковок на сумму более 7 356 млн. рублей от дистрибьюторов и на 6 829 млн. рублей из аптек. Средняя цена препаратов данной группы составила более 1 422 р. за упаковку.

Инсулин и его аналоги реализованы аптекам на сумму более 2 826 млн. р. и более чем на 4 243 млн. р. населению. Всего препаратов инсулина за 2019 и 2020 годы было продано 4 812 763 упаковок, средняя цена которых составила 1 531,65 р.

Препараты группы аГПП-1 (агонисты глюкагоноподобного пептида – 1) за 2019 и 2020 годы были реализованы в количестве 319 562 упаковок на сумму свыше 3 777 млн. р. для аптек и свыше 3 510 млн. р. для потребителей. Средняя цена за одну упаковку составила 11 558,64 рублей.

Препараты группы иНГЛТ2 (ингибиторы натрий-глюкозного котранспортёра 2 типа) за 2019 и 2020 годы были реализованы в количестве свыше 1 652 упаковок на сумму свыше 3 594 млн. р. для аптек и свыше 4 111 млн. р. для потребителей. Средняя цена за одну упаковку составила 2 724,49 рублей.

Препараты, относящиеся к производным сульфонилмочевины, были реализованы за 2019 и 2020 годах в количестве свыше 33 млн. упаковок на сумму свыше 7 701 млн. и свыше 9 077 млн. рублей для аптек и пациентов соответственно, а средневзвешенная цена данных препаратов составила 288 рублей.

Монопрепараты метформина были проданы в количестве свыше 45 млн. упаковок на сумму свыше 11 647 млн. и свыше 10 414 млн. р. для аптек и пациентов соответственно. А его комбинации в количестве свыше 8 млн. в натуральном, свыше 5 935 млн. и свыше 5 149 млн. в денежном выражении для аптек и пациентов соответственно. Средняя цена для препарата метформин составляла 217,69 рубля, а для его комбинаций составила 1 401,09 рублей.

Большую часть рынка гипогликемических средств занимает коммерческий сектор. Лидирующие препараты, в первую очередь, находятся в ценовом сегменте до 500 рублей за упаковку. Именно средства, стоящие меньше этой суммы, составляют основу фармацевтического рынка СД. К ним относятся препараты производных сульфонилмочевины и метформина.

Стоит отметить, что метформин может плохо переносится или мототерапия данным препаратом становится неэффективной в достижении целевых уровней глюкозы в крови, но именно он является широкораспространенным. Производные сульфонилмочевины принимаются внутрь при потреблении пищи, однако такие особенности часто пренебрегаются, и эффективность сахароснижающей терапии со временем снижается. Так же существует высокий риск возникновения гипогликемии, увеличения веса и иногда сердечно-сосудистых осложнений, что является отрицательным моментом.

Инсулин и его аналоги также занимают значительное место, как в государственном, так и в коммерческом сегменте рынка, хотя эти препараты включены в список ЖНВЛП. Это свидетельствует о значительной нехватке льготного обеспечения этими препаратами, отсутствии правового статуса льготного обеспечения (инвалидности), проблемах с включением в список учета и выпиской лекарственного средства, физическим отсутствием препаратов для льготного обеспечения или неудовлетворенности теми средствами, которые пациент получает.

Ингибиторы ДПП-4 замыкают четверку лидеров закупки, которые образуют основной ассортимент, как коммерческого, так и государственного сектора гипогликемических лекарственных средств. Они являются эффективной и часто назначаемой группой сахароснижающих препаратов у пациентов с СД. Но их применение сопряжено с рядом недостатков. Используются только в комплексной терапии, отмечается низкая эффективность у многих пациентов. Таким образом, они уступают синтетическим аГПП-1 и ингибиторам SGLT2, но более безопасны производных сульфонилмочевины и метформина и занимают срединное место среди всех препаратов рынка гипогликемических препаратов.

Наиболее перспективные, эффективные и безопасные гипогликемические препараты – синтетические аГПП-1 и ингибиторы иНГЛТ2 были реализованы в меньшем количестве товарных единиц. Очевидно, это связано с их высокой стоимостью, неудобной лекарственной формой и относительной новизной. Однако преимущества данных препаратов состоит в сниженной вероятности развития осложнений (почечная недостаточность, гипогликемия). Назначаются пациентам с сердечно-сосудистыми заболеваниями. У этих препаратов отмечается эффективное снижении глюкозы, снижении массы тела и аппетита, кардио- и нефропротекция, высокий профиль безопасности. Недостатками являются ограниченная доступность, усиление гликозурии и, вследствие несоблюдения гигиены, возникновение урогенитальных инфекций.

Как в развивающихся, так и в развитых странах стоимость является неотъемлемой частью оценки лекарственного средства и часто отражается в клинических руководствах или рекомендациях. Для такого широко распространенного состояния, как СД, определение оптимальных и экономически эффективных подходов к лечению имеет важное значение. В целом препараты инсулина, иНГЛТ-2, иДПП-4 и аГПП-1 являются более дорогостоящими, чем метформин и ПСМ. Безусловно, новые препараты для лечения СД играют важную роль и могут быть подходящими в качестве дополнительных препаратов в определенных группах населения с более высоким риском сердечно-сосудистых осложнений с учетом доступности и стоимости. Тем не менее, в регионах, где ресурсы ограничены, требуется прагматичный подход и ПСМ сохраняет свою значимость.

Заключение

Основу российского рынка гипогликемических средств составляют препараты, содержащие метформин и производные сульфонилмочевины стоимостью до 500 рублей. Исходя из представленных данных, можно сделать вывод о востребованности новых лекарственных средств, проработки и создании аналогов, модернизации существующих препаратов без увеличения в стоимости и необходимости внедрения их на фармацевтический рынок РФ.

Главной проблемой СД является не столько повышенный уровень сахара в крови (хоть это и основополагающий фактор), сколько последствия и осложнения данного заболевания (нефропатии, кардио- и ангиопатии, невропатии и тп). В современных рекомендациях терапии гипергликемии указывается необходимость протекции органов, более подверженных воздействию избытка глюкозы. Препараты иНГЛТ-2, иДПП-4 и аГПП-1 в этом моменте оказывают необходимые эффекты (в т.ч гипогликемический), что указывалось выше в тексте. Однако экономическое положение основной части населения, учитывая так же, что СД является хроническим заболеванием, не позволяют покупать препараты данных групп, вследствие высокой цены. И все же проблема остается важной и значимой. Препараты метформина и ПСМ не смогут обеспечить пациентам этой защиты, но дешевизна склоняет к выбору в их сторону. Модернизация гипогликемических препаратов должна быть направлена на объединении этих двух факторов: доступная цена и протекция. Информирование врачей о новых группах гипогликемических препаратов, модернизированных препаратах и профессиональная консультация пациентов в отношении более перспективных лекарств так же необходима для улучшения состояния больных. Именно этим объясняется необходимость в новых препаратах, новых улучшениях и инновациях.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.00 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Эпидемиология сахарного диабета в российской федерации: что изменилось за последнее десятилетие? / М.В. Шестакова [и др.] // Терапевтический архив. 2019. Т. 91. N 10. С. 4-13.

2. Система инкретинов как перспективная фармакологическая мишень для сахароснижающей терапии / Д.В. Куркин [и др.] // Фарматека. 2016. Т. 318. N 5. С. 45-50.

3. Нейропротективные свойства инкретиномиметиков при ишемии головного мозга и нейродегенеративных заболеваниях / И.Н. Тюренков [и др.] // Проблемы эндокринологии. 2017. Т. 63. N 1. С. 58-67.

4.. Сравнение гипогликемической активности нового агониста GPR119 и ингибитора ДПП-4 ситаглиптина / И.Н. Тюренков [и др.] // Проблемы эндокринологии. 2016. Т. 62. N 1. С. 38-43.

5. Аналитические отчеты. DSM Group. [Электронный ресурс]. URL: https://www.dsm.ru/marketing/free-information/analytic-reports/ (Дата обращения: 01.04.2021)

SUMMARY

MARKET OF HYPOGLYCEMIC DRUGS

Andriashvili T.M., 3rd year student (ORCID: 0000-0002-0983-666),
Sokolova A.A., 4th year student (ORCID: 0000-0002-5116-8458), **Fomichev E.A.**, 3rd year student (ORCID: 0000 -0003-1837-4337), **Pustynnikov V.E.**, 3rd year student (ORCID: 0000-0001-9561-5320)
Academic advise: Kurkin D.V. Doctor of Pharmacy, docent (ORCID: 0000-0002-1116-3425)
Volgograd State Medical University
400066, Volgograd, Fallen Fighters Square, 1, Russian Federation
E-mail: tamuna.andriashvili@yandex.ru

As a result of the study, data were obtained on the state of the market for hypoglycemic drugs in the Russian Federation. It was concluded that metformin and sulfonylurea drugs dominate the pharmacotherapy of diabetes mellitus and patient selection.

Keywords: *diabetes mellitus, pharmaceutical market, insulin, DPP-4 inhibitors, GLP-1 antagonists, SGLT2, sulfonylurea derivatives, metformin.*

REFERENCES

1. Epidemiology of diabetes mellitus in the Russian Federation: what has changed over the past decade? / M.V. Shestakova [et al.] // Therapeutic archive. 2019. Vol. 91(10). P. 4-13. (in Russian)
2. The incretin system as a promising pharmacological target for hypoglycemic therapy / D.V. Kurkin [et al.] // Farmateka. 2016. Vol. 318(5). P. 45-50. (in Russian)
3. Neuroprotective properties of incretinomimetics in cerebral ischemia and neurodegenerative diseases / I.N. Tyurenkov [et al.] // Problems of Endocrinology. 2017. Vol. 63(1). P. 58-67. (in Russian)
4. Comparison of the hypoglycemic activity of a new GPR119 agonist and the DPP-4 inhibitor sitagliptin / I.N. Tyurenkov [et al.] // Problems of Endocrinology. 2016. Vol. 62(1). P. 38-43. (in Russian)
5. Analytical reports. DSM Group. [Internet]. URL: https://www.dsm.ru/marketing/free-information/analytic-reports/ (Accessed: 04.01.2021)

УДК 661.12

ОЦЕНКА РОССИЙСКОГО РЫНКА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕПАТИТА С

Атлашева Д.А., маг. 1 год обучения
Научный руководитель: **Трофимова Е.О.**, докт. фарм. наук, проф. (ORCID: 0000-0002-4940-9953)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: atlasheva.darya@spcpu.ru

Современные подходы к лечению хронического вирусного гепатита С (ВГС) предполагают использование безинтерфероновых схем терапии на основе комбинации противовирусных препаратов прямого действия (ППД). Объем российского рынка препаратов для лечения ВГС в 2020 г. составил 9 млрд руб., более половины этого рынка составляют закупки по федеральной программе лечения ВИЧ-инфицированных. В структуре закупок в стоимостном выражении ППД составляют 96%, в то время как в натуральных показателях их доля остается небольшой (15%). Основная часть ППД представлена продукцией зарубежного производства, что снижает их доступность для системы здравоохранения.

Ключевые слова: *вирусный гепатит С, российский фармацевтический рынок, противовирусные препараты прямого действия, интерфероны, отечественное производство, клинические рекомендации.*

В 2019 году, по данным ВОЗ, во всем мире 58 миллионов человек жили с хронической инфекцией вируса гепатита С. Ежегодно продолжает заражаться около 1,5 миллиона человек, поэтому распространение вирусного гепатита С (ВГС) является актуальной проблемой для всего мира. Согласно глобальной стратегии ВОЗ, необходимо увеличить охват терапией больных ВГС в несколько раз, чтобы достичь цели элиминации вируса к 2030 году.

Оказание медицинской помощи пациентам с хроническим ВГС, связанным с поражением печени, значительно продвинулось в последние два десятилетия, благодаря улучшению понимания патофизиологии заболевания, а также из-за изменений в диагностических процедурах и усовершенствования в терапии и профилактике [1].

Ранее используемые интерферонсодержащие схемы лечения (комбинации пегилированных интерферонов и рибавирина) показывали низкую эффективность: почти половина пациентов не избавлялась от вируса [2]. Наличие побочных эффектов, существенное число рецидивов и необходимость принимать достаточно агрессивные препараты на протяжении 6-12 месяцев привели к замене интерферонсодержащей терапии противовирусными препаратами прямого действия (ППД), которые появились в клинической практике с начала 2010-х годов.

Существует четыре класса ППД в зависимости от белков, на которые они нацелены. Эти классы включают неструктурные белковые NS3/NS4 ингибиторы протеазы, ингибиторы нуклеозидной полимеразы NS5B, ненуклеозидные ингибиторы полимеразы NS5B и ингибиторы NS5A. ППД-терапия назначается пациентам с хроническим гепатитом С в соответствии с руководящими принципами, установленными Американской ассоциацией по изучению заболеваний печени, Европейской ассоциацией по изучению печени и ВОЗ. Терапия на основе ППД является комбинированной, причем эти препараты должны иметь различные точки приложения на процессы репликации возбудителя. При использовании препаратов, близких по своему механизму действию, эффективность противовирусной терапии снижается [3]. Комбинации ППД позволяют достигать полной эрадикации возбудителя в 95 % случаев, характеризуются высокой безопасностью, отсутствием побочных эффектов и относительно небольшой продолжительностью терапии по сравнению с интерферонсодержащими схемами лечения.

Согласно официальной статистике, в России начиная с 2014 года отмечается ежегодное снижение заболеваемости острым и хроническим ВГС, однако регистрируемое число новых случаев остается внушительным – примерно 40 тыс. в год. На диспансерном учете находится более 300 тыс. человек, в то время как, по расчетам ВОЗ, общее число инфицированных в стране может достигать 3,5 млн человек.

Несмотря на существование высокоэффективных и хорошо переносимых пангенотипических схем терапии на основе ППД, в России остается множество препятствий для обеспечения современной терапией всех нуждающихся. В

действующих клинических рекомендациях в России (2018 г.) по-прежнему предлагается использовать устаревшие схемы лечения на основе препаратов интерферона, что говорит о необходимости обновления клинических рекомендаций до актуальной версии, соответствующей международным рекомендациям. Помимо этого, зарегистрированные и обращающиеся на российском рынке ПППД являются оригинальными препаратами, защищенными патентами. Несмотря на то, что завершающие стадии производства многих препаратов локализованы на мощностях российских производителей, цены на препараты в связи с отсутствием дженериковой конкуренции остаются высокими.

За счет средств федерального бюджета осуществляются централизованные закупки препаратов для лечения хронического ВГС у пациентов с сочетанной ВИЧ-инфекцией. Лечение больных хроническим ВГС проводится также в рамках региональных программ и оплачивается из бюджетных источников и средств ОМС. Выделяемых средств недостаточно, вследствие чего охват терапией остается на низком уровне. Решение проблемы, по мнению ведущих специалистов, возможно в случае запуска специализированной федеральной программы по борьбе с вирусными гепатитами [4].

В результате высокой стоимости оригинальных препаратов, отсутствия единой программы борьбы с инфекцией, нехватки финансирования и действия устаревших стандартов терапии лечение современными ПППД в настоящее время в России проходит лишь небольшой процент больных хроническим ВГС, что способствует дальнейшему распространению инфекции в популяции.

Цель исследования заключалась в оценке российского рынка препаратов для лечения ВГС. Были поставлены следующие задачи:

- изучение современных подходов к лечению ВГС и определение перечня зарегистрированных препаратов;
- оценка объемов, динамики и структуры закупок препаратов для лечения ВГС;
- определение позиций отечественных производителей на рынке.

Материалы и методы

Изучение российского рынка препаратов для лечения ВГС проведено на основании действующих клинических рекомендаций, данных о государственной регистрации лекарственных препаратов, данных о продажах лекарственных препаратов на фармацевтическом рынке компании IQVIA.

Результаты и обсуждение

В настоящее время в Российской Федерации зарегистрированы следующие препараты для лечения ВГС, представленные в таблице 1.

Таблица 1 – Перечень зарегистрированных препаратов

МНН	Торговое наименование	Компания	Дата регистрации	Применение
Софосбувир	Совальди	Гилеад Сайенсиз Интернешнл Лимитед	2016	Генотипы 1-6. Назначают в комбинации с другими препаратами
	Софосбувир-ТЛ	АО «Р-Фарм»	2020	
	Софосбувир	АО «Фармасинтез»	2020	
Даклатасвир	Даклавизар	АО «Фармстандарт»	2015	Генотипы 1a,1b и 3 Назначают в комбинации с другими препаратами
Гразопревир+элбасвир	Зепатир	ООО «МСД Фармасьютикалс»	2018	Генотипы 1a,1b и 4
Дасабувир+омбитасвир+ Притапревир+зитонавир	Викейра Пак	ООО «ЭббВи»	2015	Генотип 1b
Глекапревир+пибрентасвир	Мавирет	ООО «ЭббВи»	2018	Генотипы 1-6
Софосбувир+велпатасвир	Эпклюза	Гилеад Сайенсиз Интернешнл Лимитед	2019	Генотипы 1-6
Нарлапревир	Арланса	АО «Р-Фарм»	2016	Генотипы 1a,1b. Назначают в комбинации с другими препаратами
Ледипасвир+софосбувир	Гарвони	Гилеад Сайенсиз Интернешнл Лимитед	2020	Генотипы 1a,1b,4,5,6

Для многих препаратов на мощностях российских производителей осуществляются только завершающие стадии производства (вторичная/ третичная упаковка и выпускающий контроль качества), в отличие от препаратов нарлапревир и даклатасвир, для которых все стадии производства реализуются на территории Российской Федерации. Согласно действующим клиническим рекомендациям, нарлапревир используется в «тройной терапии» с пролонгированным интерфероном и рибавирином. При наличии ПППД с более высокой эффективностью и безопасностью, а также более доступных по цене возникает вопрос о целесообразности закупок нарлапревира в принципе.

В 2020 г. объем российского рынка препаратов для лечения гепатита С составил 447 тыс. упаковок на сумму 9,0 млрд рублей. С 2016 г. наблюдается увеличение темпов роста закупок (рисунок 1), в результате увеличения финансирования на 8% в 2020 г. удалось закупить на 32 тыс. упаковок больше.

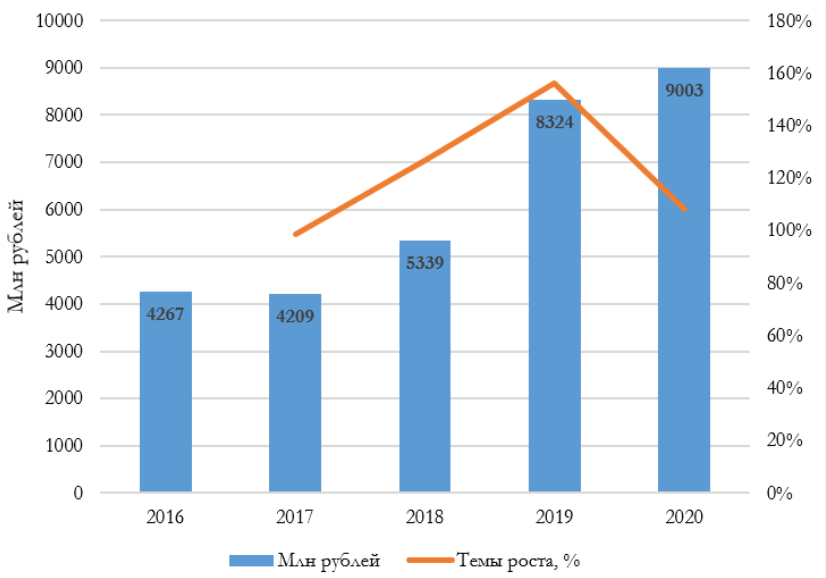


Рисунок 1. Динамика закупок препаратов для лечения хронического ВГС

Финансирование закупок для реализации программ лечения ВГС осуществляется из федерального, региональных бюджетов, а также из средств ОМС. Доля федерального финансирования составляет 51%, что на 14 п.п. больше по сравнению с предыдущим годом (рис. 2). За счет средств федерального бюджета реализуются программы по лечению хронического ВГС у людей, живущих с ВИЧ. Другие бюджеты позволяют реализовывать программы лечения, не связанные с наличием ВИЧ-инфекции. Доля региональных бюджетов в структуре финансирования составляет – 19,5% (на 17 п.п. меньше, чем в 2019 г.), ОМС – 28%, собственные средства пациентов – 1,5%.

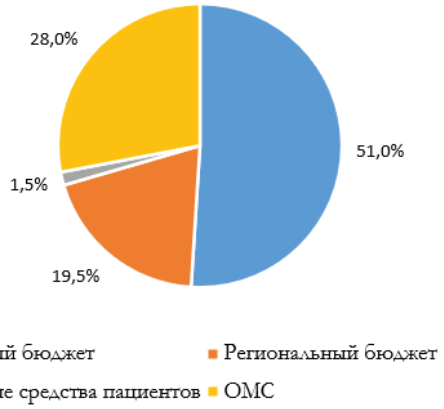


Рисунок 2. Структура финансирования закупок препаратов для лечения хронического ВГС

ПППД было закуплено на 8,8 млрд рублей, что составило 96% от всего бюджета, это на 8 и 2 п.п. больше по сравнению с 2018 и 2019 годами соответственно (рис. 3). В натуральном выражении доля ПППД составила всего лишь 15%. Объемы закупок интерферонов ежегодно снижаются, в 2020 г. их доля в натуральном выражении составила 10%. Согласно действующим клиническим рекомендациям, которые не обновлялись с 2018г., пролонгированные интерфероны в сочетании с рибавирином рассматриваются в качестве терапии первой линии у пациентов, инфицированных ВГС 2-6 генотипов. Использование терапии на основе интерферона в комбинации с рибавирином нерационально, поскольку существуют более эффективные и безопасные препараты. В соответствие с международными рекомендациями необходимо отдавать приоритет пангенотипическим схемам лечения на основе ПППД.

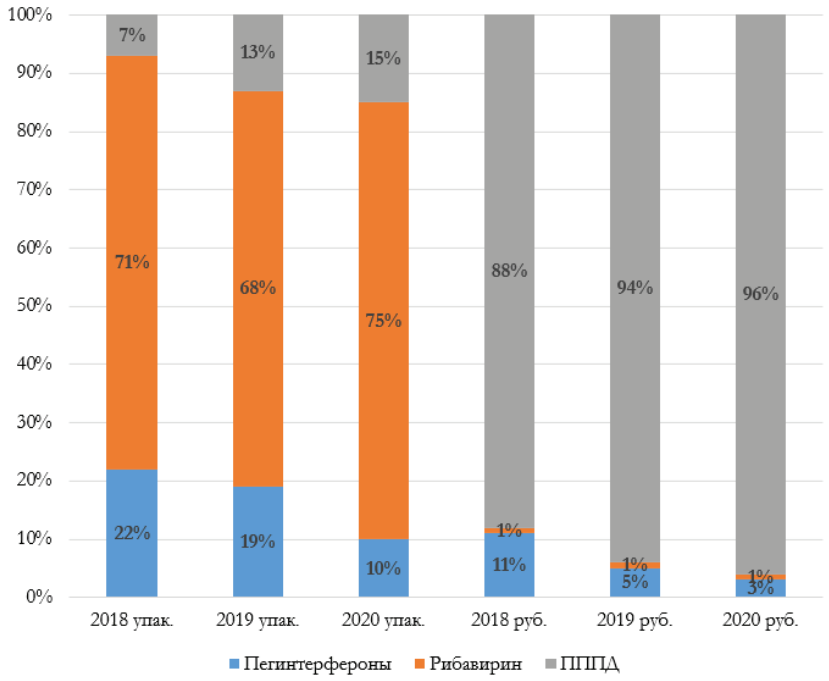


Рисунок 3. Структура закупок препаратов для лечения хронического ВГС

Наиболее закупаемыми ПППД, которые используются в комбинации друг с другом для лечения пациентов с хроническим ВГС, являются софосбувир и даклатасвир. В структуре закупок препаратов для лечения ВГС в 2020 г. они составили соответственно 3,7% и 3,5% в натуральном выражении и 19,7% и 11,1% – в стоимостном (таблица 2). Совместное использование софосбувира и даклатасвира относится к пангенотипической схеме терапии, ее можно использовать одновременно с антиретровирусными препаратами, используемыми для лечения ВИЧ-инфекции, что расширяет границы их применения по сравнению с другими препаратами. Наиболее часто используемыми в программах лечения комбинированными препаратами являются глекапревир+пибрентасвир и гразопревир+элбасвир, их доля в структуре закупок в стоимостных показателях составляет 24,4% и 18,6% соответственно. По сравнению с предыдущим годом объемы закупок глекапревира+пибрентасвира увеличились на 1,4%, гразопревира+элабсвира на 1,3%. Объем закупок симепревира значительно уменьшился. Согласно государственному реестру лекарственных средств, препарат симепревир был исключен и более не используется в программах лечения. Высокие объемы закупок рибавирина обусловлены тем, что препарат используется не только в комбинации с интерферонами, но и с ПППД.

Таблица 2 – Объем закупок препаратов для лечения хронического ВГС в 2020 г.

МНН	Млн руб.	Доля	Объем закупок, упак.	Доля
Глекапревир+пибрентасвир	2 192	24,4%	10 393	2,3%
Софосбувир	1 767	19,7%	16 695	3,7%
Гразопревир+элбасвир	1 675	18,6%	11 335	2,5%
Дасабувир+омбитасвир+ паритапревир+ритонавир	1 118	12,4%	6 488	1,5%
Даклатасвир	1 002	11,1%	15 644	3,5%
Софосбувир+велпатасвир	463	5,1%	3 101	0,7%
Нарлапревир	416	4,6%	4 882	1,1%
Пегилированный интерферон альфа-2а	223	2,5%	38 044	8,5%
Пегилированный интерферон альфа-2b	22	0,3%	5560	1,2%
Рибавирин	83	0,9%	334 771	74,9%
Симепревир	9	0,1%	33	0,0%

Анализ процессов импортозамещения показал, что в 2019-2020 гг. наблюдался рост доли отечественных препаратов в структуре закупок в натуральном выражении с 73% до 77% (рисунок 4). Препаратами отечественного производства являются пегилированный интерферон альфа-2b, рибавирин и нарлапревир. Помимо этого, в России зарегистрированы два дженерика софосбувира, но они не могут законным образом поставляться на рынок пока не закончится срок действия патентной защиты. Для лечения инфицированных необходимо закупать в больших количествах зарубежные ПППД, цены на которые из-за отсутствия дженериков остаются высокими. Поэтому в стоимостных показателях зарубежные препараты составляют 94% в структуре закупок препаратов для лечения хронического ВГС.

Глекапревир+пибрентасвир является наиболее дорогостоящей комбинацией, цена которой за упаковку составляет 211 тыс. руб. Выделяемых средств для реализации программ лечения больных хроническим ВГС не хватает для охвата терапией всех нуждающихся. Доступ к лечению может быть расширен в результате локализации производства ПППД на территории страны.

В настоящее время безинтерфероновые схемы лечения являются наилучшим вариантом благодаря хорошей переносимости и высокой эффективности современных ПППД. Использование интерферонсодержащих схем лечения, согласно международным рекомендациям, не целесообразно из-за большого количества рецидивов и низкого профиля безопасности.

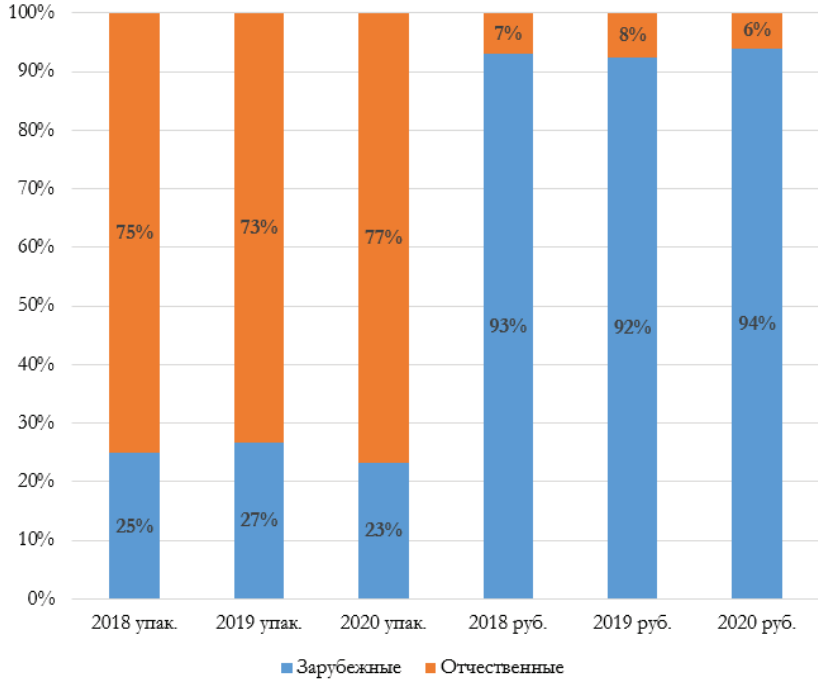


Рисунок 4. Динамика доли препаратов для лечения хронического ВГС зарубежного и отечественного производства

Заключение

В результате оценки российского рынка было показано, что в программах лечения ВГС объем закупок ПППД не достаточен для элиминации ВГС как серьезной угрозы здоровью населения. Несмотря на то, что общий объем закупок препаратов существенно вырос за последние годы, необходимое лечение получают только ВИЧ-инфицированные, охваченные специализированной федеральной программой (приходится 51% всех закупок).

В 2020 г. общий объем российского рынка препаратов для лечения ВГС составил 9 млрд руб. в оптовых ценах. За пять лет рынок вырос более чем в два раза. При небольшой доле в структуре натуральных объемов продаж в стоимостном выражении 96% приходится на долю ПППД. На долю основных препаратов, входящих в пангенотипические схемы лечения (софосбувир и даклатасвир), приходится более 30% всех закупок. Комбинированные лекарственные формы с ПППД, обеспечивающие более высокий уровень приверженности лечению, составляют 61% в стоимостном выражении.

Несмотря на регистрацию некоторых ПППД отечественного производства, поставка их на рынок не может осуществляться пока действует патентная защита, вследствие чего доля отечественных препаратов в стоимостных показателях в разы меньше, чем доля зарубежных оригинальных ПППД. Стоимость оригинальных препаратов остается высокой в результате отсутствия дженериковой конкуренции.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.29.50 Инфекционные болезни
06.56.21 Рыночная структура. Концентрация. Конкуренция. Предпринимательство

ЛИТЕРАТУРА

1. Рекомендации EASL по лечению гепатита С. 2018. [Электронный ресурс]. URL: https://gepatit-s.com/images/pdf/hv-info-ru-EASL-Hepatitis-C-recommendations-2018.pdf (Дата обращения 01.02.2022)

2. Successful treatment with novel triple drug combination consisting of interferon-gamma, interferon alfacon-1, and ribavirin in a nonresponder HCV patient to pegylated interferon therapy / V. Balan [et al.] // Dig. Dis. Sci. 2006. Vol. 51(5). P. 956-959. [Internet]. URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s10620-006-9349-0

3. A comparative analysis of interferons and direct-acting antivirals on the expression of genes involved in hepatitis C pathogenesis / M. Farooq [et al.] // J. Med. Virol. 2020. Vol. 93(11). P. 6241-6246. https://doi.org/10.1002/jmv.26351

4. Невинная И. Эксперты: В России нужна национальная программа помощи больным гепатитом С // Российская Газета. [Электронный ресурс]. URL: https://rg.ru/2020/12/12/eksperty-v-rossii-nuzhna-nacionalnaia-programma-pomoshchi-bolnym-gepatitom-s.html (Дата обращения: 17.02.2022)

SUMMARY

ASSESSMENT OF THE RUSSIAN MARKET OF DRUGS FOR HEPATITIS C TREATMENT

Atlasheva D.A., 1 year master student
Academic advisor: **Trofimova E.O.**, PhD, DSc, Prof., ORCID: 0000-0002-4940-9953
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

Modern approaches to the treatment of chronic viral hepatitis C (HCV) involve the use of interferon-free therapy regimens based on a combination of direct-acting antiviral drugs (DAAs). The volume of the Russian market of drugs for HCV treatment in 2020 amounted to 9 billion rubles, more than half of this market is made up of purchases for the HIV treatment federal program. In the structure of purchases in value terms, DAAs account for 96%, while in physical terms their share remains small (15%). The main part of DAAs is represented by foreign-made products, which reduces DAAs availability for the healthcare system.

Keywords: *viral hepatitis C, the Russian pharmaceutical market, direct-acting antiviral drugs, interferons, domestic production, clinical recommendations.*

REFERENCES

1. EASL recommendations for the treatment of hepatitis C. 2018. [Internet]. URL: https://gepatit-s.com/images/pdf/hv-info-ru-EASL-Hepatitis-C-recommendations-2018.pdf. (Accessed 1.02.2022). (in Russian)

2. Successful treatment with novel triple drug combination consisting of interferon-gamma, interferon alfacon-1, and ribavirin in a nonresponder HCV patient to pegylated interferon therapy / V. Balan [et al.] // Dig. Dis. Sci. 2006. Vol. 51(5). P. 956-959. [Internet] URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s10620-006-9349-0

3. A comparative analysis of interferons and direct-acting antivirals on the expression of genes involved in hepatitis C pathogenesis / M. Farooq [et al.] // J. Med. Virol. 2020. Vol. 93(11). P. 6241-6246. https://doi.org/10.1002/jmv.26351

4. Nevinnaya I. Experts: Russia needs a national program to help patients with hepatitis C // Rossiyskaya Gazeta. [Internet]. URL: https://rg.ru/2020/12/12/eksperty-v-rossii-nuzhna-nacionalnaia-programma-pomoshchi-bolnym-gepatitom-s.html (Accessed: 17.02.2022). (in Russian)

УДК 33:339.1

АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ ТЕНДЕНЦИЙ НА РОССИЙСКОМ РЫНКЕ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Баранова А.О., магистрант 2 года обучения
Научный руководитель: **Орлов А.С.**, канд. фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой экономики и управления (ORCID: 0000-0002-1467-6234)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: baranova.alena@pharminnotech.com

В статье представлены результаты анализа динамики продаж и ценовых изменений на российском рынке стоматологических лекарственных препаратов в целом, а также в разрезе их деления на отечественные и импортные препараты, на различные группы АТХ-классификации, разные диапазоны цен. Приведены лидирующие по объемам продаж в стоимостном и натуральном выражениях стоматологические лекарственные препараты и ведущие компании-производители. Проанализированы структурные изменения на российском рынке стоматологических лекарственных препаратов и приведены результаты конкурентного анализа.

Ключевые слова: *стоматология, российский фармацевтический рынок, стоматологические лекарственные препараты, динамика продаж, динамика цен, структурные изменения, конкуренция.*

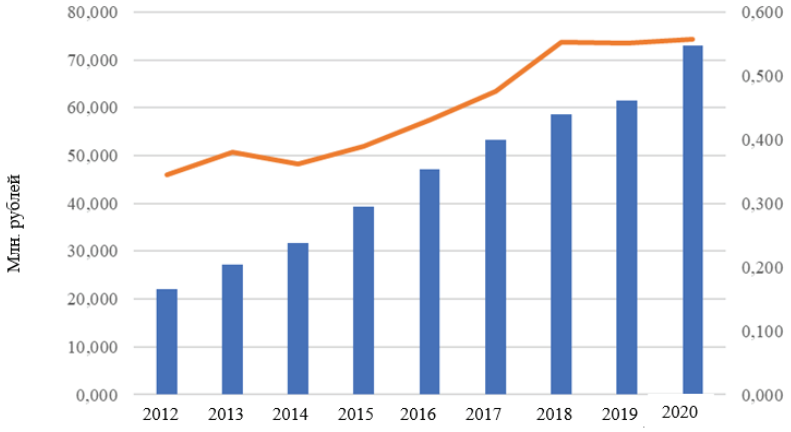
Стоматология является одним из разделов медицины, который включает не только заболевания зубов, но и других элементов ротовой полости, поэтому в России и в мире активно развивается рынок стоматологических услуг. Отечественные и зарубежные специалисты получили доступ к современным технологиям лечения стоматологических заболеваний. Во многом этим обусловлено появление на фармацевтическом рынке новых лекарственных средств, применяемых в стоматологии. Учитывая высокую распространенность среди населения заболеваний полости рта, весьма актуальным представляется анализ основных тенденций в сегменте российского фармацевтического рынка, включающем

стоматологические лекарственные препараты. К задачам данного комплексного исследования можно отнести изучение динамики продаж, ценовых изменений, структурных сдвигов и конкуренции на российском рынке стоматологических лекарственных препаратов.

Исследование базировалось на данных аудита продаж в сегменте российского фармацевтического рынка, включающем стоматологические лекарственные препараты, в 2012-2020 гг., предоставленные исследовательской компанией DSM Group.

С 2012 г. по 2020 г. объём продаж стоматологических лекарственных препаратов увеличился в 3,3 раза с 21,999 млрд. руб. до 73,015 млрд. руб. в денежном эквиваленте и в 1,6 раза по количеству проданных упаковок (рис.1). Существенный рост продаж в данном сегменте фармацевтического рынка можно объяснить ростом потребления, цен и появлением новых препаратов и их производителей. В результате проведенного анализа было установлено, что доля продаж отечественных стоматологических лекарственных препаратов в денежном выражении в 2012 году была менее 50%, но в 2020 г. она значительно возросла и оказалась равна 69,4%, что было вызвано появлению на рынке новых препаратов российского происхождения, например, Стомагеля и Фукасептола. Доля отечественных лекарственных препаратов в натуральном выражении была на высоком уровне и в 2012 г. (более 80%), а в 2020 г. стала еще выше почти на 6%.

Для изучения распределения продаж стоматологических лекарственных препаратов на фармацевтическом рынке были выделены 5 разных ценовых диапазонов: менее 100 руб. за упаковку, от 100 до 500 руб., от 500 до 1000 руб., от 1000 до 5000 руб. и более 5000 руб. В результате проведенных расчетов выяснилось, что большинство стоматологических препаратов находятся в диапазоне от 100 до 500 рублей в денежном выражении. В натуральном выражении значительное количество препаратов обладают ценой, не превышающей 100 рублей за упаковку.



	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Объем продаж в денежном выражении	21,999	27,193	31,810	39,313	47,019	53,217	58,529	61,445	73,015
Объем продаж в натуральном выражении	0,345	0,380	0,362	0,390	0,432	0,475	0,553	0,551	0,557

Рисунок 1. Динамика изменения объемов продаж стоматологических лекарственных препаратов на российском фармацевтическом рынке в 2012-2020 гг.

За исследуемый период времени претерпел изменения рейтинг АТХ-групп, в которых присутствуют стоматологические препараты. В стоимостном выражении в 2012 г. лидирующую позицию занимала группа А «Препараты, влияющие на пищеварительный тракт и обмен веществ» с долей 51,14%. Однако к 2020 г. доля данной группы уменьшилась до 34,14%, что можно объяснить пандемией, в результате которой стоматологические препараты этой группы стали менее востребованы потребителями. В то же время существенно выросла доля продаж в группах D «Дерматология» и N «Нервная система» – на 50,40% и 6,41% соответственно. В натуральном выражении наибольший прирост показала группа V «Прочие препараты» (+3400%). Спад продаж в натуральном выражении продемонстрировали группы: А «Препараты, влияющие на пищеварительный тракт и обмен веществ» на 21,67% и N «Нервная система» – на 11,30%. В группе D «Дерматология» наблюдался небольшой прирост +9,46%.

Среди торговых наименований стоматологических лекарственных препаратов, лидирующих по объему продаж в денежном выражении, преобладают импортные лекарства. В 2020 г. наибольшие объемы продаж были характерны для Мирамистина, Гексорала и Тантума, которые составили соответственно 23,7, 5,6 и 5,0 млрд. рублей. По объемам продаж в натуральном выражении в 2020 г. лидируют отечественные стоматологические лекарственные препараты, к которым относятся Хлоргексидин, Йод и Мирамистин с показателями продаж, равными 179,1, 84,2 и 56,1 млн. упаковок.

В результате анализа продаж стоматологических лекарственных препаратов по странам-производителям, то можно заметить, что существенных изменений в течение 2012-2020 гг. не произошло. Первые места стабильно занимают такие страны как Россия, США, Италия. Объем продаж лекарственных препаратов в стоимостном выражении, выпущенных в России, был на высоком уровне в 2012 году, но к 2020 году он вырос значительно в 4,3 раза за счет увеличения стоимости препаратов и политики, направленной на закупку отечественных лекарственных препаратов. Также возросли продажи и в других странах, кроме Великобритании (упадок в 1,17 раз), ЮАР (упадов в 3,0 раза). Это может быть связано с увеличе-

нием фирм-производителей в других странах и уменьшением компаний, выпускающих стоматологические лекарственные препараты в этих странах, а также уменьшением импорта в Россию. В России продажи лекарственных препаратов в упаковках, также были высоки. По сравнению с 2012 годом, в 2020 году объем продаж увеличился в 1,7 раза за счет увеличения выпуска количества стоматологических лекарственных препаратов.

Средневзвешенная стоимость упаковки стоматологических лекарственных препаратов в 2012 году составляла 63,68 руб. (рис. 2). В 2020 году средневзвешенная цена за упаковку стоматологического лекарственного препарата увеличилась в 2,06 раз и составила 130,98 рублей. Для анализа динамики ценовых изменений использовался индексный метод, основанный на расчете индексов цен.

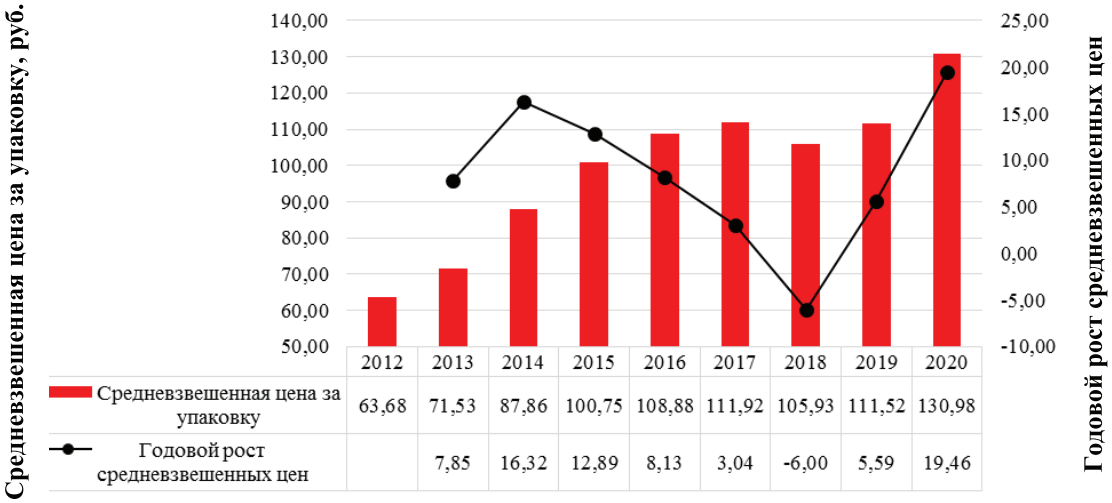


Рисунок 2. Динамика изменения средневзвешенных цен за упаковку на российском рынке стоматологических лекарственных препаратов в 2012-2020 гг.

Сравнивая цепные индексы цен на российском рынке стоматологических лекарственных препаратов и индексов цен на медикаменты Росстата, можно сделать вывод, что показатели стоматологических лекарственных препаратов отличались менее, чем на 10%, кроме 2015 года, где отличие составило 12%. За исследуемый период с 2012 по 2020 годы базисный индекс цен на стоматологические препараты составил 193,7% и оказался незначительно выше аналогичного показателя для всего фармацевтического рынка, где базисный индекс был равен 182,8%.

Анализируя динамику цен среди стоматологических лекарственных препаратов разных групп на российском фармацевтическом рынке в 2012-2020 гг. можно заметить, что количество регулируемых государством стоматологических лекарственных препаратов в период с 2012 по 2020 гг. увеличилось на 31,60%, а их стоимость в 2020 году стала 214,40 руб. Соответственно, количество лекарственных препаратов, не включенных в перечень ЖНВЛП, сократилось, а их цена оказалась равна 48,82 рубля в 2020 году. Доля российских стоматологических лекарственных препаратов значительно больше, чем зарубежных (в стоимостном и натуральном выражении доля отечественных лекарственных препаратов более 50%). А стоимость отечественных препаратов в 3,4 раза ниже, чем импортных. Оригинальных стоматологических лекарственных препаратов в стоимостном выражении меньше, чем дженериков на 59,78%, а в натуральном – на 87,02%. Также стоимость оригинальных лекарственных препаратов значительно выше и в 3,6 раз больше, чем стоимость препаратов-дженериков.

Рассматривая цепные индексы отдельных групп стоматологических лекарственных препаратов можно отметить, что индекс в группе препаратов включенных и не включенных в перечень ЖНВЛП был выше 100% в период с 2012 по 2020 гг. Также наблюдался рост цен и отечественных стоматологических лекарственных препаратов. В 2018 и 2019 гг. наблюдается снижение цепного индекса импортных ЛП в связи с сокращением их продаж и снижение цепного индекса цен оригинальных стоматологических лекарственных препаратов в связи увеличением продаж воспроизведенных ЛП. В целом за рассматриваем период цепной индекс был выше 100%. Базисный индекс средневзвешенных цен и базисный индекс чистых цен во всех группах был выше 100%. Самое большое значение индекса средневзвешенных цен у группы отечественных лекарственных препаратов 484,69%, а чистых цен – у группы оригинальных лекарственных препаратов 286,82%. Средний базисный индекс указывает, что за рассматриваемый период, цены увеличивались, кроме групп импортных и оригинальных стоматологических лекарственных препаратов.

Анализируя динамику цен, структурных сдвигов и уровня конкуренции в разных группах АТХ-классификации стоматологических лекарственных препаратов разных групп на российском фармацевтическом рынке в период 2012-2020 гг., можно сделать вывод, что в основном цепные индексы для группы А «Пищеварительный тракт и обмен веществ» и N «Нервная система» были выше 100%. Индекс средневзвешенных цен для рассматриваемых групп по АТХ-классификации показывает рост цена с 2012 по 2020 годы (кроме группы V «Прочие препараты», где значительного роста стоимости ЛП не наблюдалось).

Анализ динамики цен в разных ценовых диапазонах показал, что дешевые препараты с ценой, не превышающей 100 руб., растут быстрее всего в цене, но, несмотря на это, они по-прежнему остаются у потребителей самыми востре-

бованными – в упаковках доля дешёвых ЛП составляет 74,29%. Для сегмента препаратов «от 100 до 500 руб.» характерна стабильность цепных индексов в периоде с 2012 по 2020 гг. Препараты диапазона «От 500 до 1000 руб.» в цене были стабильны за рассматриваемый период. Индекс чистых цен для всех диапазонов оказался выше 100%.

В результате анализа структурных изменений на российском рынке можно отметить, что доля новых стоматологических лекарственных препаратов в 2020 году составила 11,2% в денежном выражении и 3,2% в натуральном. Доля ушедших лекарственных средств с 2012 года составила 0,05% в денежном выражении и 0,01% в натуральном выражении. По итогам расчета индекса Рябцева, характеризующего интенсивность структурных сдвигов на рынке, было установлено, что стоматологические лекарственные препараты группы V имеют очень высокий уровень структурных изменений за счет увеличения проданных упаковок препарата Метиленовый синий, а препараты групп A и N – средний уровень. В группе A появилось более 20 стоматологических лекарственных препаратов (например, Лидент БЭБИ, Вертум Лор, Гелангин и др.), в группе N – более 10 (Севофлуран, Артикаин с эпинефрином, Ксемед и др.) и ушли с рынка Метрогекс и Азулан (группа A) Ксилокаин, Бупикаин и Цитокартин (группа N). Препараты группы D имеют значительный уровень структурных изменений, так как появились новые лекарственные препараты, применяемых в стоматологии (Вокадин, Борная кислота с экстрактом ромашки, Сальвин, Этоний, Этакридин) и ушел с рынка Дальцекс-трипсин. Наименьшая интенсивность структурных изменений наблюдается у оригинальных стоматологических лекарственных препаратов за счет ухода с рынка только лекарственного препарата Метрогекс и появления на рынке стоматологического препарата Стоматофит. Значительными структурными изменениями обладают отечественные лекарственные препараты и препараты, входящие в перечень ЖНВЛП из-за большого количества появившихся и ушедших с рынка препаратов. Индекс Рябцева для зарубежных стоматологических лекарственных препаратов оказался меньше, чем у отечественных, так как к 2020 году появилось значительно количество отечественных лекарств (Ксемед, Медксенон, Гелангин, Кетопрофен и др.). Также и группа препаратов, входящих в перечень ЖНВЛП, где появились лекарственные препараты Амидент, Максикаин и др, а ушел с рынка лекарственный препарат Окстасепт. В целом индекс Рябцева для всего рынка стоматологических лекарственных препаратов оказался равен 0,395, что говорит о значительном уровне структурных изменений, в большей степени, за счет появления новых препаратов.

Для анализа уровня конкуренции на российском рынке стоматологических лекарственных препаратов рассчитывался индекс Херфиндаля-Хиршмана [5]. Было установлено, что конкуренция для группы препаратов, входящих и не входящих в перечень ЖНВЛП, к 2020 г. снижается. Фирмы-производители препаратов, входящих в перечень ЖНВЛП, принадлежат умеренно-концентрированному рынку, не входящих в перечень – низкоконцентрированному (ушли с рынка к 2020 году фирмы ОАО Нижфарм, ООО Юнифарм, а пришли – АО Р-Фарм, ОАО Фармасинтез (Иркутск), ОАО Мосфарм). Производители оригинальных и зарубежных стоматологических лекарственных препаратов относятся к умеренно-концентрированному рынку, а для фирм-производителей воспроизведенных и отечественных препаратов свойственная средняя конкуренция. Для производителей стоматологических лекарственных препаратов группы D и N характерна средняя конкуренция (низкоконцентрированный и умеренно-концентрированный рынки). А фирмы-производители групп A и V принадлежат к высококонцентрированному рынку с низкой конкуренцией (в группе A в рассматриваемом периоде на рынке, в основном, действует компания JOHNSON & JOHNSON, а в группе V с 2012 по 2020 гг.– F.HOFFMANN-LA ROCHE LTD и ОАО Тверская фармфабрика.

Таким образом, сегмент российского фармацевтического рынка, объединяющий стоматологические лекарственные препараты, характеризуется существенным ростом продаж и цен, а также значительными структурными изменениями. Данный сегмент российского фармацевтического рынка является одним из немногих, в котором доля продаж отечественных препаратов превосходит долю импортных лекарств не только в упаковках, но и в стоимостном выражении. Оценивая перспективы развития российского рынка стоматологических препаратов, можно отметить, что при сохранении имеющихся тенденций и продолжении активного процесса импортозамещения существуют весьма благоприятные перспективы у отечественных фармацевтических производителей.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.01.11 Современное состояние и перспективы развития

76.01.14 Коммерческие вопросы, маркетинг, конъюнктура, реклама в медицине и здравоохранении

76.01.73 Медицинская статистика

ЛИТЕРАТУРА

1. Харченко Л.П., Долженкова В.Г., Ионин В.Г. Статистика. М.: ИНФРА-М, 2002. 84 с.

2. Стоматологические препараты (АТХ) [Электронный ресурс]. URL: https://medum.ru/atc/ (Дата обращения 23.02.2022).

3. Баранова А.О. Современное состояние российского рынка лекарственных препаратов и расходных материалов, применяемых в стоматологии // Молодая фармация - потенциал будущего. СПб., 2021. С. 19-23.

4 Абузярова М.И. Методологические основы структурных сдвигов в экономике // Экономические науки. 2011. N 4. С. 181-185.

5. Индекс херфиндаля-хиршмана (ННІ). [Электронный ресурс]. URL: https://nesrakonk.ru/hhi/ (Дата обращения: 25.02.2022).

6. Топ-5 производителей стоматологической продукции [Электронный ресурс]. URL: https://stommarket.ru/blog/top-5-proizvoditeley-stomatologichesk/ (Дата обращения: 25.02.2022).

SUMMARY

ANALYSIS OF MAIN TRENDS IN THE RUSSIAN MARKET OF DENTAL MEDICINES

Baranova A.O., 2nd year master student
Academic advise: **Orlov A.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Associate Professor, chairholder of Economics and Management.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: baranova.alena@pharminnotech.com

The article presents the results of an analysis of the dynamics of sales and price changes in the Russian market of dental drugs in general, as well as in the context of their division into domestic and imported drugs, into various ATC classification groups, and different price ranges. The leading dental medicines in terms of sales in value and volume terms and leading manufacturing companies are given. Structural changes in the Russian market of dental drugs are analyzed and the results of a competitive analysis are presented.

Keywords: *dentistry, Russian pharmaceutical market, dental medicines, sales dynamics, price dynamics, structural changes, competition.*

REFERENCES

1. Kharchenko L.P., Dolzhenkova V.G., Ionin V.G. Statistics. Moscow: INFRA-M, 2002. 84 p. (in Russian)
2. Dental preparations (ATC) [Internet]. URL: https://medum.ru/atc/ (Accessed: 23.02.2022). (in Russian)
3. Baranova A.O. The current state of the Russian market of drugs and consumables used in dentistry // Young pharmacy is the potential of the future. St. Petersburg, 2021. P. 19-23. (in Russian)
4 Abuzyarova M.I. Methodological foundations of structural shifts in the economy // Economic sciences. 2011. N 4. P. 181-185. (in Russian)
5. Herfindal-hirshmann index (HHI). URL: https://nesrakonk.ru/hhi/ (Accessed: 25.02.2022). (in Russian)
6. Top 5 manufacturers of dental products [Internet]. URL: https://stommarket.ru/blog/top-5-proizvoditeley-stomatologichesk/ (Accessed: 25.02.2022). (in Russian)

УДК 615.12: 614.27(045)

АНАЛИЗ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ АПТЕЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ В СИСТЕМЕ ФАРМАКОНАДЗОРА

Баширова Р.Р., студ. 5 курса
Руководитель: **Золотарева Н.Г.**, канд. фарм. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: bashirova.rinata@pharminnotech.com

Изучено нормативно-правовое регулирование деятельности аптечных организаций в системе фармаконадзора, проведено социологическое исследование осведомленности посетителей о возникновении побочных действий, нежелательных реакций, серьезных нежелательных реакций, непредвиденных нежелательных реакций при применении лекарственных препаратов, об индивидуальной непереносимости, отсутствии эффективности лекарственных препаратов.

Ключевые слова: *фармаконадзор, нежелательные реакции, спонтанные сообщения, аптечная организация, фармацевтические работники, надлежащая аптечная практика, система менеджмента качества.*

В соответствии с действующим законодательством субъекты обращения лекарственных средств (ЛС), включая фармацевтические организации, обязаны предоставлять в Росздравнадзор информацию о нежелательных реакциях (НР) лекарственных препаратов (ЛП) и иную информацию по безопасности и эффективности, выявленную на всех этапах обращения ЛП. Это же требование закреплено как одно из лицензионных требований при осуществлении фармацевтической деятельности: аптечные организации (АО) обязаны разрабатывать, внедрять и развивать систему менеджмента качества (СМК). При этом, базовым элементом СМК является работа с несоответствующей продукцией и обратная связь с потребителем. Фармацевтические работники, непосредственно обслуживающие население, должны своевременно извещать посетителей при отпуске ЛП о возможной вероятности возникновения НР и необходимости обязательного информирования сотрудников медицинских или аптечных организаций о всех случаях их возникновения. Эффективной системой сбора информации по безопасности ЛП являются автоматизированные информационные системы (АИС) – электронные базы данных, существенно сокращающие время и повышающие качество работы с информацией. Источниками информации о НР ЛП в АО являются посетители, поэтому крайне важно организовать систему получения полных и достоверных данных, их регистрацию, а также своевременную передачу регулятору.

По данным Росздравнадзора, в Российской Федерации (РФ) доля представляемых сообщений о НР составляет не более 20% от их реального количества, что свидетельствует о необходимости совершенствования организационной работы при осуществлении фармаконадзора субъектами обращения ЛП, в том числе АО. Вовлеченность потребителей ЛП в выявлении НР, не указанных в инструкциях по медицинскому применению, напрямую влияет на совершенствование механизма СМК и позволяет получать изначально более широкий поток спонтанных сообщений (СС) о безопасности ЛП. Таким образом, научная оценка эффективности фармаконадзора способствует реализации мероприятий по улучшению как СМК отдельно взятой АО, так всей системы фармаконадзора в целом.

Целью настоящей работы явилось изучение порядка осуществления фармаконадзора в АО.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1) Провести анализ нормативно-правового регулирования порядка работы АО с выявленными НР ЛП;

2) Изучить причины, форму, и динамику обращения посетителей АО к фармацевтическим работникам по вопросам НР ЛП;

3) Провести анализ собранных статистических данных в части соблюдения требований АО порядка осуществления фармаконадзора.

Материалы и методы.

Деятельность по выявлению НР ЛП зависит от всех участников сферы обращения ЛС: регуляторных органов, субъектов розничной торговли, а также потребителей. Это определило выбор объектов и методов исследования. Методологическую основу работы составляют законодательство РФ и нормативно – правовые акты, регулирующие фармаконадзор. Информационной базой исследования являлись данные электронного сервиса АИС «Фармаконадзор», объекты инфраструктуры и документация СМК исследуемых АО, обращения граждан, результаты анкетирования фармацевтических работников и посетителей АО Северо-Западного федерального округа (г. Санкт-Петербург) и Приволжского федерального округа (Республика Башкортостан, г. Уфа). На данный момент проанализирована деятельность 31 АО. Сбор и обработка данных проводилась с помощью инструментов MS Excel 2016 и on-line анкетирования через сервисы Google. В процессе проведения исследования применялись следующие методы: системный, логический, контент-анализ, социологический (анкетирование), графический и метод наблюдений.

Результаты и обсуждение.

На первом этапе исследования были изучены нормативные правовые акты, регламентирующие порядок осуществления фармаконадзора в АО. Анализ литературы позволил установить, что обязанность сообщения о НР ЛП закреплена на наднациональном и национальном уровнях. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 №87 «Об утверждении Правил надлежащей практики фармаконадзора Евразийского экономического союза» возлагает на работников фармацевтической отрасли важную роль в сборе сведений о НР ЛП [1]. Данный документ определяет порядок информирования специалистами системы здравоохранения уполномоченных органов о выявляемых ситуациях, влияющих на безопасность применения ЛП [1]. В целом, Правила регламентируют основные понятия, касающиеся области фармаконадзора, действия по мониторингу и оценке качества ЛП, методы предотвращения НР ЛП.

На национальном уровне, Федеральным Законом от 12.04.2010 г. №61-ФЗ установлена обязанность субъектов обращения ЛС сообщать в Росздравнадзор о побочных действиях, НР, серьезных НР, непредвиденных НР, об индивидуальной непереносимости, отсутствии эффективности ЛП, а также об иных фактах и обстоятельствах, представляющих угрозу жизни или здоровью человека. Законом также предусмотрена ответственность за несообщение или сокрытие сведений о выявленном НР ЛП для лиц, которым они стали известны по роду их профессиональной деятельности. Кроме того, согласно Правил надлежащей аптечной практики (НАП), руководитель субъекта розничной торговли обязан обеспечить проведение инструктажа работников по вопросам обработки данных, полученных от покупателей и доведения данной информации до заинтересованных лиц [2]. Таким образом, обязанность сообщать о НР на ЛП юридически закреплена не только для медицинских работников, но и для фармацевтических работников.

Обязательное участие специалистов АО в системе фармаконадзора подтверждено профессиональными стандартами, регламентирующими оказание информационно-консультационной помощи по вопросам возникновения побочных реакций, НР на ЛП. Соответствующие требования к трудовым функциям работников представлены в таблице 1 [3, 4, 5, 6].

Таблица 1 – Трудовые функции работников АО в системе фармаконадзора

Документ	Трудовая функция/трудовые действия/умения/знания
Приказ Министерства труда и социальной защиты РФ от 22.05.2017 г. № 428н «Об утверждении профессионального стандарта «Специалист в области управления фармацевтической деятельностью».	А/05.7 Организация информационной и консультационной помощи для населения и медицинских работников: - прием извещений о нежелательных реакциях на лекарственные препараты, а также информации о недоброкачественных лекарственных препаратах и других товарах аптечного ассортимента
Приказ Минтруда России от 22.05.2017 № 427н «Об утверждении профессионального стандарта «Провизор-аналитик».	А/03.7 Проведение внутриаптечного контроля качества лекарственных препаратов, изготовленных в аптечных организациях, и фармацевтических субстанций: - информационные системы и оборудование информационных технологий, используемые в фармацевтической организации

Документ	Трудовая функция/трудовые действия/умения/знания
Приказ Министерства труда и социальной защиты РФ от 09.03.2016 г. № 91н «Об утверждении профессионального стандарта «Провизор».	А/04.7 Информирование населения и медицинских работников о лекарственных препаратах и других товарах аптечного ассортимента: - положения нормативных правовых актов, включая систему фармаконадзора Российской Федерации
Приказ Минтруда России от 31.05.2021 № 349н «Об утверждении профессионального стандарта «Фармацевт»	А/02.5 Фармацевтическое консультирование: - регистрация обращений потребителей о возникновении побочных действий, нежелательных реакций, серьезных нежелательных реакций, непредвиденных нежелательных реакций при применении лекарственных препаратов, об индивидуальной непереносимости, отсутствии эффективности лекарственных препаратов - заполнять извещения о нежелательной реакции или отсутствии терапевтического эффекта лекарственного препарата, о побочных действиях, о жалобах потребителей

Как видно из таблицы, трудовые функции специалистов АО формируют обобщенную компетенцию по фармацевтическому информированию, консультированию, регистрации и репортированию о данных инцидентах в уполномоченный орган.

Также была изучена удовлетворённость потребителей информационно-консультативной помощью работников АО по вопросам возникновения НР ЛП. Для оценки качества консультативных услуг была разработана анкета при помощи инструмента «Google формы», а опрос проводился ее рассылкой пациентам (на данный момент опрошено 262 респондентов). Анкета включала 19 вопросов, структурированные по блокам. В первый блок вошли вопросы о случаях возникновения НР или отсутствия терапевтического эффекта (ТЭ) ЛП у пациентов, во второй – вопросы о действии респондентов при выявлении данных ситуаций, в третий – вопросы, связанные с информированностью респондентов о возникновении НР или отсутствии ТЭ ЛП в АО. Подведение промежуточных итогов позволило определить портрет посетителя АО: это, преимущественно, женщины, от 18 до 25 лет. Среди опрошенных пациентов случаи с возникновением НР возникали у меньшей половины – 40,8%, в том время как отсутствие ТЭ ЛП отмечали у себя 56,9% опрошенных респондентов.

На вопрос «Укажите Ваши действия при появлении НР на ЛП», 50,9% опрошенных ответили, что прекращали применение данного ЛП и только 22,0% и 6,8% пациентов обращались к лечащему врачу и специалисту АО соответственно. При ответе на вопрос о действиях при отсутствии ТЭ ЛП пациенты отмечали переход на другой ЛП (29,1%), прекращение применения ЛП (27,7%), не предпринимали никаких действий (13,4%) и повышение дозы ЛП (7,6%). При этом к лечащему врачу обращались 19,5% пациентов, а к специалисту АО – всего 2,7%.

Ответы на вопросы, отражающие информированность пациентов о возникновении НР или отсутствии ТЭ ЛП, позволили выявить проблемы в области ознакомления населения, проводимую органами исполнительной власти и специалистами системы здравоохранения. Так, на вопрос «Как Вы считаете, при отсутствии ТЭ или возникновении НР, куда необходимо обращаться?», большинство респондентов (75,4%) указало врача, назначившего ЛП, в то время как обращение в АО, где был приобретен ЛП, указало только 8,5% пациентов.

Таким образом, фактическая роль провизора/фармацевта в данном вопросе для пациентов остается незначительной, что требует введения дополнительных средств освещения места и роли специалистов АО в вопросах фармаконадзора.

Дальнейший анализ анкет показал, что половина респондентов (50,0%) при отпуске ЛП была проинформирована в торговом зале АО о возможном появлении НР или отсутствии ТЭ ЛП и необходимости оповещения лечащего врача или работника АО (рис. 1). Результаты анализа показали, что 60,4% пациентов были проинформированы работниками АО в устной форме. Пациенты чаще всего узнавали о телефоне горячей линии/сайте Росздравнадзора через интернет (51,5%). Другим распространенным источником информации являлся работник АО (12,6%). Реже всего пациенты отмечали в качестве источника печатные СМИ (газета, журнал) (рис. 1).

Рисунок 1. Информированность посетителей АО о возможных НР, включая средства и источники информации

Таким образом, установлено, что, несмотря на широкое использование пациентами ресурсов интернет, важным информационным ресурсом является провизор/фармацевт в АО. Также, нами отмечено, что фармацевтические работники часто оказывают информационно-консультативные услуги посетителям АО в части возникновения НР. Однако низкий показатель информирования с помощью печатных стендов (13,7%) и письменных заметок (11,8%) подтверждает необходимость разработки и внедрения дополнительных мероприятий в торговом зале АО.

Данный факт подтверждают ответы респондентов о недостатке информации, который они ощущают при желании направить заявление об отсутствии ТЭ или НР ЛП. Было установлено, что отсутствие информирования в медицинских организациях (27,2%) и в АО (27,8%), по мнению опрошенных пациентов, является недостатком в системе сбора данных о безопасности ЛП.

На следующем этапе исследования на базе 31 субъекта розничной торговли товарами аптечного ассортимента (ТАА) Северо-Западного и Приволжского федеральных округов проводилось изучение порядка осуществления фармаконадзора в АО. Для получения объективных данных, выбранные АО были представлены разными юридическими лицами с государственной и частной формой собственности. Разработанная анкета включала 19 вопросов, структурирована по блокам: 1) Осведомленность работников АО по вопросам фармаконадзора; 2) Работа АО с выявленными НР или отсутствием ТЭ ЛП; 3) Оценка СМК субъекта розничной торговли ТАА; 4) Качество информирования посетителей АО по вопросам фармаконадзора. В анкетировании приняли участие как специалисты со средним фармацевтическим образованием, так и с высшим фармацевтическим образованием с преимущественным стажем работы более 10 лет (41,9%).

Анализ осведомленности специалистов АО по вопросам фармаконадзора, показал следующие результаты: 100% специалистов АО осведомлены о том, что специалисты фармацевтической отрасли обязаны участвовать в системе фармаконадзора. Большинство из них (77,4%) верно указали нормативный правовой акт, регламентирующий обязанность субъектов обращения ЛС участвовать в системе фармаконадзора. Кроме этого, многие фармацевтические работники уверены, что сообщение о НР или отсутствии ТЭ ЛП относится к их должностным обязанностям (45,2%). Однако, при ответе на вопрос «Уделялось ли вопросам фармаконадзора должное внимание в Вашем учебном заведении?» 38,7% работников ответили отрицательно. Выявленный факт подтверждает необходимость дополнения образовательных модулей программ специалитета, ординатуры и дополнительного профессионального образования элементами фармаконадзора.

В современных условиях повышение качества услуг является одной из основных целей АО. Достижение указанной цели достигается путем внедрения СМК в АО. Требованием СМК АО является назначение уполномоченного лица по фармаконадзору (УЛФ) и наличие персонализированного доступа в АИС Росздравнадзора.

Результаты анкетирования позволили установить, что в 54,8% АО не назначен специалист, ответственный за сбор и направление информации о НР и/или отсутствии ТЭ ЛП в Росздравнадзор (УЛФ). Основная часть исследуемых АО (64,5%) имеет персонализированный доступ в АИС Росздравнадзора для своих специалистов. Однако, анкетирование показало низкую (25,8%) практику использования АИС для направления извещений о НР или отсутствии ТЭ ЛП в Росздравнадзор.

В процессе обработки ответов на вопросы второго блока было установлено, что фармацевтические работники не всегда сообщают о фактах НР или отсутствии ТЭ. Несмотря на высокую частоту обнаружения НР (45,2%), сообщают об этом критически малый процент (16,1%) работников АО (Рисунок 2). При этом 35,4% специалистов советуют посетителю АО отменить применение ЛП, 32,2% сообщают о случае обращения посетителя с НР заведующему АО и 16,1% не предпринимают никаких действий. Ведущими факторами, препятствующими высокой активности в системе фармаконадзора специалистов АО, по мнению респондентов, являются недостаток времени на заполнение извещения (32,2%), непонимание алгоритма заполнения извещения (22,6%), отсутствие мотивации участия в системе фармаконадзора (19,3%), отсутствие бланков извещений в АО (12,9%) и отказы посетителей в заполнении извещения о НР или отсутствии ТЭ ЛП (6,4%) (рис. 2).

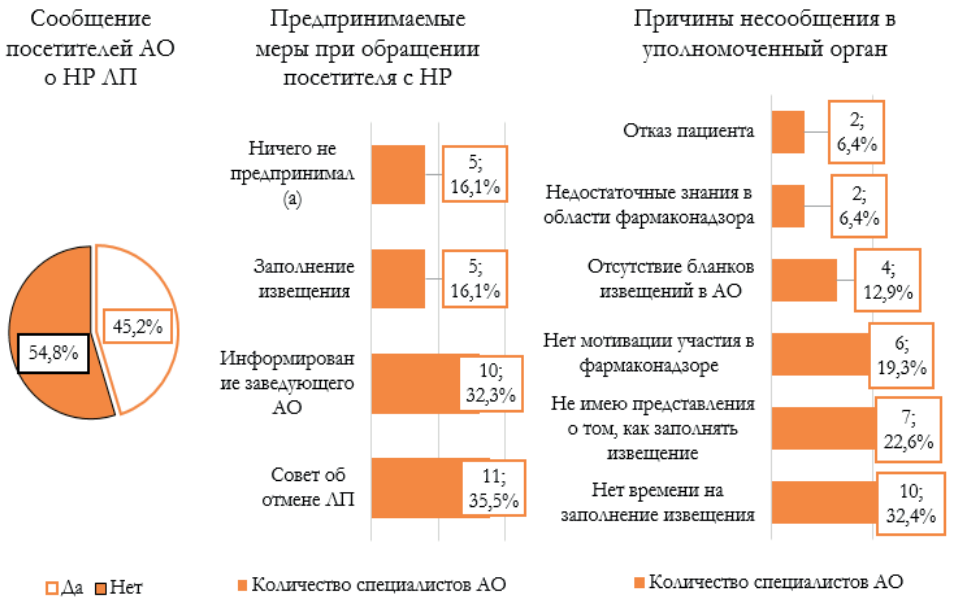


Рисунок 2. Обработка сообщений о НР в АО

В результате обобщения полученных данных, было установлено, что только 25,8% АО отвечают требованиям НАП в части принятия мер, необходимых для постоянного улучшения качества обслуживания покупателей. Только 16,1% сотрудников АО регулярно проводят работу по информированию посетителей о возможном появлении НР или отсутствии ТЭ ЛП и необходимости их сообщения лечащему врачу или работнику АО. 83,9% специалистов проводят информационно-консультативную помощь только в случае, если посетитель АО сам интересуется ей.

Анализ результатов анкетирования показал, что информирование посетителей АО о возможном появления НР или отсутствии ТЭ ЛП в торговом зале АО производится в большей степени устно (70,2%), реже специалисты АО отмечали в качестве ответа «Информационные стенды» (16,2%). Установлено, что 12,9% АО не производят информирование посетителей АО по вопросам фармаконадзора вовсе.

Заключение

В результате проведенного исследования были проанализированы основы работы АО с выявленными НР ЛП. Изучены требования нормативных правовых актов, документы СМК АО, трудовые функции фармацевтических работников в системе фармаконадзора. Выявлено, что исследуемые АО не в полном объеме реализуют требования СМК, обеспечивающие соответствие деятельности АО действующим стандартам и нормативам. Проведенные исследования позволили установить, что работники АО часто не регистрируют выявляемые факты НР и отсутствия ТЭ ЛП, а также не всегда информируют о них по предусмотренным каналам коммуникаций в системе фармаконадзора РФ. Анкетирование потребителей позволило выявить недостаточную работу специалистов системы здравоохранения в части информационно-консультативной помощи населению по вопросам фармаконадзора при существующей в ней потребности.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Решение Совета Евразийской Экономической Комиссии от 03.11.2016 г. № 87 «Об утверждении Правил надлежащей практики фармаконадзора Евразийского экономического союза». [Электронный ресурс] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207352/

2. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 31.08.2016 г. № 647н «Об утверждении Правил надлежащей аптечной практики лекарственных препаратов для медицинского применения». [Электронный ресурс]URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_210618/

3. Приказ Министерства труда и социальной защиты РФ от 22.05.2017 г. № 428н «Об утверждении профессионального стандарта «Специалист в области управления фармацевтической деятельностью». [Электронный ресурс] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_217941/

4. Приказ Минтруда России от 22.05.2017 № 427н «Об утверждении профессионального стандарта «Провизор-аналитик». [Электронный ресурс] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_217937/

5. Приказ Минтруда России от 09.03.2016 № 91н «Об утверждении профессионального стандарта «Провизор». [Электронный ресурс] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_196697/

6. Приказ Минтруда России от 31.05.2021 № 349н «Об утверждении профессионального стандарта «Фармацевт». [Электронный ресурс] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_389037/

SUMMARY

ANALYSIS OF THE ACTIVITY OF PHARMACY ORGANIZATIONS IN THE PHARMACOVIGILANCE SYSTEM

Bashirova R.R., 5th year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St. Petersburg, 197376, Russian Federation

Annotation. Legal regulation of pharmacovigilance system in pharmacy organizations have been studied, a sociological research of the awareness of visitors of the occurrence of side drug reactions, unwanted side reactions, serious unwanted side reactions, unforeseen unwanted side reactions, individual intolerance, lack of effectiveness of drug has been conducted.

Keywords: *pharmacovigilance, unwanted side reactions, spontaneous messages, pharmacy organization, pharmaceutical workers, good pharmacy practice, quality management system.*

REFERENCES

1. Reshenie Soveta Evrazijskoj Ekonomicheskoj Komissii ot 03.11.2016 g. № 87 «Ob utverzhdenii Pravil nadlezhashchej praktiki farmakonadzora Evrazijskogo ekonomicheskogo soyuza» [Internet] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207352/(in Russian).
2. Prikaz Ministerstva zdravoohraneniya RF ot 31.08.2016 g. № 647n «Ob utverzhdenii Pravil nadlezhashchej aptechnoj praktiki lekarstvennyh preparatov dlya medicinskogo primeneniya» [Internet] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_210618/(in Russian).
3. Prikaz Ministerstva truda i social'noj zashchity RF ot 22.05.2017 g. № 428n «Ob utverzhdenii professional'nogo standarta «Specialist v oblasti upravleniya farmacevticheskoj deyatel'nost'yu» [Internet] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_217941/(in Russian).
4. Prikaz Mintruda Rossii ot 22.05.2017 № 427n «Ob utverzhdenii professional'nogo standarta «Provizor-analitik». [Internet] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_217937/(in Russian).
5. Prikaz Mintruda Rossii ot 09.03.2016 № 91n «Ob utverzhdenii professional'nogo standarta «Provizor» [Internet] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_196697/(in Russian).
6. Prikaz Mintruda Rossii ot 31.05.2021 № 349n «Ob utverzhdenii professional'nogo standarta «Farmacevt» [Internet] URL : http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_389037/(in Russian).

УДК: 615.263:613.495(045)

АНАЛИЗ РОССИЙСКОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА В СЕГМЕНТЕ ПАРФЮМЕРНО-КОСМЕТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ АКНЕ

Библенко П.С., студ. 5 курса
Руководитель: **Фитисова А.И.**, канд. фарм. наук, доцент, ORCID:0000-0001-9534-0398
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14., Российская Федерация
E-mail: biblenko.polina@pharminnotech.com

В рамках настоящего исследования проведен сравнительный анализ российского фармацевтического рынка в разрезе сегмента лекарственных препаратов и парфюмерно-косметических средств для терапии и коррекции акне, выявлены различия в формах выпуска и рецептуре. Проведена оценка уровня научных исследований и направлений инновационных разработок в области лечения и коррекции акне на основе патентной документации, отмечены векторы развития сегмента. Установлено, что перспективным направлением является введение в рецептуру лекарственных препаратов и парфюмерно-косметических средств растительных экстрактов (16,04%) и отдельных компонентов, выделенных из растений (14,15%).

Ключевые слова: *акне, парфюмерно-косметические средства, российский фармацевтический рынок.*

Акне (acne vulgaris) – распространенное хроническое мультифакториальное заболевание сально-волосяных фолликулов с генетической предрасположенностью. Стоит отметить, что, несмотря на современную диагностику и подходы к терапии, данное заболевание является одним из самых распространенных среди населения. Акне, по данным рандомизированных исследований, начинается обычно в пубертатном периоде и регистрируется у 44,1–94,9% лиц подросткового возраста, у 18,4–50,9% лиц старше 21 года. При этом частота акне средней и тяжелой степени тяжести составляет 20-35% [1]. Несовершенство кожных покровов является обоснованной причиной обращения к специалисту дерматологу или косметологу для направленной наружной терапии с устойчивым положительным эффектом, что также требует персонализированного подхода [2].

Целью работы было проанализировать в сравнительном аспекте центральные показатели, характеризующие структуру российского сегмента лекарственных препаратов и парфюмерно-косметической продукции в терапии и коррекции акне.

Материалы и методы

Для проведения исследования использовались теоретические методы анализа, методы агрегирования данных, сравнения, индукции, а также маркетинговый анализ. Получены исходные данные с помощью контент-анализа Государственного реестра лекарственных средств и Единого реестра свидетельств о государственной регистрации. Информационную базу для построения патентного ландшафта составили данные Федерального института промышленной собственности [3,4,5].

Результаты и обсуждение

Результаты анализа демонстрируют, что инновационные разработки в исследуемой области многовекторны и охватывают отдельные аспекты применения парфюмерно-косметической продукции и лекарственных средств для лечения и коррекции акне, совершенствования состава данных средств, а также разработку новых способов лечения и технических средств, применяемых для этой цели. Как свидетельствуют данные Федерального института промышленной собственности, США является лидером отрасли и имеет наибольший удельный вес в структуре рынка инноваций в области лечения и коррекции акне (31,7%). К перечню стран, лидирующих по количеству зарегистрированных патентов на изобретения, относятся также Россия (14,6%), Швейцария (8,9%), Великобритания (6,1%) и Франция (5,7%) [3]. Необходимо отметить, что основными направлениями развития рынка инноваций в области лечения и коррекции акне за последние 5 лет (2017-2022 г.) стали: совершенствование состава средств посредством разработки как готовых композиций (47,7%), так и отдельных активных компонентов (30,7%), поиск новых способов лечения (9,2%), совершенствование технических устройств (7,8%), а также способов производства (2,6%) и вспомогательных веществ (2,0%) (рис. 1).

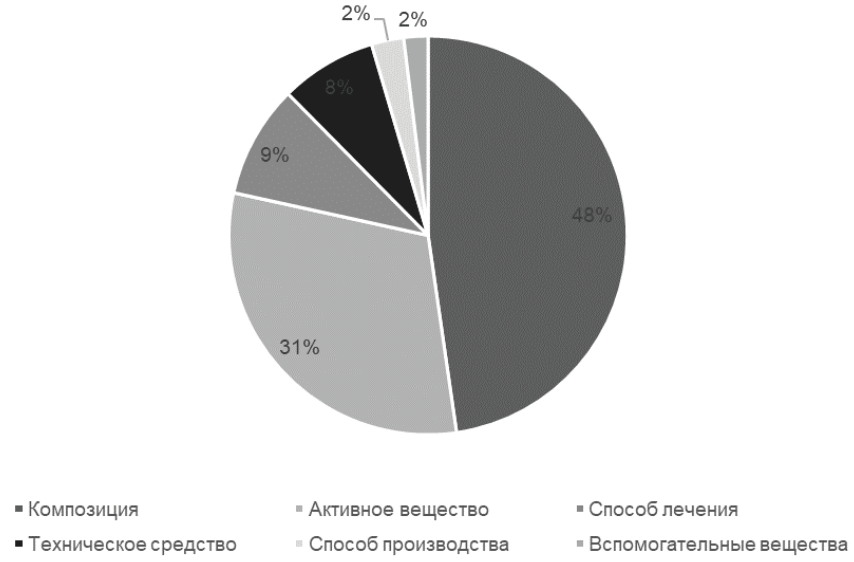


Рисунок 1 . Структуризация патентного ландшафта по объекту изобретения

Установлено, что среди изобретений, касающихся состава парфюмерно-косметической продукции и лекарственных средств, можно выделить ряд групп с перспективными возможностями применения полученных активных компонентов, действующих веществ или композиций. Большинство изобретений в области лечения акне можно использовать как лекарственное средство (59,5%). В разработке парфюмерно-косметического или лекарственного средства возможно использование 21,4% изобретений, в качестве только парфюмерно-косметического – 19,0%.

В рассматриваемой области нельзя обойти вниманием вклад компаний Galderma S.A., Colgate-Palmolive Company, Allergan, Inc, Johnson & Johnson, которые, главным образом, формируют структуру предложения среди инновационных продуктов на мировом фармацевтическом рынке. Данные компании являются лидерами по количеству передовых разработок в области лечения и коррекции акне за 2012-2022 гг. Данное обстоятельство свидетельствует о масштабности научно-исследовательских работ, проводимых с целью повышения эффективности выпускаемой продукции [3].

Среди современных направлений совершенствования состава парфюмерно-косметической продукции и лекарственных средств наружного применения, используемых для терапии и коррекции акне, можно выделить отдельные компоненты с наибольшим удельным весом в инновационном сегменте (рис. 2). Примечательно, что наиболее актуальными компонентами являются растительные экстракты (16,04%) и отдельные компоненты, выделенные из растений (14,15%), что подчеркивает широкий спектр действия отдельных биологически активных веществ и перспективность применения в рецептуре косметических средств [6].

Рисунок 2. Структуризация патентов по активным компонентам парфюмерно-косметических и лекарственных средств

Важно подчеркнуть, что на сегодняшний день эффективным средством терапии акне различной степени тяжести являются лекарственные средства, в т.ч. для системного и местного применения. В рамках данного исследования установлено, что на российском фармацевтическом рынке превалируют лекарственные средства для местного применения. Оценка данных Государственного реестра лекарственных средств показала, что наибольший удельный вес имеет раствор для наружного применения (32%), а также мазь и гель для наружного применения (24%) (рис. 3).

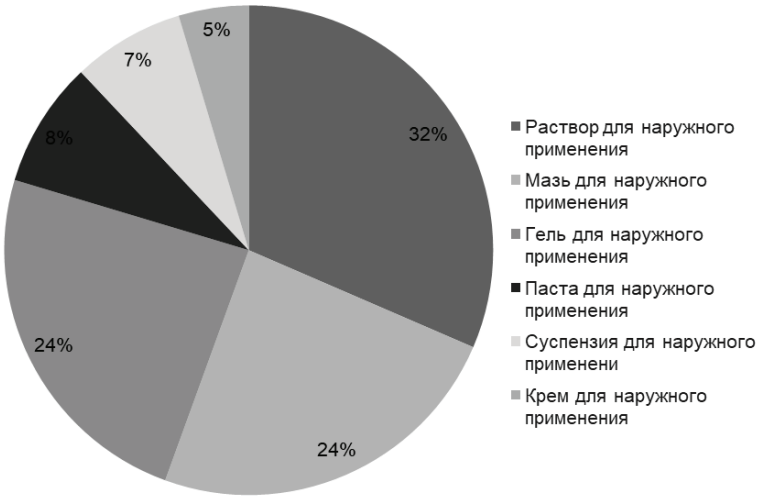


Рисунок 3. Структура лекарственных средств для лечения акне по форме выпуска, 2022 г.

Сравнительный анализ состава лекарственных средств для лечения акне демонстрирует наибольшую долю средств с международным непатентованным наименованием (МНН) «салициловая кислота» (41%), «цинка оксид» (26%), «адапален» (8%), «клиндамицин» (8%) и «бензоила пероксид» (8%) (рис. 4).

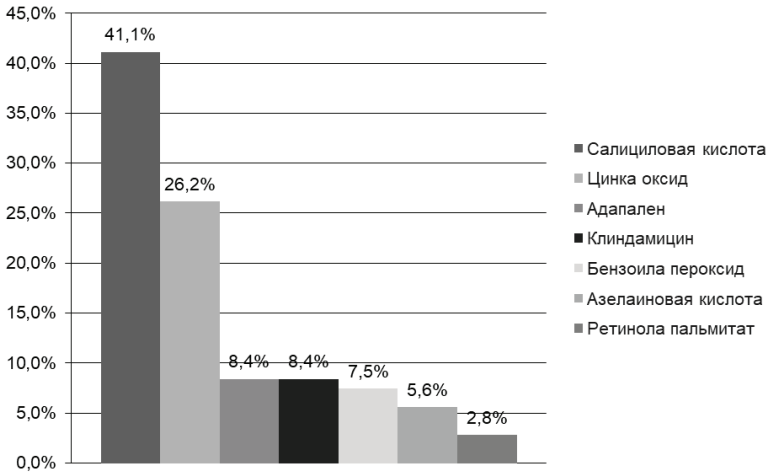


Рисунок 4. Структура лекарственных средств для лечения акне по МНН, 2022 г.

Установлено, что важной составляющей лечения и профилактики акне вне зависимости от степени тяжести заболевания являются косметические средства, активно применяемые в качестве адъювантной терапии [7]. Анализ рынка парфюмерно-косметической продукции для коррекции акне позволил выделить основные тренды в данном сегменте фармацевтического рынка. Как свидетельствуют полученные данные, косметические средства, применяемые при акне, представлены множеством форм выпуска: пилинги, крема, маски, гели, сыворотки, тонизирующие средства, средства для локального применения и др. (рис. 5).

Рисунок 5. Структура парфюмерно-косметических средств для коррекции акне по форме выпуска, 2022 г.
**Примечание: другое – солнцезащитный крем (0,76%), эмульсия (0,58%), коктейль для аппаратной косметологии(0,58%), жидкость-концентрат (0,4%), молочко (0,4%), масло косметическое (0,4%), порошок (0,26%), очищающие диски (0,26%)*

Сравнительный анализ форм выпуска данной группы парфюмерно-косметических средств указывает на тот факт, что наибольший удельный вес имеют такие формы выпуска, как: пилинг (16,4%), крем (13,7%), маска (10,5%), гель (9,1%), очищающий гель (8,6%), сыворотка (7,6%), тонизирующее средство (7,1%).

Рынок парфюмерно-косметической продукции для коррекции акне представлен большим спектром производителей (139 компаний), что подчеркивает высокую конкуренцию в исследуемом сегменте. При этом можно выделить компании, в продуктовом портфеле которых группа косметических средств для коррекции акне представлена наиболее широко. Одной из таких компаний-производителей является компания Dermacol (Чехия), выпускающая линию ухода за кожей с акне из 8 позиций, что позволяет обеспечить все необходимые этапы ухода за кожей. Оценка структуры парфюмерно-косметических средств для коррекции акне показала, что наибольшую долю занимают такие страны-производители, как: Россия (20,8%), Франция (15.2%), США (13,2%), Польша (8,6%), Израиль (5,9%), Корея (5,9%), Япония (5,4%) и Италия (5,8%).

Заключение

Таким образом, сравнительный анализ ассортиментной структуры фармацевтического рынка в разрезе лекарственных и косметических средств для лечения и коррекции акне позволил выявить различия в формах выпуска и активных ингредиентах. Косметические средства отличается большим разнообразием, в т.ч. спектром применяемых активных компонентов, что свидетельствует о востребованности и рациональности использования данной продукции при коррекции акне. Современные векторы инновационных разработок в области лечения и коррекции акне направлены в основном на разработку эффективных композиций косметических средств. Анализ патентного ландшафта позволил выделить тренды в разработке состава косметических и лекарственных средств, а именно использование растительных экстрактов и выделенных из них индивидуальных компонентов.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

79.00.00. Медицина и здравоохранение

76.01.11. Современное состояние и перспективы развития

ЛИТЕРАТУРА

1. The influence of exposome on acne / B. Dreno [et al.] // J. Eur. Acad. of Dermatol. and Venereol. 2018. Vol. 32(5). P. 812-819. doi: 10.1111/jdv.14820.

2. Катханова О.А., Катханов А.М. Акне с позиции дерматолога и косметолога // Вестник дерматологии и венерологии. 2014. Т. 90. N 4. С. 75-82. doi: 10.25208/0042-4609-2014-90-4-75-82

3. Федеральный институт промышленной собственности [Электронный ресурс]. URL: https://www.fips.ru/ (Дата обращения: 01.02.2022).

4. Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx. (Дата обращения 01.02.2022).

5. Единый реестр свидетельств о государственной регистрации. [Электронный ресурс]. URL: https://portal.eaeunion.org/ (Дата обращения 10.02.2022).

6. Jaykant V., Anshu S., Hashmukh M. Antibacterial and antioxidant strategies for acne treatment through plant extracts // Informatics in Medicine Unlocked. Vol. 13 P. 128-132. doi.:10.1016/j.imu.2017.10.005.

7. The application of skin care product in acne treatment / J. Zhao [et al.] // Dermatologic Therapy. Vol. 33(6). doi:10.1111/dth.14287

SUMMARY

COMPLEX EVALUATION OF THE PHARMACEUTICAL MARKET IN A SEGMENT OF ACNE TREATMENTS

Biblenko P.S., 5th year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: biblenko.polina@pharminnotech.com

The present study includes a comparative analysis of the Russian pharmaceutical market in the segment of drugs and cosmetics for acne treatment. The study revealed differences in the forms of release and formulations of the treatments. The level of scientific research and innovative development directions in the field of acne treatment was evaluated on the basis of patent documentation. The vectors of the segment development were analyzed. It has been established that a prospective direction is the introduction of plant extracts (16,04%) and individual components isolated from plants (14,15%) into the formulation of drugs and cosmetics for acne treatment.

Keywords: *acne, cosmetics, Russian pharmaceutical market.*

REFERENCES

1. The influence of exposome on acne / B. Dreno [et al.] // J. Eur. Acad. of Dermatol. and Venereol. 2018. Vol. 32(5). P. 812–819. doi: 10.1111/jdv.14820.

2. Katkhanova O.A., Katkhanov M.A. Acne from the point of view of dermatologists and cosmetologists // Vestnik dermatologii i venerologii. 2014. Vol. 90(4). P. 75-82. doi: 10.25208/0042-4609-2014-90-4-75-82 (in Russian)

3. Federal Institute of Industrial Property [Internet]. URL: https://www.fips.ru/ (Accessed: 01.02.2022). (in Russian)

4. State register of medicines. [Internet]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx/ (Accessed: 01.02.2022). (in Russian)

5. Unified Register of State Registration Certificates. [Internet]. URL: https://portal.eaeunion.org/ (Accessed: 10.02.2022). (in Russian)

6. Jaykant V., Anshu S., Hashmukh M., Antibacterial and antioxidant strategies for acne treatment through plant extracts // Informatics in Medicine Unlocked. Vol. 13 P. 128-132. doi.:10.1016/j.imu.2017.10.005.

7. The application of skin care product in acne treatment / J. Zhao [et al.] // Dermatologic Therapy. Vol. 33(6). doi:10.1111/dth.14287

УДК 614.272:614.273:339.13:339.14:339.18

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, НАЗНАЧАЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Блинкова П.Р., аспирант 2 года обучения, **Балашова А.С.**, студ. 5 курса
Научные руководители: **Петрухина И.К.**, доктор фармацевтических наук, доцент,
Рязанова Т.К., кандидат фармацевтических наук
Самарский государственный медицинский университет
443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89, Российская Федерация
E-mail: p.r.blinkova@samsmu.ru

На примере розничного сектора фармацевтического рынка Самарской области проведен анализ ассортимента диуретических лекарственных препаратов, назначаемых для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы. Изучена структура потребляемого ассортимента в зависимости от МНН, торговых наименований, ценовых характеристик, видов лекарственных форм, производителей. Составлен рейтинг наиболее востребованных диуретических лекарственных препаратов в розничном секторе фармацевтического рынка.

Ключевые слова. *Заболевания сердечно-сосудистой системы, диуретические лекарственные препараты, лекарственное обеспечение населения.*

В настоящее время заболевания сердечно-сосудистой системы (ССЗ) являются основной причиной смертности среди населения. Согласно статистике ВОЗ, за последние 20 лет количество смертей от ССЗ увеличилось на 30% и состав-

ляет около 9 миллионов. Данная проблема является актуальной и на территории других государств, где около 16% от всех случаев смертности приходится на ССЗ [1].

По данным Министерства здравоохранения Российской Федерации, за период с 2014 по 2019 гг. количество зарегистрированных случаев заболеваний сердечно-сосудистой системы (ССС) составило около 17 тыс. в год. В последствии, на фоне распространения новой коронавирусной инфекции, этот показатель существенно увеличился. Смертность от ССЗ на территории РФ также возросла. К примеру, за период с января по октябрь 2020 года этот показатель вырос на 6,6% (по сравнению с аналогичным периодом 2019 года) [2].

В настоящее время в РФ реализуется федеральный проект «Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями». Ключевыми задачами проекта являются профилактика заболеваний ССС, своевременное выявление факторов риска развития сердечно-сосудистых осложнений, повышение качества оказания медицинской помощи и совершенствование лекарственного обеспечения данной категории пациентов [3, 4].

Для лечения заболеваний ССЗ применяются препараты различных фармакотерапевтических групп, одна из которых – диуретики. Их применение для целей достижения антигипертензивного эффекта началось в середине прошлого века, когда в 1956 г. был синтезирован и впервые в клинической практике применен хлортиазид. В 1957 г. был создан более мощный тиазидный диуретик – гидрохлортиазид. В 1959 г. появился тиазидоподобный диуретик хлорталидон, в 1974 г. – индапамид. Диуретические лекарственные препараты в виде монотерапии или в комбинации с другими антигипертензивными препаратами высоко эффективны для снижения артериального давления, в уменьшении частоты сердечно-сосудистых осложнений и смертности, безопасны у больных с неосложненной артериальной гипертензией (АГ), у пожилых с АГ и у больных АГ с сопутствующим сахарным диабетом [5].

В связи с этим актуальным является изучение ассортимента диуретических лекарственных препаратов, реализуемых на территории РФ. Целью нашей работы явилось маркетинговый анализ ассортимента диуретических лекарственных препаратов, представленных в аптечных организациях Самарской области.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

- проведен анализ ассортимента диуретических лекарственных препаратов (изучена структура ассортимента в разрезе МНН, торговых наименований, ценовых характеристик, видов лекарственных форм, производителей);
- сформирован рейтинг наиболее востребованных в розничном секторе фармацевтического рынка диуретических препаратов;
- разработаны математические модели, подтверждающие вклад отдельных номенклатурных позиций в общую структуру ассортимента диуретических лекарственных препаратов (в зависимости от объемов реализации в натуральном и денежном выражениях).

В качестве объектов исследования использована номенклатура лекарственных препаратов, реализованных в аптечной сети Самарской области за период 2018-2020 гг. Исследование проводилось на примере аптечной сети, которая включает 30 аптек общего типа, расположенных в городах Самара и Тольятти. Аптеки данной сети имеют высокую пешеходно-транспортную доступность, а также широкий ассортимент лекарственных препаратов и других товаров аптечного ассортимента (около 25,4 тыс. номенклатурных позиций).

Выбор в качестве субъекта РФ Самарской области обусловлен тем, что розничный сектор регионального фармацевтического рынка является высококонцентрированным, – здесь представлено около 2 тыс. аптечных организаций. В регионе работает большое количество организаций амбулаторно-поликлинического и стационарного типов, оказывающих медицинскую помощь больным с сердечно-сосудистыми заболеваниями [4].

Анализ показал, что за период 2018-2020 гг. в анализируемой аптечной сети осуществлялась розничная реализация 10-11 МНН диуретических лекарственных препаратов, что соответствует 34-38 торговым наименованиям и 81-108 номенклатурным позициям.

По состоянию на 2020 г. представлены различные виды диуретиков с большой глубиной ассортимента: петлевые (фуросемид, торасемид); калийсберегающие (эплеренон, спиронолактон); тиазидные и тиазидоподобные (гидрохлортиазид, индапамид); ингибиторы карбоангидразы (ацетазоламид); осмотические (маннитол), а также комбинированные (триамтерен + гидрохлортиазид; периндоприл + индапамид) и фитопрепараты. Наблюдается прирост ассортимента за счет добавления новых МНН, торговых наименований и номенклатурных позиций.

Лидерами по номенклатуре являются индапамид и торасемид (табл. 1). Минимальное число номенклатурных позиций у ацетазоламида, маннитола, эплеренона, фитопрепаратов и у комбинированных препаратов. Большое количество номенклатурных позиций у торасемида обусловлено разнообразием дозировок и количества таблеток в упаковке. Разнообразие номенклатуры у индапамида – за счет новых форм выпуска и дозировок.

Таблица 1 – Анализ номенклатуры диуретических лекарственных препаратов, реализуемых в розничном секторе Самарской области, в 2018-2020 гг.

МНН	2018 г.		2019 г.		2020 г.	
	Количество номенклатурных позиций	Доля в общей структуре номенклатурных позиций, %	Количество номенклатурных позиций	Доля в общей структуре номенклатурных позиций, %	Количество номенклатурных позиций	Доля в общей структуре номенклатурных позиций, %
Ацетазоламид	1	1,2	1	1	2	1,9
Гидрохлоротиазид	7	8,6	7	7	7	6,5

МНН	2018 г.		2019 г.		2020 г.	
	Количество номенклатурных позиций	Доля в общей структуре номенклатурных позиций, %	Количество номенклатурных позиций	Доля в общей структуре номенклатурных позиций, %	Количество номенклатурных позиций	Доля в общей структуре номенклатурных позиций, %
Индапамид	22	27,2	26	26	28	25,9
Индапамид + периндоприл + розувастатин	-	-	-	-	2	1,9
Маннитол	3	3,7	6	6	5	4,6
Периндоприл + индапамид	2	2,5	2	2	2	1,9
Спиронолактон	8	9,9	9	9	10	9,3
Торасемид	17	21,0	29	29	31	28,7
Триамтерен + гидрохлоротиазид	1	1,2	1	1	1	0,9
Фуросемид	13	16,0	11	11	11	10,2
Эплеренон	4	4,9	4	4	4	3,7
Фитопрепараты	3	3,7	4	4	5	4,6

На основании приведенных данных можно сделать заключение о тенденции ежегодного увеличения номенклатурных позиций у индапамида и торасемида. Они занимают более 50% в общей структуре номенклатуры диуретических препаратов. Также отмечены препараты с незначительным разнообразием номенклатуры, к ним относятся: ацетазоламид, гидрохлортиазид, маннитол, эплеренон, фитопрепараты и комбинированные препараты.

В результате анализа ассортимента диуретических лекарственных препаратов по форме выпуска и производителям установлено, что подавляющее большинство лекарственных препаратов представлено в твердой лекарственной форме, а именно в таблетках и капсулах. Доля таблеток в твердой лекарственной форме составляет около 80%. Увеличение лекарственных препаратов в твердых лекарственных формах происходит по причине их удобства для применения.

Большая часть диуретических лекарственных препаратов, представленных в анализируемой аптечной сети, произведена отечественными предприятиями (табл. 2). Их доля продолжает увеличиваться (прежде всего, за счет производства дженериков с глубоким ассортиментом). Основными производителями выступают такие предприятия, как «Озон», «Акрихин», «Биосинтез», «Фармстандарт».

Таблица 2 – Анализ ассортимента диуретических лекарственных препаратов по странам-производителям в 2018-2020 гг.

МНН	Отечественного производства	Зарубежного производства
Ацетазоламид	100%	-
Гидрохлоротиазид	71%	29%
Индапамид	82%	18%
Индапамид + периндоприл + розувастатин	-	100%
Маннитол	100%	-
Периндоприл + индапамид	-	100%
Спиронолактон	100%	-
Торасемид	93%	7%
Триамтерен + гидрохлоротиазид	-	100%
Фуросемид	82%	18%
Эплеренон	-	100%
Фитопрепараты	100%	-

Ацетазоламид, маннитол, спиронолактон и фитопрепараты производятся только на российских предприятиях. В то же время комбинированные препараты и эплеренон производятся исключительно иностранными заводами, их доля составляет менее 9% от общего числа номенклатурных позиций.

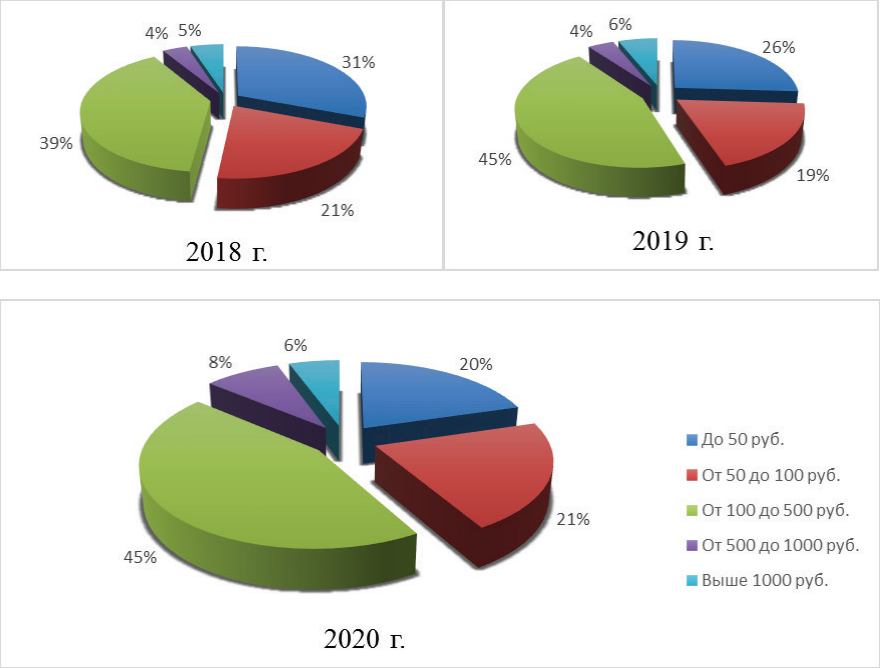


Рисунок 1. Анализ реализации диуретических лекарственных препаратов по ценовым характеристикам в 2018-2020 гг.

На основании данных диаграмм (рис. 1) можно сделать заключение о том, что высоким спросом пользуются лекарственные препараты среднего ценового сегмента стоимостью от 100 до 500 рублей за упаковку. В 2018 г. в структуре ассортимента анализируемой группы на долю лекарственных препаратов в ценовой категории от 100 до 500 руб. приходится 39%. В 2019 и 2020 г. это значение увеличилось до 45%. Также препараты в ценовой категории от 500 до 1000 руб. в 2018 и 2019 г. составляли по 4%, а начиная с 2020 г. значение увеличилось до 8%. Практически не изменился спрос на препараты в ценовой категории от 50 до 100 руб. и выше 1000 руб. за три года. Заметна тенденция снижения значений в ценовой категории до 50 руб. На 2018 г. значение составляло 31%, а в 2019 и 2020г. сократилось до 26 и 20% соответственно, что связано с повышением цен на препараты.

Маркетинговое исследование по анализу изменения объемов реализации лекарственных препаратов за период 2018-2020 гг. проводилось по двум направлениям:

1) Анализ ассортимента по изменению объемов реализации в натуральном выражении (по количеству упаковок);

2) Анализ ассортимента по изменению объемов реализации в денежном выражении (в рублях, по розничным ценам).

Абсолютным лидером продаж в натуральном выражении (в уп.) является верошпирон, в 2018 и 2019 г. значение реализации составляло по 14%, а в 2020 г. увеличилось до 15%. Относительно стабилен в реализации гипотиазид. В 2018 и 2019 г. значение реализации гипотиазида составляло 7%, в 2020 незначительно снизилось до 6%.

Нами был составлен рейтинг наиболее востребованных номенклатурных позиций в натуральном выражении (таб.3).

Таблица 3 – ТОР-10 диуретических лекарственных препаратов, имеющих максимальные объемы реализации в розничном секторе фармацевтического рынка в натуральном выражении (в уп.), по итогам 2020 г.

2018	2019	2020
Верошпирон таб. 25мг №20	Верошпирон таб. 25мг №20	Верошпирон таб. 25мг №20
Фуросемид таб. 40мг №50	Гипотиазид таб. 25мг №20	Гипотиазид таб. 25мг №20
Гипотиазид таб. 25мг №20	Фуросемид таб. 40мг №20	Индапамид-Тева таб. п/о 2.5мг №30
Индапамид таб. п/п/о 2.5мг №30	Индапамид таб. п/п/о 2.5мг №30	Индапамид МВ Штада таб. п/п/о 1.5мг №30
Арифон ретард таб. кв п/п/о 1.5мг №30	Индапамид МВ Штада таб. п/п/о 1.5мг №30	Арифон ретард таб. кв п/п/о 1.5мг №30
Индапамид капс. 2.5 мг №30	Фуросемид таб. 40мг №50	Фуросемид р-р д/ин 10мг/мл 2мл №10
Индапамид МВ Штада таб. п/п/о 1.5 мг №30	Арифон ретард таб. кв п/п/о 1.5мг №30	Фуросемид таб. 40мг №50
Лазикс таб. 40мг №45	Индапамид ретард таб. п/о 1.5 мг №30	Индапамид таб. п/п/о 2.5 мг №30
Индапамид таб. п/д п/п/о 1.5 мг №30	Диакарб таб. 250 мг №30	Верошпирон капс. 50мг №30
Диакарб таб. 250 мг №30	Лазикс таб. 40мг №45	Индапамид ретард таб. п/о 1.5 мг №30

Арифон ретард реализуется в меньшем количестве упаковок, чем верошпирон, однако за счет более высокой цены занимает лидирующую позицию. Значения реализации в денежном выражении держатся примерно на одном уровне,

так в 2018 г. у арифон ретард этот показатель составил 11%, в 2019 и 2020 г. – 9% и 10% соответственно. Значения верошпирона в 2018, 2019 и 2020 г. – по 9%. Диакарб имеет тенденцию к снижению значений реализации: в 2018г. – 6%, 2019 и 2020 – 5% и 4% соответственно. На смену диувера, реализация которого в 2018 г. составила 4%, пришел эспиро, который в 2019 и 2020 г. составил в структуре объемов реализации в денежном выражении 5% и 7% соответственно. Нами был составлен рейтинг наиболее востребованных номенклатурных позиций в денежном выражении (табл. 4).

Таблица 4 – ТОР-10 диуретических лекарственных препаратов, имеющих максимальные объемы реализации в розничном секторе фармацевтического рынка в денежном выражении (в руб.), по итогам 2020 г.

2018	2019	2020
Арифон ретард таб. кв п/п/о 1.5мг №30	Арифон ретард таб. кв п/п/о 1.5мг №30	Арифон ретард таб. кв п/п/о 1.5мг №30
Верошпирон таб. 25мг №20	Верошпирон таб. 25мг №20	Верошпирон таб. 25мг №20
Диакарб таб. 250мг №30	Диакарб таб. 250мг №30	Эспиро таб. п/п/о 25мг №30
Гипотиазид таб. 25мг №20	Эспиро таб. п/п/о 25мг №30	Верошпирон капс. 50мг №30
Диувер таб. 10мг №60	Гипотиазид таб. 25мг №20	Диакарб таб. 250мг №30
Диувер таб. 5мг №20	Индапамид МВ Штада таб. п/п/о 1.5мг №30	Инспра таб. п/о 25мг №30
Диувер таб. 10мг №20	Верошпирон капс. 50мг №30	Гипотиазид таб. 25мг №20
Верошпирон капс. 50мг №30	Индапамид таб. п/п/о 2.5 мг №30	Диувер таб. 5мг №20
Индапамид таб. п/п/о 2.5 мг №30	Инспра таб. п/о 25мг №30	Индапамид МВ Штада таб. п/п/о 1.5мг №30
Триампур композитум таб. 12.5мг+25мг №50	Диувер таб. 5мг №20	Индапамид-Тева таб. п/о 2.5мг №30

Для анализа фактора сезонности были выбраны наиболее востребованные в аптечной сети диуретические лекарственные препараты: верошпирон таб. 25 мг №20; гипотиазид таб. 25 мг №20; фуросемид таб. 40мг №50.

Рисунок 2. Суммарное количество реализованных упаковок препарата «Верошпирон таб. 25 мг №20» за январь-декабрь 2018-2020 гг.

Диуретический лекарственный препарат «Верошпирон таб. 25 мг №20» пользуется спросом у посетителей аптеки в течение всего года и не зависит от сезона (рис. 2).

Рисунок 3. Суммарное количество реализованных упаковок препарата «Гипотиазид таб. 25мг №20» за январь-декабрь 2018-2020 гг.

Диуретический лекарственный препарат «Гипотиазид таб. 25 мг №20» также пользуется спросом у посетителей аптеки в течение всего года и не зависит от сезона.

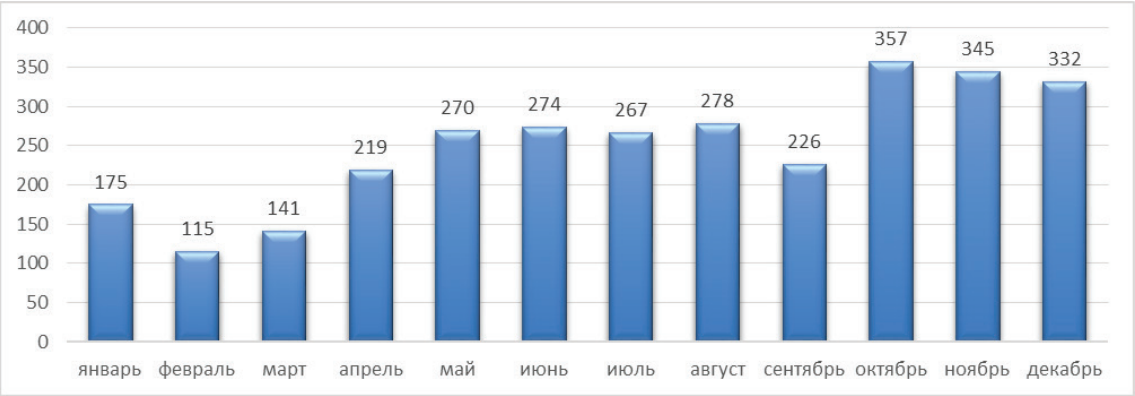


Рисунок 4. Суммарное количество реализованных упаковок препарата «Фуросемид таб. 40 мг №20» за январь-декабрь 2018-2020 гг.

Заметны достаточно сильные колебания в реализации фуросемида (рис. 4). Возможно, это связано со снижением поставок препарата из-за нерентабельности производства. Стоимость фармацевтической субстанции растет, а цена на препарат регулируется государством.

На примере розничного сектора фармацевтического рынка Самарской области проведен анализ ассортимента диуретических лекарственных препаратов. Изучена структура потребляемого ассортимента в зависимости от МНН, торговых наименований, ценовых характеристик, видов лекарственных форм, производителей, фактора сезонности. Составлены рейтинги наиболее востребованных диуретических лекарственных препаратов в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области. Установлено, что ассортимент диуретических лекарственных препаратов аптечной сети достаточно широк, что удовлетворяет спрос покупателей. Наиболее востребованными номенклатурными позициями из ТОП-10 диуретических лекарственных препаратов являются: верошпирон таб. 25мг №20; гипотиазид таб. 25мг №20; фуросемид таб. 40мг №20; индапамид МВ Штада таб п/п/о 1.5мг №30; арифон ретард таб. п/п/о 1.5мг №30; фуросемид р-р д/ин 10мг/мл 2мл №10; индапамид таб п/п/о 2.5 мг №30; диакарб таб. 250 мг №30; лазикс таб. 40 мг №45. Доля отечественных лекарственных препаратов превышает долю препаратов зарубежного производства. Это связано с большим разнообразием дженерических препаратов. Значительную долю выпускаемого ассортимента выпускают отечественные фармацевтические производители «Озон», «Биосинтез», «Фармстандарт». Большинство наиболее востребованных лекарственных препаратов находятся в ценовом диапазоне от 100 до 500 рублей. За счет доступной цены объемы реализация этих лекарственных препаратов в анализируемой аптечной сети достаточно высоки.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Статистика заболеваемости и смертности от болезней системы кровообращения [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/ru/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019. (Дата обращения: 04.03.2022)

2. Распространенность заболеваний сердечно-сосудистой системы в РФ. [Электронный ресурс]. URL: https://minzdrav.gov.ru/news. (Дата обращения: 09.08.2021)

3. Постановление Правительства РФ от 26 декабря 2017 г. N 1640 «Об утверждении государственной программы Российской Федерации «Развитие здравоохранения».

4. Постановление Правительства РФ от 31 марта 2021 г. N 512 «О внесении изменений в государственную программу Российской Федерации «Развитие здравоохранения».

5. Кобалава Ж.Д., Виллевальде С.В. Диуретики – краеугольный камень современной атигипертензивной терапии // Артериальная гипертензия. 2005. Т. 11. N 4. С. 217-224

SUMMARY

ANALYSIS OF ASSORTIMENT OF MEDICAL PREPARATIONS FOR PATIENTS WITH DESEASES OF CARDIOVASCULAR SYSTEM

Blinkova P.R., 2st year postgraduate student, **Balashova A.S.**, 5th year student
Scientific adviser: **Petrukhina I.K.**, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor,
Ryazanova T.K., candidate of Pharmaceutical Sciences
Samara State Medical University;
89, Chapaevskaya St., Samara, 443099, Russian Federation
E-mail: p.r.blinkova@samsmu.ru

On the example of the retail sector of the pharmaceutical market of the Samara region, an analysis was made of the range of diuretic drugs prescribed for the treatment of diseases of the cardiovascular system. The structure of the consumed assortment

was studied depending on the INN, trade names, price characteristics, types of dosage forms, manufacturers. The rating of the most popular diuretic drugs in the retail sector of the pharmaceutical market of the Samara region has been compiled.

Keywords: *diseases of the cardiovascular system, diuretic drugs, drug provision of the population.*

REFERENCES

1. Statistics of morbidity and mortality from diseases of the circulatory system. [Internet]. URL: https://www.who.int/ru/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019. (Accessed: 04.03.2022). (in Russian)

2. The prevalence of diseases of the cardiovascular system in the Russian Federation. [Internet]. URL: https://minzdrav.gov.ru/news . (Accessed: 09.08.2021). (in Russian)

3. Decree of the Government of the Russian Federation of December 26, 2017 N 1640 «On approval of the state program of the Russian Federation «Health Development». (in Russian)

4. Decree of the Government of the Russian Federation of March 31, 2021 N 512 «On Amendments to the State Program of the Russian Federation «Health Development».(in Russian)

5. Kobalava J.D., Villevalde S.V. Diuretics – the cornerstone of modern antihypertensive therapy // Arterial hypertension. 2005. Vol. 11(4). P. 217-224 (in Russian)

УДК 615.281:614.27:616.98:578.834.1-036.21(470.43)

МАРКЕТИНГОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИКОАГУЛЯНТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ В АПТЕЧНОЙ СЕТИ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

Блинкова П.Р., асп. 2 года обучения, **Наместникова Е.В.**, студ. 5 курса обучения
Научные руководители: **Петрухина И.К.,** докт. фарм. наук, заместитель директора Института фармации
(ORCID: 0000-0001-6207-5575; ResearcherID: S-6142-2016)
Рязанова Т.К., канд. фарм. наук, доцент кафедры (ORCID: 0000-0002-4581-8610; ResearcherID: H-3398-2015)
Самарский государственный медицинский университет
443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89, Российская Федерация
E-mail: p.r.blinkova@samsmu.ru

Антикоагулянтная терапия относится к одному из наиболее востребованных в практической медицине подходов. В рамках настоящего исследования изучен ассортимент антикоагулянтных лекарственных средств на примере розничного сегмента регионального фармацевтического рынка. Определено, что ассортимент антикоагулятных лекарственных препаратов аптечной сети достаточно широк для удовлетворения потребности потребителей. Большинство антикоагулянтных лекарственных препаратов импортного производства, однако в последнее время виден рост доли отечественных производителей, что свидетельствует об усилении мощностей российского производства дженериковых препаратов. На основе проведенного анализа составлен рейтинг (ТОП-5) наиболее востребованных номенклатурных позиций рассматриваемой фармакотерапевтической группы.

Ключевые слова: *антикоагулянтные лекарственные препараты, розничный сектор фармацевтического рынка, маркетинговый анализ, импортозамещение, Самарская область.*

Фармацевтический рынок является одним из самых высокодоходных и быстрорастущих секторов мировой экономики. Этому способствует специфичность рынка, направленного на восстановление и поддержание здоровья людей [1-3]. Современный фармацевтический рынок насыщен значительным количеством лекарственных препаратов. Это заставляет участников рынка стремиться к укреплению своих позиций, а производителям новых препаратов – находить оптимальные механизмы их вывода на рынок. Поэтому использование результатов маркетинговых исследований в деятельности фармацевтических компаний – неотъемлемый элемент организации фармацевтического бизнеса. Маркетинговые исследования потребителей фармацевтических препаратов позволяют получить количественную оценку деятельности фармацевтической компании и ее конкурентов [1-3].

Из числа лекарственных препаратов антикоагулянтная терапия относится к одному из наиболее востребованных в практической медицине подходов. Антикоагулянты – высокоэффективные препараты, которые показаны в самых разных клинических ситуациях, от неотложных лечебных вмешательств до длительной поддерживающей и профилактической терапии. Их эффект проявляется в улучшении реологических свойств крови и антитромботическом действии, поэтому целью антикоагулянтной терапии является ограничение начавшегося тромбоза и профилактика тромбоэмболических осложнений [4, 5].

Все вышеперечисленное подтверждает актуальность проведения маркетинговых исследований фармацевтического рынка лекарственных препаратов, применяющихся для антикоагулянтной терапии. Следовательно, возникает необходимость анализа антикоагулянтных лекарственных препаратов, а также их потребительских свойств и некоторых других характеристик.

Целью исследования являлось ретроспективное изучение ассортимента антикоагулянтных лекарственных препаратов, представленных в аптечных организациях Самарской области, с использованием инструментов маркетингового анализа.

В задачи исследования входили: анализ номенклатуры лекарственных препаратов, анализ лекарственных препаратов по форме выпуска, производителям, анализ ценовых характеристик.

Материалы и методы

Объектом исследования являлся ассортимент антикоагулянтных лекарственных препаратов, представленных в региональной аптечной сети Самарской области, за 2018-2020 гг. При выполнении исследования использованы методы сравнительного, ретроспективного, логического и контент-анализов. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программных средств MS Excel for Window.

Результаты и обсуждение

В 2018 г. общее количество антикоагулянтных лекарственных препаратов в исследованной региональной аптечной сети составляло 11 международных непатентованных наименований (МНН), 19 торговых наименования (ТН), 48 номенклатурных позиций, в 2019 г. – 12 МНН, 21 ТН, 45 номенклатурных позиций. В 2020 г. соответствующие значения составили 10 МНН, 19 ТН и 54 номенклатурных позиций.

В 2019 году номенклатура антикоагулянтных лекарственных препаратов уменьшилась в сравнении с 2018 годом на фоне увеличения общего числа лекарственных препаратов, но в 2020 номенклатура увеличилась в основном за счет появления новых дозировок лекарственных средств. По сравнению с 2018 г. в 2019 г. в ассортименте аптечной сети не были представлены 3 номенклатурных позиции Вессел Дуэ Ф, но появились препараты Флюксум и Фленокс Нео. В 2020 г. по сравнению с предшествующим периодом из ассортимента аптечной сети были исключены препараты сулодексида и аценокумарола, но появился Варфарин другого производителя и новые дозировки лекарственных препаратов.

Антиагрегантные лекарственные препараты составляли от 0,16% (2019 г.) до 0,19% (2018 г.) от общего количества номенклатурных позиций аптечной сети. Представлены антикоагулянтные лекарственные препараты как прямого (Ангиофлюкс, Гепарин, Клексан и др.), так и непрямого (Варфарин, Синкумар, Фенилин и др.) действия.

Большинство антиагрегантных лекарственных препаратов представлено в виде твердых лекарственных форм (преимущественно таблетки и капсулы): 62,0±5,0% от общего количества номенклатурных позиций. В таблетках выпускаются препараты варфарина (Варфарин Никомед, Варфарин, Варфарин Канон, Варфарин-OBL), ривароксабана (Ксарелто), аценокумарола (Синкумар), фениндиона (Фенилин), апиксабана (Эликвис). Капсулы представлены препаратами сулодексида (Ангиофлюкс, Вессел Дуэ Ф), дабигатрана этексилата (Прадакса).

Препараты в жидких лекарственных формах в основном представлены растворами для инъекций. В этой форме представлены препараты сулодексида (Ангиофлюкс, Вессел Дуэ Ф), эноксапарина натрия (Гемапаксан, Клексан, Фленокс Нео), гепарина натрия (Гепарин), далтепарина натрия (Фрагмин), нандропарина натрия (Фраксипарин), парнапарина натрия (Флюксум).

В течение рассматриваемого периода отмечена тенденция к увеличению доли препаратов в жидких лекарственных формах в среднем на 5% ежегодно в основном за счет появления новых дозировок инъекционных лекарственных препаратов.

Большинство номенклатурных позиций антикоагулянтных лекарственных препаратов импортного производства. Представлены лекарственных препараты производителей из следующих стран: Италия (Ангиофлюкс, Вессел Дуэ Ф, Гемапаксан, Флюксум), Польша (Варфарин Никомед), Франция (Клексан, Фраксипарин), Германия (Ксарелто, Прадакса, Фрагмин), Беларусь (Гепарин), Венгрия (Синкумар), Украина (Фенилин, Фленокс Нео), Пуэрто-Рико (Эликвис) и др. Основные зарубежные производители представлены такими компаниями, как Байер АГ (Германия), Берингер Ингельхайм Интернешнл ГмбХ (Германия), Санофи Винтроп Индустрия (Франция).

В 2019 г. доля импортных лекарственных препаратов увеличилась на 2%, а в 2020 г. сократилась на 12%, что свидетельствует об усилении мощностей российского производства по производству дженериковых препаратов.

Из таблицы 1 видно, что наиболее часто в рассматриваемой региональной аптечной сети обращались за антиагренатными препаратами, относящимся к ценовой категории 1000-5000 рублей. В 2018-2019 гг. спрос на номенклатурные позиции этой ценовой категории оставался относительно стабильным, в то время как в 2020 г. отмечено снижение спроса на 2%, что может быть связано со снижением доходов населения во время пандемии коронавирусной инфекции COVID-19. По данным Росстата доходы населения снизились в этот период на 3,5%.

Отмечена тенденция увеличения количества реализованных позиций в ценовой категории более 10000 руб. По состоянию на 2018 г. значение составило 6%, а в 2019 и 2020 годах – 9% и 11% соответственно. Во время пандемии коронавирусной инфекции COVID-19 назначались препараты, находящиеся в этой категории.

Таблица 1 – Анализ по ценовым характеристикам антиагрегантных лекарственных препаратов, представленных в региональной аптечной сети, в 2018-2020 гг.

Ценовая категория	Доля от общего количества реализованных упаковок, %		
	2018 г.	2019 г.	2020 г.
До 500 руб.	19	11	18
500-1000 руб.	13	20	11
1000-5000 руб.	56	56	54
5000-10000 руб.	6	4	6
10000 руб. и более	6	9	11

Согласно результатам анализа объемов реализации в натуральном выражении в разрезе номенклатурных позиций выявлено, что список востребованных лекарственных препаратов почти не менялся, лишь к 2020 г. из списка были исключены лекарственные препараты сулодексида, и был добавлен Эликвис в других дозировках. Эти препараты составляют более 50% объема реализации в натуральном выражении в исследуемой аптечной сети. Наиболее высоким спросом в 2018 и 2019 году пользовался препарат Варфарин Никомед (2,5 мг № 100) – 14% и 13% соответственно, но в 2020 году спрос снизился до 4%. В 2020 г. чаще обращались за препаратом Эликвис (5 мг №60) – 14%, что, по-видимому, обусловлено влиянием распространения COVID-19 (табл. 2).

Второе место в 2018 году занимал Ангиофлюкс (раствор для инъекций, 600 ЛЕ/2 мл, №10) с долей от общего объема реализации в натуральном выражении 10%, в 2019 году на вторую позицию по этому показателю вышел препарат Эликвис (табл. п/п/о, 5 мг, №60), а в 2020 году – Эликвис (табл.п/п/о, 5 мг, № 20).

Третьим по частоте обращаемости в 2018 году был Клексан (р-р д/ин., 6000 анти-Ха МЕ/0,6мл, №2) с долей от общего объема реализации в натуральном выражении 8%, в 2019 году – Ангиофлюкс (р-р д/ин, 600 ЛЕ/2мл, №10), в 2020 году – Ксарелто (табл. п/п/о, 20мг, №28).

В 2020 году объем реализации в натуральном выражении вырос почти в 2 раза по сравнению с предыдущим годами, что обусловлено влиянием пандемия коронавирусной инфекции COVID-19, при терапии которой антикоагулянты являются основными препаратами.

Таблица 2 – ТОП-5 по объемам реализации в натуральном выражении антикоагулянтных лекарственных препаратов, представленных в региональной аптечной сети, в 2018-2020 гг.

№ п/п	2018 г.		2019 г.		2020 г.	
	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %
1.	Варфарин Никомед (табл., 2,5 мг, №100)	14,0	Варфарин Никомед (табл., 2,5 мг, №100)	13,0	Эликвис (табл.п/п/о, 5мг, №60)	14,0
2.	Ангиофлюкс (р-р д/ин, 600 ЛЕ/2мл, №10)	10,0	Эликвис (табл.п/п/о, 5мг, №60)	12,0	Эликвис (табл.п/п/о, 5мг, №20)	11,0
3.	Клексан (р-р д/ин., 6000 анти-Ха МЕ/0.6мл, №2)	8,0	Ангиофлюкс (р-р д/ин, 600 ЛЕ/2мл, №10)	10,0	Ксарелто (табл. п/п/о, 20мг, №28)	10,0
4.	Эликвис (табл.п/п/о, 5мг, №60)	6,0	Эликвис (табл.п/п/о, 5мг, №20)	6,0	Эликвис (табл.п/п/о, 2,5мг, №60)	8,0
5	Вессел Дуэ Ф (р-р д/ин, 600 ЛЕ/2мл, №10)	5,0	Ксарелто (табл. п/п/о, 20мг, №28)	6,0	Эликвис (табл.п/п/о, 2,5мг, №20)	6,0

В дальнейшем проведен анализ распределения лекарственных препаратов по объемам реализации в денежном выражении. Лидирующие позиции по этому показателю занимает препарат Эликвис (табл.п/п/о, 5мг, №60). Доля от объема реализации в денежном выражении для препарата Эликвис (табл.п/п/о, 5мг, №60) в 2018 г. составила – 8%, в 2019 – 16%, а в 2020 году – 17% (табл. 3).

Таблица 3 – ТОП-5 по объемам реализации в денежном выражении антикоагулянтных лекарственных препаратов, представленных в региональной аптечной сети, в 2018-2020 гг.

№ п/п	2018 г.		2019 г.		2020 г.	
	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %
1.	Ангиофлюкс (р-р д/ин, 600 ЛЕ/2мл, №10)	9,0	Эликвис (табл.п/п/о, 5мг, №60)	16,0	Эликвис (табл.п/п/о, 5мг, №60)	17,0
2.	Эликвис (табл.п/п/о, 5мг, №60)	8,0	Ксарелто (табл. п/п/о, 20мг, №28)	9,0	Ксарелто (табл. п/п/о, 20мг, №28)	15,0
3.	Клексан (р-р д/ин.,4000 анти-Ха МЕ/0.4мл, №10)	8,0	Ангиофлюкс (р-р д/ин, 600 ЛЕ/2мл, №10)	8,0	Эликвис (табл.п/п/о, 2,5мг, №60)	10,0
4.	Ксарелто (табл. п/п/о, 20мг, №28)	8,0	Ксарелто (табл. п/п/о, 15мг, №28)	6,0	Клексан (р-р д/ин., 4000 анти-Ха МЕ/0.4мл, №10)	7,0
5	Ксарелто (табл. п/п/о, 15мг, №28)	6,0	Эликвис (табл.п/п/о, 2,5мг, №60)	5,0	Ксарелто (табл. п/п/о, 15мг, №28)	6,0

Заключение:

В ходе маркетингового исследования антикоагулянтных лекарственных препаратов региональной аптечной сети в Самарской области за 2018-2020 гг. установлено, что:

• Номенклатура антикоагулянтных лекарственных препаратов аптечной сети представлена достаточно широко для удовлетворения спроса покупателей;

• В ассортименте преобладают твердые лекарственные формы (таблетки и капсулы), но заметна тенденция увеличения доли жидких лекарственных форм;

• Доля импортных лекарственных препаратов превышает отечественные, но отмечена тенденция увеличения доли отечественных дженерических препаратов;

• Большинство антикоагулятных лекарственных препаратов в ассортименте региональной сети находится в ценовом диапазоне от 1000 до 5000 рублей.

• На основе проведенного анализа составлен рейтинг (ТОП-5) наиболее востребованных номенклатурных позиций рассматриваемой фармакотерапевтической группы. Наиболее востребованными были Варфарин Никомед (2,5 мг № 100), Эликвис (5 мг №60).

Маркетинговые исследования ассортимента аптечной сети важны для обеспечения устойчивого, конкурентоспособного функционирования и развития на рынке товаров и услуг с учетом состояния внутренней и внешней среды.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

06.56.21 Рыночная структура. Концентрация. Конкуренция. Предпринимательство

ЛИТЕРАТУРА

1. Applbaum K. Pharmaceutical Marketing and the Invention of the Medical Consumer // PLoS medicine. 2006.Vol. 3(4). P. e189. doi: 10.1371/journal.pmed.0030189

2. Srivastava V., Handa M., Vohra A. Pharmaceutical retailers and promotion by pharmaceutical companies in India // Journal of Medical Marketing. 2014. Vol. 14(2-3) P. 74-80. doi:10.1177/1745790414556562.

3. Леоненко Е.А., Кунев С.В. Тенденции, проблемы и перспективы развития маркетинга фармацевтического бизнеса в XXI веке // π-Economy. 2015. Т. 221. N 3. С. 96-104.

4. Anticoagulants Market by Drug Class (NOACs, Heparin & LMWH, Vitamin K Antagonist, and Others), Route of Administration (Oral Anticoagulant and Injectable Anticoagulant), and Application (Atrial Fibrillation & Heart Attack, Stroke, Deep Vein Thrombosis (DVT), Pulmonary Embolism (PE), and Others) - Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2018-2025 // Allied Market Research. [Inernet]. URL: https://www.alliedmarketresearch.com/anticoagulant-drugs-market

5. Harter K., Levine M., Henderson S.O. Anticoagulation drug therapy: a review // West J Emerg Med. 2015. Vol. 16(1) P. 11-17. doi:10.5811/westjem.2014.12.22933.

SUMMARY

MARKETING RESEARCH OF ANTITUMOR MEDICINES REPRESENTED IN THE PHARMACY NETWORK OF THE SAMARA REGION

Blinkova P.R., 2nd post-graduate student, **Izmaeva A.A.,** 5th year student

Scientific advisers: Petrukhina I.K., Doctor of Pharmacy, Deputy Director of the Institute of Pharmacy (ORCID: 0000-0001-6207-5575; ResearcherID: S-6142-2016),

Ryazanova T. K., Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department (ORCID: 0000-0002-4581-8610; ResearcherID: H-3398-2015)

Samara State Medical University, 443099, Samara, ul. Chapaevskaya, 89, Russian Federation

E-mail: p.r.blinkova@samsmu.ru

Anticoagulant therapy is one of the most popular approaches in practical medicine. In the framework of this study, the range of anticoagulant drugs was studied using the example of the retail segment of the regional pharmaceutical market. It was determined that the range of anticoagulant drugs of the pharmacy network is wide enough to meet the needs of consumers. Most anticoagulant medicines are imported, but recently there has been an increase in the share of domestic manufacturers, which indicates an increase in the capacity of Russian production of generic drugs. Based on the analysis, a rating (TOP-5) of the most popular nomenclature items of the considered pharmacotherapeutic group was compiled.

Keywords: *anticoagulant drugs, retail sector of the pharmaceutical market, marketing analysis, import substitution, Samara region.*

REFERENCES

1. Applbaum K. Pharmaceutical Marketing and the Invention of the Medical Consumer // PLoS medicine. 2006.Vol. 3(4). P. e189. doi: 10.1371/journal.pmed.0030189

2. Srivastava V., Handa M., Vohra A. Pharmaceutical retailers and promotion by pharmaceutical companies in India // Journal of Medical Marketing. 2014. Vol. 14(2-3). P. 74-80. doi:10.1177/1745790414556562.

3. Leonenko E.A., Kunev C.V. Trends, problems and prospects of development marketing in pharmaceutical business in the XXI century// π-Economy. 2015. Vol. 221(3). P. 96-104. (in Russian).

4. Anticoagulants Market by Drug Class (NOACs, Heparin & LMWH, Vitamin K Antagonist, and Others), Route of Administration (Oral Anticoagulant and Injectable Anticoagulant), and Application (Atrial Fibrillation & Heart Attack, Stroke, Deep Vein Thrombosis (DVT), Pulmonary Embolism (PE), and Others) - Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2018-2025 // Allied Market Research. [Inernet]. URL: https://www.alliedmarketresearch.com/anticoagulant-drugs-market

5. Harter K., Levine M., Henderson S.O. Anticoagulation drug therapy: a review // West J Emerg Med. 2015. Vol. 16(1). P. 11-17. doi:10.5811/westjem.2014.12.22933

УДК: 331.108

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОНЯТИЯ «СОЦИАЛЬНО-ПСИХОЛОГИЧЕСКИЙ КЛИМАТ КОЛЛЕКТИВА» И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ПЕРСОНАЛА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ

Бочкова Т.П., маг. 1 года обучения
Руководитель: **Сафронова Ж.С.,** к. пед. н., доцент, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: bochkova.tatyana@pharminnotech.com

В статье рассматриваются различные подходы к определению понятия «социально-психологический климат коллектива», выделены общие и оригинальные определения данного понятия авторов. Выявлено значение данного феномена для современной фармацевтической компании. Выделены основные факторы, влияющие на социально-психологический климат отдельного коллектива и всего персонала фармацевтического предприятия.

Ключевые слова: *социально-психологический климат, трудовой коллектив, факторы микросреды, факторы макросреды, женский коллектив, межличностные отношения, психологическая атмосфера, управление.*

На современном этапе развития фармацевтической отрасли происходит динамичное изменение рынка лекарственных средств, развитие инновационных технологий, провозглашается создание экспортно-ориентированного потенциала фармацевтической промышленности, наличие компетенций в исследованиях и разработках, производстве полного цикла, внедрение в клиническую практику и экспорт инновационных лекарственных средств [1]. Наблюдается рост социальной ответственности перед потребителями, предъявляются новые требования к управлению человеческими ресурсами. Изучение социально-психологических аспектов коллектива становится все более актуальным на фармацевтических предприятиях в связи с их огромным влиянием на процесс трудовой деятельности [2].

Актуальность исследования обоснована заинтересованностью руководителей фармацевтических организаций в повышении эффективности труда и улучшении качества производимой продукции. Здоровые и гармоничные отношения стали частью организационной культуры компании, которые влияют не только на сам рабочий процесс, но и на конечный продукт, а также на успех предприятия в целом [3].

Целью исследования является анализ понятия «социально-психологический климат коллектива» и выявление его значения для персонала фармацевтического предприятия.

Начиная с середины XX века, проблема климата коллектива (психологического, социального, социально-психологического, морального, организационного) не теряет своей актуальности и приобретает новое звучание в связи со сменой социальных систем, технологий и поколений. В 30 годах XX века ученые и практики начали задаваться вопросом, какие факторы влияют на труд работников, так оформляется классическая школа управления (Ф.У. Тейлор, Г.П. Гант, Френк и Лилиан Гилберты, Г. Эмерсон, А. Файоль и др.). Данное направление не давало полное удовлетворение при ответах на данный вопрос. Впоследствии, с развитием неоклассической школы управления (Э. Мейо, Мэри Паркер Фоллетт, Честер Бернард и др.), ученые обратили внимание на то, что производительность труда зависит от взаимоотношений между работниками, от их социальных связей, системы взаимоотношений и удовлетворенности ими [4; 5; 6].

В данный момент, для описания и характеристики рабочей атмосферы на предприятии используют понятие «социально-психологический климат коллектива». Первыми из отечественных авторов, исследующих психологический климат в производственных коллективах, стали Н.С. Мансуров и В.М. Шепель [7]. Как научное понятие «социально-психологический климат» было введено В.М. Шепелем. В работах автора данное понятие рассматривалось как эмоциональная окраска психологических связей членов коллектива, которая возникает на основе их отношений друг к другу, совпадения интересов, характеров, склонностей [8].

Проведенный анализ понятия «социально-психологический климат коллектива», позволил выявить, что данная проблема находится в спектре различных научных и практических направлений. Данный феномен изучался такими авторами, как Ильченко С.В., Пономарева Д.И., Карпикова М.О., Бикчинтаева Л.Г., Русалинова А.А., Кузьмин Е.С., Лутошкин А.Н., Шакуров Р.Х., Зиновьева Н.В., Буева Л.П., Обозов Н.Н., Платонов К.К. [7-13]. Результаты анализа понятия социально-психологического климата коллектива представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Понятие социально-психологического климата в трудах ученых

Понятие	Определение	Авторы
Социально-психологический климат – настрой	Психологический настрой коллектива, который проявляется как в отношениях людей друг к другу (опосредованных целями и сущностью трудовой деятельности), так и в их отношениях к труду как таковому (как общему, коллективному делу или системе дел)	Ильченко С. В.
	Определенный эмоциональный и мотивационный устойчивый настрой персонала, специфически проявляющийся в различных формах их деятельности.	Пономорева Д. И.
	Эмоционально-психологический настрой, настроение группы	Русалинова А.А., Лутошкин А.Н.

Понятие	Определение	Авторы
Социально-психологический климат – настрой	Системный психо-эмоциональный настрой трудового коллектива, который характеризует удовлетворенность сотрудников работой, систему сложившихся ценностей, стиль общения и степень взаимопонимания внутри коллектива	Карпикова М.О.
Социально-психологический климат – состояние	Эмоциональное, волевое, интеллектуальное состояние и свойства группы как совокупности индивидов.	Шакуров Р.Х.
	Такое социально-психологическое состояние малой группы, которое отражает характер, содержание и направленность реальной психологии членов организации.	Кузьмин Е.С.
	Состояние коллектива, которое обусловлено особенностями жизнедеятельности группы. Это состояние представляет собой специфическое соединение психологического, социального и умственного – направлений, взаимоотношений, расположений, эмоций и суждений членов группы	Зиновьева Н.В.
	Состояние коллективного сознания, которое отражается во взаимоотношениях между людьми профессиональной деятельности	Кузьмин Е.С., Буева Л.П., Обозов Н.Н., Платонов К.К.
	Это комплексное эмоционально-психологическое состояние коллектива, отражающее степень удовлетворенности работников различными факторами жизнедеятельности	Платонов Ю.П.
Социально-психологический климат – система отношений	Многокомпонентная и даже многоуровневая структура, включающая социальные, психологические, моральные отношения людей по поводу труда (опосредствованные предметом и характером труда).	Ильченко С. В.
	Представляет собой систему устойчивых межличностных отношений между членами коллектива	Карпикова М.О.
	Социально обусловленная, относительно устойчивая система отношений его членов к коллективу как к целому.	Пономорева Д.И.
	Качественная характеристика межличностных отношений, проявляющихся в виде совокупности нравственных и психологических условий, способствующих или препятствующих продуктивной совместной деятельности и всестороннему развитию личности сотрудника в группе	Бикчинтаева Л.Г.
	Система межличностных отношений, психологических по природе (таких как аттракция или симпатия-антипатия, дружба – вражда и т.д.);	Ломов Б.Ф.
	Совокупность межличностных неофициальных отношений между работниками.	Шепель В.М.

Таким образом, понятие «социально-психологический климат» является многогранным, интегративным и не имеет общепринятого определения. Следует отметить, что существует определенная логика структуры данного понятия, это определяет схожесть ее элементов. Каждый из авторов вносит в данное понятие определенный акцент, обеспечивая понимание социально-психологического климата в коллективе с разных позиций. Схематично определение социально-психологического климата представлено на рисунке 1.

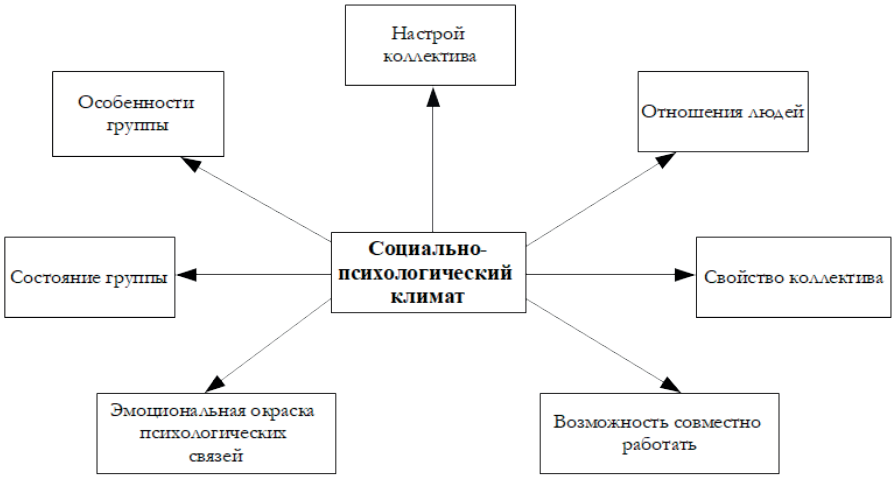


Рисунок 1. Понятие социально-психологического климата коллктива в различных авторских концепциях

В целом, социально-психологический климат проявляется в таких аспектах, как настроение коллектива, его мнение, а также уровень самочувствия каждого отдельного его члена. Эти аспекты влияют не только на отношения между пред-

ставителями рабочей группы, но и на отношение к работе и общей цели. Каждый человек – отдельная личность, обладающая своим восприятием, мнением и взглядами на мир, а значит способная влиять на отношения в коллективе, поэтому важно создать такие условия, при которых все сотрудники будут чувствовать себя комфортно, будут знать, что их вклад в общее дело важен, а мнение играет не последнюю роль. Благоприятный социально-психологический климат плодотворно влияет на скорость работы трудового коллектива и уровень заинтересованности работников в результатах деятельности, на их желание вкладывать свои знания и умения в общее дело – производство лекарственных препаратов [10].

Социально-психологический климат подвержен влиянию большого количества факторов. Авторы разделяют их на две большие группы – факторы макросреды и факторы микросреды [14].

Факторы макросреды – внешние, не зависящие от руководства предприятия. К ним относятся общественно-политическая и экономическая ситуация страны или региона, в котором располагается предприятие, уровень жизни населения, социально-демографические характеристики, такие как возраст, пол и образование, уровень медицинского, бытового обслуживания, а также этнические и региональные факторы.

Факторы микросреды – внутренние, материальное и духовное окружение работника в рабочей организации. К ним относятся материальное и моральное стимулирование, уровень организации труда и совместной деятельности, характер официальных и неофициальных взаимоотношений между членами коллектива, содержание и характер выполняемых задач.

Традиционно на фармацевтическом предприятии среди работников число женщин значительно превышает число мужчин [15]. Выявлено, что женские коллективы наиболее чувствительны к социально-психологическому климату в трудовой группе и предпочитают работать в здоровой психологической атмосфере. Для таких коллективов характерны стремление к налаживанию межличностных отношений, социальному равенству и демократическим методам управления.

Портал HeadHunter провел исследования среди женщин в возрасте от 25 до 40 лет с высшим образованием, которые являются соискателями нового рабочего места, имеют разные специальности и занимают отличающиеся друг от друга должности. Также было опрошено 18 представителей 50 крупных компаний. Согласно итоговым данным исследования, 77% процентов женщин выделяют благоприятный социально-психологический климат как основополагающий фактор, способствующий эффективной работе. Он является вторым по значимости после стабильного уровня дохода (84%), а также является более важным показателем, чем перспектива карьерного роста, что является весомым поводом для продолжения изучения и совершенствования психологического климата на фармацевтических предприятиях [16].

Рисунок 2. Топ-5 факторов, необходимых в работе

Одной из основных целей любого фармацевтического предприятия является создание стабильной команды, которая работала бы слаженно в постоянно меняющихся экономических, экологических и политических условиях. Ответственность за конечный продукт, в первую очередь, лежит на сотрудниках компании, поэтому руководителям важно создать такие условия, в которых люди будут чувствовать себя спокойно и безопасно, в котором они добровольно будут идти по пути достижения поставленных задач.

От того, каким образом управляющая система понимает значение социально-психологического климата коллектива и каким образом она расставляет акценты при управлении им, зависит подход к работе с этим феноменом. Поэтому, в среде, где уважение, признание вклада сотрудников и обещание карьерного роста и развития, являются лишь формальной декларацией, которая не соответствует реалиям производственной организации, не будут выполняться даже самые простые, понятные и обоснованные задачи. Важно помнить, что все действия, процедуры и мероприятия будут иметь положительный характер, обеспечивающий развитие психологического климата, если учитываются все его возможные составляющие структуры для конкретного предприятия.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

06.00.00. Экономика и экономические науки

06.81.65. Кадры предприятия. Организация труда. Условия труда. Оплата труда. Заработная плата на предприятии

ЛИТЕРАТУРА

1. О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года указ Президента Российской Федерации от 7 мая 2018 г. N 204 // Собрание законодательства. 2018. N 20. С. 2817

2. Фарма-2030: импортозамещение, борьба с онкологией и решение проблем кадрового голода в отрасли [Электронный ресурс]. URL: https://www.garant.ru/news/1210325/ (Дата обращения: 03.03.2022)

3. Самарцева М.И., Семенец А.В. Улучшение социально-психологического климата в коллективе // Решетневские чтения. 2016. N 20. С. 456-458.

4. Алиев Р.В. История развития социально психологических методов управления // Проблемы современной науки и образования. 2018. N 4(124).

5. Субботина Т.Н., Бурыкин С.И. Исторические аспекты формирования и развития менеджмента / Вопросы науки и образования. 2017. N 10(11).

6. Чистякова К.А., Овчинников С.А. История научного менеджмента в США: Хоторнские эксперименты // Вестник РГГУ. Серия «Экономика. Управление. Право». 2012. N 10(90). С. 60-75.

7. Антонова Н.В. Социально-психологический климат в организациях с различным типом корпоративной культуры // Современные технологии управления. 2014. N 1. С. 101–113.

8. Нежкина Л.Ю. Прогноз надежности профессиональной деятельности сотрудников на основе исследования социально-психологического климата и стиля руководства // Психология в экономике и управлении. 2017. Т. 9. N 2. С. 33–41.

9. Ильченко С. В., Дозорова И.О. К вопросу о создании благоприятного социально-психологического климата организации // Вестник экспериментального образования. 2019. N 4.

10. Пономарева Д.И. Роль социально-психологического климата в формировании организационной культуры консалтингового предприятия // Инновации и инвестиции. 2020. N 4. С. 105–109.

11. Карпикова М.О. Особенности формирования социально-психологического климата на предприятии // Гуманитарные, социально-экономические и общественные науки. 2019. N 1. С. 132–134.

12. Кончакова А.А. Социально-психологический климат в коллективе: особенности влияния стиля руководства // Ученые записки Тамбовского отделения РоСМУ. 2018. N 11. С. 209–213.

13. Бикчинтаева Л.Г. Теоретический анализ психодиагностики социально-психологического климата в коллективах сотрудников ОВД в контексте исследования правовой психологии групп // Вестник Московского университета МВД России. 2014. N 3. С. 244-249.

14. Шкердина А.А. Факторы, определяющие социально-психологический климат трудового коллектива (Обзор литературы) // Научные труды Московского гуманитарного университета. 2018. N 4. С. 107–112.

15. Чем фармацевтика привлекает женщин? Выяснили участницы Евразийского женского форума. [Электронный ресурс] // Фарммедпром: сетевое издание. 2021. URL: https://pharmmedprom.ru/news/chem-farmatsevtika-privlekaet-zhenschin-viyasnili-uchastnitsi-evraziiskogo-zhenskogo-foruma/ (Дата обращения: 27.02.2022)

16. 58% женщин не хватает заботы работодателей // HeadHunter: группа компаний. [Электронный ресурс]. URL: https://spb.hh.ru/article/17038

SUMMARY

METHODOLOGICAL ANALYSIS OF THE CONCEPT OF «SOCIO-PSYCHOLOGICAL CLIMATE OF THE TEAM» AND ITS SIGNIFICANCE FOR THE PERSONNEL OF A PHARMACEUTICAL ENTERPRISE

Bochkova T. P., mag. 1 year of study
Academic advise: **Safronova Zh. S.**, Candidate of Pedagogical Sciences, Associate Professor, associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: bochkova.tatyana@pharminnotech.com

The article highlights various approaches to the definition of the concept of «socio-psychological climate of the collective», highlights the similarities and differences in the interpretations of this concept by different authors, as well as its significance for a modern pharmaceutical organization. The main factors influencing the atmosphere at the workplace in general and specifically on the staff of a pharmaceutical enterprise are highlighted.

Keywords: *socio-psychological climate, labor collective, microenvironment factors, macroenvironment factors, women's collective, interpersonal relations, psychological atmosphere, management.*

REFERENCES

1. On the national goals and strategic objectives of the development of the Russian Federation for the period up to 2024 Decree of the President of the Russian Federation N 204 of May 7, 2018 // Collection of Legislation. 2018. N 20. P. 2817. (in Russian)

2. Pharma-2030: import substitution, the fight against oncology and solving the problems of personnel shortage in the industry [Internet]. URL: https://www.garant.ru/news/1210325 (Accessed: 03.03.2022). (in Russian)

3. Samartseva M.I., Semenets A.V. Improvement of the socio-psychological climate in the team // Reshetnev readings. 2016. N 20. P. 456-458. (in Russian)

4. Aliyev R.V. The history of the development of socio-psychological management methods // Problems of modern science and education. 2018. N 4(124). (in Russian)

5. Subbotina T.N., Burykin S.I. Historical aspects of the formation and development of management // Questions of science and education. 2017. N 10 (11). (in Russian)

6. Chistyakova K.A., Ovchinnikov S.A. The history of scientific management in the USA: Hawthorne experiments // Bulletin of the Russian State University. The series «Economics. Management. Right.» 2012. N 10(90). P. 60-75. (in Russian)

7. Antonova N.V. Socio-psychological climate in organizations with different types of corporate culture // Modern management technologies. 2014. N 1. P. 101-113. (in Russian)

8. Nezhkina L.Yu. Forecast of the reliability of professional activity of employees based on the study of the socio-psychological climate and leadership style // Psychology in economics and management. 2017. Vol. 99(2) P. 33-41. (in Russian)

9. Ilchenko S.V., Dozorova I.O. On the issue of creating a favorable socio-psychological climate of the organization // Bulletin of Experimental Education. 2019. N 4. (in Russian)

10. Ponomareva D.I. The role of the socio-psychological climate in the formation of the organizational culture of a consulting company // Innovation and investment. 2020. N 4. P. 105-109. (in Russian)

11. Karpikova M.O. Features of the formation of the socio-psychological climate at the enterprise // Humanities, socio-economic and social sciences. 2019. N 1. P. 132-134. (in Russian)

12. Konchakova A.A. Socio-psychological climate in the team: features of the influence of leadership style // Scientific notes of the Tambov branch of RoSMU. 2018. N 11. P. 209-213. (in Russian)

13. Bikchintayeva L.G. Theoretical analysis of psychodiagnostics of the socio-psychological climate in the teams of police officers in the context of the study of the legal psychology of groups // Bulletin of the Moscow University of the Ministry of Internal Affairs of Russia. 2014. N 3. P. 244-249. (in Russian)

14. Shkerdina A.A. Factors determining the socio-psychological climate of the labor collective (Literature review) // Scientific works of the Moscow Humanitarian University. 2018. N 4. P. 107-112. (in Russian)

15. What attracts women to pharmaceuticals? The participants of the Eurasian Women's Forum found out. // Pharmedprom: online edition. [Internet] 2021. URL: https://pharmmedprom.ru/news/chem-farmatsevtika-privlekaet-zhenschin-viyasnili-uchastnitsi-evraziiskogo-zhenskogo-foruma / (Accessed: 02.27.2022). (in Russian)

16. 58% of women lack the care of employers // HeadHunter: group of companies. [Internet]. 2014. URL: https://spb.hh.ru/article/17038 (in Russian)

УДК 615.276:339.13(470.3)

ОСОБЕННОСТИ СОВРЕМЕННЫХ ТЕНДЕНЦИЙ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ ПО АНАЛИЗУ СТРУКТУРУ НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПРЕПАРАТОВ В УСЛОВИЯХ АПТЕЧНОГО СЕГМЕНТА ЦФО

Бубенчикова К.Р., студ. 1 группы 3 курса фармацевтического факультета
Руководитель: **Болдина Н.В**., канд., мед. наук., ст. преподаватель кафедры
Курский государственный медицинский университет
Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д.3
E-mail: ksenia.cipollino@gmail.com

В результате проведенного исследования были получены данные о структуре нестероидных противовоспалительных препаратов в условиях аптечного сегмента. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что самыми продаваемыми лекарственными средствами из группы НПВП являются анальгин и ацетилсалициловая кислота. На следующем месте находятся препараты, которые отражают рекомендации врачей: нимесулид, диклофенак, мелоксикам.

Ключевые слова: *российский фармацевтический рынок, нестероидные противовоспалительные препараты, НПВП, НПВС, ацетилсалициловая кислота, нимесулид, ревматоидный артрит.*

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) – это класс фармакологических агентов, терапевтическая активность которых связана с предотвращением развития или снижением интенсивности воспаления. Эта группа препаратов обладает противовоспалительным, анальгезирующим и жаропонижающим эффектами и приносит облегчение больным с соответствующими симптомами (воспаление, боль, лихорадка), которые отмечаются при многих заболеваниях [4]. Оказалось, что их противоспалительная активность связана с ингибицией изофермента циклооксигеназы (ЦОГ)–2, регулирующей синтез простагландинов (ПГ) в зоне воспаления, в то время как многие побочные реакции определяются ингибицией ЦОГ–1, регулирующей продукцию ПГ, обладающих цитопротективными свойствами [6]. Чаще всего НПВП применят при лечении ревматоидного артрита (РА). На данный момент больных ревматоидными заболеваниями становится все больше, а значит и потребность в препаратах становится выше. У многих больных ревматоидным артритом сохраняется потребность в приеме симптоматических обезболивающих препаратов, а именно

НПВП. Данные препараты стоит принимать с особой осторожностью, так как велик риск развития побочных эффектов. Длительность использования НПВП определяется необходимостью контроля симптомов заболевания.

В связи с этим актуальность проведенного исследования состоит в том, что в теоретических и прикладных аспектах данной работы проанализировать ассортимент российского фармацевтического рынка в частности нестероидных противовоспалительных препаратов и на основе проведенного анализа выяснить различия продажи препаратов по рекомендациям врачей, а также препаратов, которые пациенты покупают самостоятельно. Целью данного исследования является изучение структуры нестероидных противовоспалительных препаратов в условиях аптечного сегмента.

Задачами данного исследования являлись:

1. Изучить ассортимент среди нестероидных противовоспалительных препаратов в условиях аптечного сегмента;
2. Изучить структуру нестероидных противовоспалительных препаратов;
3. Изучить какие из представленных препаратов являются наиболее востребованы покупателями.

Исходные данные были получены в ходе анализа базы данных о продажах в аптеке г.Курска за 2020-2021 год.

Кроме этого, были проанализированы данные Государственного реестра лекарственных средств по состоянию 21.01.2021 г. [1] , а также приказ Министерства Российской Федерации от 24 декабря 2012 г. №1470н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при ревматоидном артрите» [5].

Методами достижения цели послужили контент-анализ, а также структурный, графический и материальный анализы.

Объектом исследования является ассортимент нестероидных противовоспалительных препаратов.

Основным классом анальгетиков, используемых при ревматоидном артрите, остаются нестероидные противовоспалительные препараты [2]. Данные средства являются важным компонентом лечения РА и должны применяться во всех случаях суставной боли. Список действующих веществ был проверен в Государственном реестре лекарственных средств [1], после чего была проанализирована документация аптеки о продажах НПВП за 2020-2021 год. В ходе проведенного анализа выяснилось, что больше всего востребованы препараты, главными компонентами которых являются:

1. Индометацин;
2. Флурбипрофен;
3. Диклофенак натрия;
4. Пироксикам;
5. Кетопрофен;
6. Напроксен;
7. Ибупрофен;
8. Кеторолак;
9. Фенилбутазон;
10. Метамизол натрия;
11. Ацеклофенак;
12. Теноксисам;
13. Мелоксикам;
14. Декскетопрофен;
15. Нимесулид;
16. Целекоксиб;
17. Эторикоксиб;
18. Аспирин.

НПВП подразделяют на селективные (сНПВП) и неселективные (нНПВП). Представителями сНПВП являются два препарата – целекоксиб и эторикоксиб. Ряд российских и зарубежных экспертов выделяют НПВП ЦОГ-2 – мелоксикам, нимесулид, набуметон и этодолак. Остальные представители этой лекарственной группы относятся к нНПВП [2]. В приказе Министерства здравоохранения Российской федерации от 24 декабря 2012 г. №1470н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при ревматоидном артрите» [5] рекомендованы препараты, главным компонентом которых являются ацеклофенак, диклофенак, мелоксикам, кетопрофен, целеоксиб и нимесулид. Статистика продажи данных препаратов представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Статистика продажи препаратов, рекомендованные врачами, от общей продажи НПВП

Торговое наименование	Международное непатентованное наименование или группировочное (химическое) наименование	Форма выпуска	Средняя продажа в месяц на протяжении года, %
Кетопрофен-ЛКОС	Кетопрофен	гель для наружного применения 5%	0,93%
Аэртал	Ацеклофенак	Мазь для наружного применения	0,70%
Диклофенак	Диклофенак	гель для наружного применения 5%	0,35%
Мелоксикам	Мелоксикам	таблетки	3,50%
Нимесулид	Нимесулид	таблетки	4,67%

В класс традиционных НПВП в настоящее время входят более 20 препаратов, близких по химической структуре, но различающихся между собой по силе анальгетического действия и частоте побочных эффектов [3]. В связи с этим продажи данных препаратов сильно различаются между собой. Назначение НПВП показано больным ревматоидным артритом с умеренными и выраженными болями, связанными с поражением суставов, позвоночника и околосуставных мягких тканей. При приеме пациента, для профилактики специфических осложнений перед назначением препарата, врач определяет наличие факторов риска. Собрав список наиболее популярных препаратов, которые находятся в данной аптеке, мы смогли проанализировать продажу препаратов и понять какие из них являются наиболее востребованными среди покупателей. Данные представлены на рисунке.

Рисунок. Анализ продажи НПВС за 2020-2021 г.

Проанализировав продажи НПВП, главными компонентами которых являются химические вещества, представленные выше, мы можем заметить, что наиболее популярными являются препараты, представленные в таблице 2.

Таблица 2 – Наиболее популярные НПВП по продажам в аптечном ассортименте за 2020-2021 г.

Торговое наименование	Международное непатентованное наименование или группировочное (химическое) наименование	Форма выпуска	Средняя продажа в месяц на протяжении года, %
Стрепсилс® Интенсив	Флурбипрофен	таблетки для рассасывания, медово-лимонные	1,75%
Долгит	Ибупрофен	Крем для наружного применения	2,34%
Ибупрофен	Ибупрофен	таблетки, покрытые пленочной оболочкой	3,50%
Нурофен	Ибупрофен	суспензия для приема внутрь	2,92%
Ибуклин® Экспресс	Ибупрофен+Парацетамол	таблетки, покрытые пленочной оболочкой	3,50%
Кеторол ® Экспресс	Кеторолак	таблетки, диспергируемые в полости рта	4,67%
Анальгин	**Метамизол натрия**	**таблетки**	**11,68%**
Мелоксикам	Мелоксикам	таблетки	3,50%
Нимесулид	Нимесулид	таблетки	4,67%
Нимесил	Нимесулид	Гранулы для приготовления сусп	2,34%
Найз	Нимесулид	Гель 1%	1,75%
Ацетилсалициловая кислота	**Аспирин**	**таблетки**	**17,52%**
ТромбоАСС	Аспирин	таблетки	3,50%
Кардиомагнил	Аспирин	таблетки	3,50%

Основываясь на данной статистике, можно заметить, что люди чаще всего выбирают препараты такие как анальгин (17,68%) и ацетилсалициловая кислота (17,52%), что является наиболее дешевым и доступным вариантом. Данные препараты не обладают такой же доказанной эффективностью, как препараты рекомендованные в приказе Министерства здравоохранения Российской федерации от 24 декабря 2012 г. №1470н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при ревматоидном артрите», тем самым пациенты выбирают самолечение. Селективные препараты

такие как нимесулид (2,34%), мелоксикам (3,50%), ацеклофенак (0,70%), диклофенак (0,35%), отражают рекомендации врачей, но не являются востребованными у покупателей из-за своей цены. Люди занимаясь самолечением никак не облегчают свой недуг, а наоборот усугубляют ситуацию и запускают свое лечение.

Таким образом, изучив структуру и проанализировав ассортимент нестероидных противовоспалительных препаратов, мы можем сделать вывод, что фармацевтический рынок разделился на две части. С одной стороны люди предпочитают препараты, которые не обладают должной эффективностью, но являются наиболее дешевым вариантов покупки. С другой стороны находятся препараты, которые отражают рекомендации врачей. Основываясь на вышесказанном, главной задачей современного фармацевтического рынка является работа над информационным обеспечением людей на тему нестероидных противовоспалительных препаратов, а также разработка рекомендации по правильному приему данных средств, не допуская самолечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx. (Дата обращения 15.02.2022).

2. Рациональное использование нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации / А.Е. Каратеев [и др.] // Научно-практическая ревматология. 2018. Т. 56 С. 1–29.

3. Кетова Г.Г., Барышева В.О. Нестероидные противовоспалительные препараты в терапевтической практике: в фокусе нимесулид // Медицинский совет. 2018. Т.18. С. 56–60.

4. Машковский М.Д. Лекарственные средства М.: Новая волна, 2017.

5. Приказ Министерства здравоохранения Российской федерации от 24 декабря 2012 г. №1470н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при ревматоидном артрите». [Электронный ресурс]. URL: https://minzdrav.gov.ru/documents/8415-prikaz-ministerstva-zdravoohraneniya-rossiyskoy-federatsii-ot-24-dekabrya-2012-g-1470n-ob-utverzhdenii-standarta-pervichnoy-mediko-sanitarnoy-pomoschi-pri-revmatoidnom-artrite. (Дата обращения 10.02.2022).

6. Рациональное использование нестероидных противовоспалительных препаратов / А.Е. Каратеев [и др.] // Научно-практическая ревматология. 2018. Т. 56. С. 1–29.

7. Тарловская Е.И. Формы выпуска и дозы ацетилсалициловой кислоты: значение для клинической практики // Кардиология. 2018 Т. 58. N 5S. С. 4-12.

8. Проблема кардиобезопасности нестероидных противовоспалительных препаратов / Н.А. Шостак [и др.] // Терапевтический архив. 2016. Т. 88. N 5. С. 113–117.

SUMMARY

FEATURES OF MODERN TRENDS IN THE PHARMACEUTICAL FIELD ON THE STRUCTURE ANALYSIS OF NON-STEROID ANTI-INFLAMMATORY DRUGS IN THE CONDITIONS OF THE PHARMACY SEGMENT OF THE CFD

Bubenchikova K.R. student of the 1st group of the 3rd year of the Faculty of Pharmacy
Academic advise**: Boldina N.V**. Candidate of medical sciences, senior lecturer of the department
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Kursk
State Medical University" of the Ministry of Health of Russia, Department of Pharmacology
(FSBEI HE KSMU Ministry of Health of the Russian Federation)
Russia, 305041, Kursk region, Kursk, st. K. Marx, h. 3
E-mail: ksenia.cipollino@gmail.com

As a result of the study, data were obtained on the structure of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the pharmacy segment. The data obtained allow us to conclude that the best-selling drugs from the NSAID group are analgin and acetylsalicylic acid. In the next place are drugs that reflect the recommendations of doctors: nimesulide, diclofenac, meloxicam.

Keywords: *Russian pharmaceutical market, non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs, pronounced selectivity, acetylsalicylic acid, nimesulide, rheumatoid arthritis.*

REFERENCES

1. State register of medicines. [Internet]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx. (Accessed 15.02.2022). (in Russian)

2. Rational use of non-steroidal anti-inflammatory drugs/ A.E. Karateev [et al.] // Clinical guidelines. Scientific and practical rheumatology. 2018. Vol. 56 P. 1–29. (in Russian)

3. Ketova G.G., Barysheva V.O. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in therapeutic practice: focus on nimesulide // Medical advice. 2018. Vol. 18. P. 56–60. (in Russian)

4. Mashkovsky M.D. Medicines, 16th ed., revised, corrected. and additional /M.D. Mashkovsky. Moscow: New wave, 2017. (in Russian)

5. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated December 24, 2012 No. 1470n «On approval of the standard for primary health care for rheumatoid arthritis». [Internet]. URL: https://minzdrav.gov.ru/documents/8415- prikaz-ministerstva-zdravoohraneniya-rossiyskoy-federatsii-ot-24-dekabrya-2012-g-1470n-ob-utverzhdenii-standarta-pervichnoy-mediko-sanitarnoy-pomoschi-pri-revmatoidnom-artrite. (Accessed 10.02.2022). (in Russian)

6. Rational use of non-steroidal anti-inflammatory drugs. Clinical guidelines/ A.E. Karateev [et al.] // Scientific and practical rheumatology. 2018. Vol. 56. P. 1–29. (in Russian)

7. Tarlovskaya E.I. Release forms and doses of acetylsalicylic acid: implications for clinical practice // Cardiology. 2018. Vol. 58(5S) P. 4–12. (in Russian)

8. Shostak N.A.The problem of cardiosafety of non-steroidal anti-inflammatory drugs // Therapeutic archive 2016 Vol. 88(5) P. 113–117. (in Russian)

УДК 61:616.1

ВЛИЯНИЕ ПАНДЕМИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19) НА ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ, СТРАДАЮЩИХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В РОССИИ

Водопьянова А.Д., магистрант 1 года обучения
Научный руководитель: **Орлов А.С.**, канд. фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой экономики и управления
(ORCID: 0000-0002-1467-6234)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит А, Российская Федерация
E-mail: vodopyanova.anna@pharminnotech.com

В статье проводится исследование влияния новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2 на лечение людей, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями. Сердечно-сосудистая система является одной из важнейших систем организма человека, обеспечивающих его жизнедеятельность. Заболевания этой системы приводят к необратимым и нежелательным последствиям для организма человека. В настоящее время именно сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смерти и инвалидизации населения во всем мире. В статье рассматривается влияние начала пандемии коронавируса на лечение людей с заболеваниями сердечно-сосудистой системы и возможность предотвращения заболевания COVID-19 посредством вакцинации.

Ключевые слова: *пандемия, COVID-19, SARS-CoV-2, коронавирусная инфекция, сердечно-сосудистые заболевания, статистика.*

В настоящее время заболевания сердечно-сосудистой системы является основной причиной смертности населения во многих странах мира. В мире ежегодно умирает более 18 миллионов людей от болезней сердечно-сосудистой системы (1). В России в соответствии с данными Федеральной службы государственной статистики насчитывается 4,3 млн человек больных, а ежегодно умирает около 800 тыс человек от сердечно-сосудистых заболеваний (2).

Таблица 1 – Динамика заболеваемости и смертности населения России по сердечно-сосудистым заболеваниям за 2016 – 2020 год

Год	Заболеваемость населения, тыс. чел.	Смертность населения, тыс. чел.
2016	4649	904
2017	4706	863
2018	4784	856
2019	5136	841
2020	4303	938

Таблица 2 – Число посещений пациентами врачей за 2016 – 2020 год

Год	Число посещений врачей, млн. чел.
2016	1421
2017	1428
2018	1436
2019	1454
2020	1228

В соответствии с данными Федеральной службы государственной статистики за последние годы происходило снижение смертности больных, однако, в 2020 году произошел резкий скачок. Заболеваемость, наоборот, в 2020 году резко уменьшалась. Это можно объяснить тем, что Российское здравоохранение было более сконцентрировано на борьбе с COVID-19 (COronaVIrus Disease 2019 – коронавирусная инфекция 2019 года), а заболеваниям сердечно-сосудистой системы в меньшей степени уделялось внимание. Именно поэтому за период пандемии возросло количество пациентов с запущенными и хроническими случаями заболеваний. У людей снизилась физическая нагрузка, усилились хронические заболевания, стали реже проходить диспансеризацию, это и привело к увеличению числа смертей.

Обратив внимание на статистику числа посещений пациентами врачей в Российской Федерации, можно сказать, что за последний год число посещений заметно сократилось. Это также можно объяснить началом эпидемии коронавирусной инфекции, люди прекратили проходить плановые диспансеризации, не записывались на приемы к врачам и не проходили должных обследований.

Согласно эпидемиологическим исследованиям, наибольший вклад в смертность населения России от болезней сердечно-сосудистой системы вносят такие факторы как: повышенное артериальное давление, высокий уровень холестерина, курение, злоупотребление алкоголем, повышенный индекс массы тела в сочетании с низкой физической активностью, психоэмоциональные и социальные факторы. Так, например, курение повышает риск смерти от ССЗ сразу на 17% из-за вредных веществ, содержащихся в дыме, и понижения поступления кислорода в кровь. Еще одним фактором, провоцирующим появление сердечно-сосудистых заболеваний является алкоголь. Определенный образ жизни, состоящий из низкой физической активности, злоупотреблении соленой, жирной, жареной пищей, чрезмерном употреблении сахара, может приводить к ожирению и способствовать развитию заболеваний сердца. Также значительное влияние на уровень смертности оказывают: система организации медицинской помощи, уровень финансирования медицины, наличие современной медицинской техники. Социально-гигиеническое значение заболеваний системы кровообращения связано с тяжестью их течения, продолжительностью лечения и исходом: инвалидностью или смертью (3).

Начало пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19 стало серьезным испытанием для людей, живущих с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Люди, с уже развитыми сердечно-сосудистыми болезнями, были подвержены максимальному риску протекания тяжелой формы вирусного заболевания. В режиме изоляции от семьи и близких, многие просто боялись обращаться за помощью к врачам как в плановом режиме, так и в неотложных случаях, потому что был высокий риск заразиться коронавирусом в больницах и поликлиниках.

В связи целью данного исследования является анализ влияния новой коронавирусной инфекции COVID-19 на лечение больных, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Новая коронавирусная инфекция оказывает значительное влияние на функционирование сердечно-сосудистой системы человека. По накопленным данным о последствиях было установлено, что постковидный синдром перенесенной коронавирусной инфекции часто протекает тяжелее, чем сама болезнь.

Несмотря на поражения дыхательной системы, довольно часто осложнения после коронавируса связаны с функционированием сердечно-сосудистой системы. Подобные осложнения касаются и тех людей, которые ранее не имели сердечно-сосудистых заболеваний. Возможным результатом могут быть воспаление сердечных тканей спустя определенное время, даже у пациентов, которые перенесли заболевание бессимптомно.

В результате одного из исследований, посвященных анализу влияния SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 – коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома-2) на организм человека, было доказано, что вирус проникает в клетку и присоединяется к мембранному белку ACE2 (ангиотензинпревращающий фермент 2). Данный белок имеется не только в легких, но и в сердце, в кровеносных сосудах и в других органах. Проникающий внутрь этих клеток вирус начинает разрушать их и вызывать повреждения ткани сердца, что влечет за собой уменьшение кровоснабжения сердца и увеличение риска его воспаления (4).

Одним из наиболее опасных осложнений на деятельность сердца после перенесенной коронавирусной инфекции является миокардит. Он представляет собой воспалительное заболевание мышцы сердца, может быть острым или хроническим и является следствием воздействия различных этиологических факторов, поражающих миокард непосредственно и/или опосредованно через аллергические иммунные механизмы. Миокардит может возникнуть по разным причинам, таким как:

• инфекционные заболевания (вирусные, бактериальные, риккетсиозные – вызванные особыми микроорганизмами – риккетсиями, и др.);

• кардиотоксины (токсины, поражающие сердце);

• аллергические реакции (лекарственные, поствакцинальные и др.);

• систематические расстройства (саркоидоз – аутоимунное заболевание, которое характеризуется образованием воспаленных плотных узелков (гранулем) в пораженныз тканях организма);

• идиопатически (без выявленной природы) – возникает чаще всего.

Воспаление миокарда, без должного медицинского обследования, представляет значительный риск для жизни человека. Это может привести к серьезным последствиям и осложнениям, таким как:

• аритмия (нарушение проводимости электрических импульсов, которые проявляются тахикардией, экстрасистолией, фибрилляцией предсердий);

• кардиомиопатия (заболевание миокарда, при котором имеются структурные и функциональные изменения сердечной мышцы);

• тромбообразование;

• внезапная смерть.

Риск развития миокардита после перенесенной коронавирусной инфекции существует у людей всех возрастных групп. Из-за того, что начало заболевания протекает бессимптомно, то довольно часто, больные не обращаются за медицинской помощью, что может приводить к развитию симптомов, связанных с воспалением сердца. Также на деятельность сердца влияет то, что при поражении легких вирусом SAPS-CoV-2, происходит нарушение функционирования дыхательной системы. Кровь недостаточно насыщается кислородом, что приводит к усиленному режиму работы сердца для обеспечения всех органов необходимым питанием. Происходит быстрое утомление сердечной мышцы, что влечет за собой риск нарушения сердечного ритма и давления.

Еще одним осложнением после перенесенной коронавирусной инфекции, которое серьезно нарушает работу сердца и сосудов, вызывая их воспаление, является цитокиновый шторм. Он представляет собой воспалительную реакцию в организме, при которой резко возрастает уровень цитокинов в крови, что приводит к атаке иммунитета на клетки и ткани собственного организма. Такая реакция может приводить к разрушению тканей и органов, а в самом неблагоприятном случае к летальному исходу.

При цитокиновом шторме поражаются многие органы и системы жизнедеятельности человека и сопровождаются общими симптомами, такими как: лихорадка, головная боль, анорексия, недомогание, миалгия. Также возникают отдельные, специфические симптомы:

• кожа – кожные высыпания;

• кровь и гемостаз – цитопения (анемия, лейкопения, лимфопения, тромбоцитопения), гипофибриногенемия;

• сердечно-сосудистая система – тахикардия с лихорадкой, повышение тропонина, гипотония, снижение сердечного выброса, аритмия, остановка сердца;

• дыхательная система – гипоксия, одышка, отек легких, пневмония, острый респираторный дистресс-синдром;

• желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) – диарея, боль в животе, колит;

• нервная система – головная боль, спутанность сознания, галлюцинации, тремор, паралич лицевого нерва, судороги;

• костно-мышечный аппарат – повышенная креатинкиназа, миалгия, слабость.

Воспаление развивается во многих органах организма человека и при нехватке кислорода приводит к их недостаточности. При тяжелом протекании COVID-19 может возникать острый респираторный синдром коронавируса (ОРДС), который сопровождается затрудненным дыханием и низким уровнем кислорода в крови. Это может привести к развитию вторичных бактериальных и грибковых инфекций у пациентов. Также ОРДС может привести к дыхательной недостаточности, которая является причиной смерти в 70% летальных случаев от COVID-19. (5)

Применение препаратов для лечения коронавирусной инфекции может приводить к аритмии сердца (патологии сердечного ритма).

Важно также отметить, что коронавирусная инфекция может оказывать негативное влияние и на деятельность кровеносных сосудов человека. Вирус SARS-CoV-2, связываясь с белками ACE2, которые выстилают кровеносные сосуды человека, нарушает регуляцию системы свертываемости крови, что приводит к риску образования тромбов. Воспаление стенок сосудов и отрыв тромбов может привести к инфаркту, инсульту или тромбоэмболии легочной артерии. Также коронавирус влияет не только на крупные сосуды, но и на мелкие, которые при закупоривании от сгустков крови приводят к кровоизлияниям. Данная проблема особенно актуальна для людей с хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой системы, которые уже имеют изменения в сосудах (бляшки, тромбы, утолщения), поэтому COVID-19 только усугубляет состояние кровеносных сосудов и может привести к отрыву тромба и сердечному приступу.

Важно также рассмотреть вопрос о вакцинации от COVID-19 людей, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями.

В соответствии с рекомендациями Министерства здравоохранения Российской Федерации к противопоказаниям к прививке от COVID-19 относятся серьезные аллергические реакции на компоненты вакцины, в частности анафилактический шок, а также противопоказана прививка при обострении хронических заболеваний до наступления ремиссии. При этом на проведение вакцинации отсутствуют противопоказания для людей с острым коронарным синдромом, нарушением мозгового кровообращения, миокардитом, эндокардитом, перикардитом. Для людей, страдающих такими заболеваниями, рекомендуют проведение вакцинации с особой осторожностью, под наблюдением врачей. Более того, по мнению экспертного сообщества, наличие сердечно-сосудистых заболеваний, наоборот, является показанием к вакцинации. Это связано с тем, что вирус SARS-CoV-2 вызывает тромбоэмболию, а вакцинация предупреждает риск заболевания COVID-19, поэтому необходимо прививаться, чтобы избежать возможность возникновения тромбозов и других серьезных последствий после перенесенного заболевания COVID-19.

Подводя итоги, можно сделать вывод, что вирус SARS-CoV-2 не выходит из организма человека бесследно, в результате чрезмерной иммунной реакции, побочных реакций после применения лекарственных препаратов от коронавируса, у пациентов могут возникать серьезные нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы, такие как:

• тахикардия;

• аритмия;

• сердечная недостаточность;

• воспаление миокарда;

• тромбоз вен;

• инсульт;

• инфаркт миокарда.

Заболевания сердечно-сосудистой системы являются риском более тяжелого течения коронавирусной инфекции, именно это увеличивает риск осложнений и смертности. Людям с сердечно-сосудистыми заболеваниями следует внимательно следить за своим здоровьем, своевременно обращаться в медицинские учреждения, проходить плановые осмотры и необходимые обследования. Каждый сам для себя решает необходимость проведения вакцинации от COVID-19, консультируясь с лечащими врачами.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00. Медицина и здравоохранение

76.01.00. Общие вопросы медицины и здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Статистика сердечно-сосудистых заболеваний в России [Электронный ресурс]. URL: https://chekhovsc.ru/blog/statistika-serdechno-sosudistykh-zabolevanij-v-rossii. (Дата обращения: 28.02.2022).

2. Федеральная служба государственной статистики [Электронный ресурс]. URL: https://rosstat.gov.ru/folder/13721. (Дата обращения: 28.02.2022)

3. Российское кардиологическое общество. Клинические рекомендации. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) [Электронный ресурс]. URL: https://scardio.ru/content/Guidelines/2020/Clinic_rekom_HSN.pdf. (Дата обращения: 28.02.2022)

4. Ангиотензинпревращающий фермент 2. Подходы к патогенетической терапии COVID-19 / П. О. Шатунова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2020. Т. 97. N 4. С. 120

5. John B. M., Carl H. J. Cytokine release syndrome in severe COVID-19 // Science. 2020. Vol. 368(6490). P. 473-474

6. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention / Z.T. Matthew [et al.] // Nature Reviews Immunology. 2020. Vol. 20(6). P. 363-374. doi: 10.1038/s41577-020-0311-8.

SUMMARY

IMPACT OF THE CORONAVIRUS INFECTION (COVID-19) PANDEMIC ON THE TREATMENT OF PATIENTS WITH CARDIOVASCULAR DISEASES IN RUSSIA

Vodopianova A.D., 1st year master student
Scientific adviser: **Orlov A.S.,** Ph.D. farm. Sciences, Assoc., Head. Department of E&M
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197022, St. Petersburg, st. Professors Popova, 14, lit. A, Russian Federation
E-mail: vodopyanova.anna@pharminnotech.com

The article investigates the impact of a new coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2 virus on the treatment of people suffering from cardiovascular diseases. The cardiovascular system is one of the most important systems of the human body, ensuring its vital activity. Diseases of this system lead to irreversible and undesirable consequences for the human body. Currently, cardiovascular diseases are the main cause of death and disability of the population around the world. How did the onset of the coronavirus pandemic affect the treatment of people with diseases of the cardiovascular system? Is it possible to reduce the risk of complications on the cardiovascular system after an infection by getting vaccinated against COVID-19?

Keywords: *pandemic, COVID-19, coronavirus infection, statistics.*

REFERENCES

1. Statistics of cardiovascular diseases in Russia [Internet]. URL: https://chekhovsc.ru/blog/statistika-serdechno-sosudistykh-zabolevanij-v-rossii. (Accessed: 02.28.2022). (in Russian)

2. Federal State Statistics Service [Internet]. URL: https://rosstat.gov.ru/folder/13721. – (Accessed: 02.28.2022). (in Russian)

3. Russian Society of Cardiology. Clinical guidelines. Chronic heart failure (CHF) [Internet]. URL: https:// scardio.ru/content/ Guidelines/ 2020/ Clinic_rekom_HSN.pdf. (Accessed: 02.28.2022). (in Russian)

4. Angiotensin-converting enzyme 2. Approaches to pathogenetic therapy of COVID-19 / P. O. Shatunova [et al.] // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2020. Vol. 97(4). P. 120. (in Russian)

5. John B.M., Carl H. J. Cytokine release syndrome in severe COVID-19 // Science. 2020. Vol. 368(6490). P. 473-474

6. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention / Z.T. Matthew [et al.] // Nature Reviews Immunology. 2020. Vol. 20(6). P. 363-374. doi: 10.1038/s41577-020-0311-8.

УДК: 331.108

АКТУАЛЬНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ МОТИВАЦИИ ТРУДОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПЕРСОНАЛА НА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРЕДПРИЯТИИ

Галимова Э.Р., магистрант 1 года обучения
Научный руководитель: **Сафронова Ж.С.,** канд. пед. наук, доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: galimova.elza@spcpu.ru

Успешное функционирование и конкурентоспособность биотехнологического фармацевтического предприятия в условиях рыночных отношений главным образом зависят от мотивации к деятельности работников. В статье рассмотрены и проанализированы современные направления в мотивации трудовой деятельности персонала на биотехнологических фармацевтических предприятиях: KPI, Кайдзен, геймификация и мотивация по Демингу. Установлена взаимосвязь роста развития биотехнологических фармацевтических предприятий и внедрения новых технологий эффективного

управления персоналом. Сделан вывод о том, что на сегодняшний день в биотехнологических фармацевтических компаниях в мотивации сотрудника стоит применять индивидуальный подход и гибкую систему мотивации.

Ключевые слова: *мотивация, KPI, премия, конкурентоспособность, геймификация, Кайдзен, вознаграждения.*

В условиях постоянно возрастающей конкуренции среди фармацевтических биотехнологических предприятий важным аспектом деятельности компании является повышение эффективности работы персонала на всех уровнях организации. Функционирование и поддержание высокотехнологичной производственной системы биотехнологического производства обеспечивается высококвалифицированным персоналом [1; 2]. Для его мотивации необходимо создавать среду, способную развивать человеческий, интеллектуальный, социальный капитал работников и поддерживать желание саморазвития и самореализации в профессиональной деятельности. В решении данных задач важным условием является системный подход в мотивации, где основной ориентир – качество человеческих ресурсов. Следует по возможности снижать количество рутинной работы, создавать благоприятную социально-психологическую среду коллектива, поддерживать личностный рост сотрудников и развивать корпоративную культуру. Такой подход способствует повышению уровня компетентности работников, активности, предприимчивости, мобилизации сил для решения производственных задач с максимальной эффективностью.

Предмет исследования: мотивация персонала. Целью статьи является исследование актуальных направлений мотивации трудовой деятельности персонала на биотехнологических фармацевтических предприятиях. Задачи:

1. анализ теоретических источников по проблеме мотивации персонала;
2. рассмотрение актуальных направлений в мотивации персонала;
3. обзор опыта применения современных подходов в системе мотивации трудовой деятельности персонала на биотехнологическом фармацевтическом предприятии.

Сложность предмета исследования обусловлена необходимостью восприятия его как многогранного понятия, включающего факторы личности (направленность, потребности, интересы, склонности), особенности окружающей среды и специфику функционирования конкретной организации как социально-экономической системы. В науке существует множество определений мотивации и различных направлений в ее исследовании. Исследованиям сущности направлений в системе мотивации посвящены исследования отечественных ученых, таких как: А.Я. Кибанов, Ю.А. Токарева, Н.М. Глухенькая, С.А. Шапиро, А.М. Руденко, Н.С. Пряжникова, Э.А. Уткин, Л.В. Карташова и др.

Подавляющее большинство воззрений ученых объединяет восприятие мотивации как сложного процесса взаимодействия внутренних побуждений, мотивов личности и внешних воздействий из вне [3; 4; 5].

Анализ литературных источников позволил выделить актуальные понятия мотивации трудовой деятельности персонала в науке и схематично представить их на рисунке 1.

В прикладном значении мотивация представляется как система и процесс. Рассматривая мотивацию как систему, можно утверждать, что такая мотивация представляет собой цикличную взаимосвязь элементов мотивации и стимулов, которая является для руководителей инструментом эффективного управления своими сотрудниками в процессе деятельности предприятия и дает возможность связывать цели компании и в дальнейшем достигать их определенными способами.

В последние годы управления персоналом на биотехнологических фармацевтических предприятиях переживает эпоху модернизации и развития, где главной задачей управления является повышение эффективности производственной деятельности, используя грамотные методы мотивации персонала. Одним из популярнейших направлений в мотивации сотрудников является применение системы KPI (Key Performance Indicators) – ключевых показателей эффективности. По мнению А.Н. Бобрышева, А.Д. Фроловой и С.Ю. Кондратова, данные показатели позволяют оценить эффективность выполняемых трудовых функций и построить эффективную систему стимулирования труда [6; 7; 8].

Рисунок 1. Определения мотивации

Основу метода KPI составляют следующие принципы:

1. Управляемость и контролируемость процессов.
2. Обеспеченность ресурсами, необходимыми для выполнения деятельности.
3. Партнерские отношения между участниками трудовых процессов (установление эффективного партнерства между всеми заинтересованными лицами).
4. Предоставление спектра полномочий для сотрудников, выполняющих определенные функции.
5. Дифференциация KPI для сотрудников различных подразделений.
6. Принцип развития персонала (обучение, повышение квалификации).
7. Адекватная интегрированная схема оценки KPI по результатам отчетности.
8. Достижимость и измеримость показателей.

Область применения KPI подходит для оценки работы всей компании, ее отдельных подразделений и для конкретных работников. Также с помощью системы KPI возможно установить эффективную систему оплаты труда и иные нематериальные поощрения, формирующие высокую мотивацию к деятельности. Как показывает практика, большинство систем мотивации KPI компаний ориентированы на достижение высокой оплаты труда, то есть – материальный фактор.

Биотехнологическая компания Pfizer активно использует систему KPI, в которой задействуется широкий спектр материальных и нематериальных критериев оценки деятельности персонала, устанавливая критерии производительности для отдельных категорий персонала, цели для улучшения рабочих процессов. Особенностью компании является то, что она официально публикует цели, которые представляют общественный интерес, например, сокращение выбросов парниковых газов, уменьшение забора воды, а также снижение травматизма сотрудников [9]. Такая система мотивации согласуется со следующим направлением в мотивации. Считается, что в условиях рыночной экономики материальный фактор – это главный и основополагающий элемент системы мотивации, однако существует обоснованное мнение, что вознаграждения не являются полноценными источниками мотивации (Э. Деминг, Э. Деси и Р. Райан). По данным исследований, проведенных учеными, были получены следующие результаты: большее вознаграждение не гарантирует высоких результатов и выполнения задач качественно, наоборот, приводит к худшей производительности [10; 11]. Э. Деминг утверждает, что, если «мотивация – прибыль» не связана с «мотивацией – цель», то эффективность работы персонала не достигнет нужного уровня и это может привести компанию к низкой производительности труда, усталости работников, в последствии допущению ошибок в работе. Цель деятельности, совпадающая с личной целью, является мощнейшим мотиватором к труду, поскольку является фактором личной эффективности.

Еще один важный аспект, на который обращает внимание Деминг – покончить с методом кнута и пряника и обратиться к науке. Это способствует организации карьеры, которая является мощным стимулом высоких достижений [12]. То есть, цель и желаемая карьера – достижения, могут являться более мощным мотивационным фактором по сравнению с материальным обогащением. Неслучайно многие биотехнологические фармацевтические компании стараются развивать карьеру персонала с момента адаптации его на рабочем месте.

Одним из современных направлений мотивации персонала является геймификация. Т. Мэлоун, первый ученый, который начал рассматривать игру с позиции мотивации и побуждения к деятельности [13]. Под геймификацией понимают внедрение в трудовые процессы таких инструментов как: конкурсы, рейтинги, баллы, награды, бонусы, с помощью которых можно организовать рабочий процесс игрового взаимодействия. С помощью геймификации биотехнологические фармацевтические компании справляются с рутинными процессами и обеспечивают сотрудникам привлекательный подход к работе [14].

Такая прогрессивная биотехнологическая компания как BIOCAD, использует и внедряет новые технологии управления персоналом, которые позволяют привлекать сотрудников к работе, а также глубже вникать в различные организационные процессы.

Например, в компании BIOCAD присутствуют элементы геймификации – это «Пряничная лавка», где сотрудники могут обмениваться определенным количеством «пряников» (виртуальная валюта) со своим коллегами, тем самым поощрить или поблагодарить кого-то, приобрести различные лоты. Это создает благоприятный психологический климат коллектива, атмосферу сотрудничества и участия, что благоприятно сказывается на мотивации персонала к деятельности. Также в компании проводится ежегодный конкурс по награждению лучших сотрудников и команд, которые в течение года добились выдающихся успехов в работе и помогли BIOCAD достичь новых вершин – «Главная молекула». Важным фактором является то, что в данном конкурсе могут участвовать все сотрудники компании [15].

При выстраивании эффективной системы мотивации возможно оптимизировать процессы, непрерывно внося небольшой вклад для улучшения каких-либо процессов. Одной из эффективных и современных форм мотивации и профессионального роста персонала является система «Кайдзен». Кайдзен подразумевает под собой такой подход, который основывается на понятии, что постоянные небольшие положительные изменения могут принести значительные улучшения для биотехнологических фармацевтических предприятий, нежели масштабные преобразования.

Подход Кайдзен был разработан в производственном секторе для уменьшения количества дефектов, устранения отходов, повышения производительности, поощрения целей и ответственности работников и продвижения инноваций [16].

Принципы Кайдзен:

1. Командная работа;
2. Дисциплина труда;
3. Поддержание и сохранение высокого уровня морального состояния работников;

4. Наличие «кружков качества»;

5. Предложения по улучшению работы сотрудников [17].

Используя одну из ключевых концепций менеджмента Кайдзен, а именно внедряя такие инструменты, как 5S, SMED и кружки качества, можно повысить производительность труда, увеличить добавленную стоимость предприятия, сократить трудовые затраты и упростить производственный процесс. Так, например, в компании «Биохимик» производительность труда увеличилась на 12,7 %, трудовые затраты уменьшились на 6,14 %, а добавленная стоимость предприятия выросла на 6,07 % [18]. Результатами внедрения Кайдзен в компании «Вертекс» стали: упрощение производственного процесса, сокращение времени переналадки блистерной линии, также оптимизация некоторых процессов [19].

Стратегически важной отраслью промышленности в России является фармацевтическая биотехнологическая отрасль, поэтому очень важно правильно мотивировать персонал таких компаний к работе. Традиционные системы мотивации утрачивают свою жизнеспособность, поэтому требуется учитывать интересы новых поколений работников и запросы социально-экономического развития общества. Рынок российских биотехнологических фармацевтических компаний развивается, в связи с этим и технологии эффективного управления персоналом тоже нужно менять, применять индивидуальный подход к каждому работнику, потому что именно человеческие ресурсы придают содержательное наполнение всем производственным процессам на биотехнологических фармацевтических предприятиях. Конкурентоспособной окажется та компания, которая предложит работнику нетривиальные и интересные для работника стимулы, отличные от других, отражающие интересы, ценности, путь саморазвития каждого отдельного сотрудника.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Нестеренко Д.В. К вопросу о необходимости модернизации системы подготовки и переподготовки фармацевтических кадров // Санкт-Петербургский образовательный вестник. 2018. С. 28-33.

2. Широкова И. Рынок труда – адаптация к новым вызовам // Ремедиум. 2008. N 5. С. 60-63.

3. Токарева Ю.А., Глухенькая Н.М., Токарев А.Г. Мотивация трудовой деятельности персонала: комплексный подход. Шадринск: ШГПУ, 2021.

4. Руденко Л.Г., Дегтярь Н.П. Сущность KPI и его роль в управлении предприятием // Вестник Московского университета им. С.Ю. Витте. Серия 1 «Экономика и управление». 2017. N 2(21). С. 50–54.

5. Шапиро С.А. Основы управления персоналом в современных организациях. М.: Гросс Медиа: Гросс Медиа Ферлаг, 2013

6. Бобрышев А.Н., Сердюков А.М. Применение показателей KPI в системе управленческого анализа (на примере промышленных производств) // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2020. N 4. С. 91-103.

7. KPI в современной системе управления человеческими ресурсами / А.Д Фролова [и др.] // Инновационная экономика: перспективы развития и совершенствования. 2019. N 6(40). С. 128-134.

8. Кондратов С.Ю., Кимадзе М.И. Возможность интеграции ключевых показателей эффективности в фармацевтической организации // Вестник Академии права и управления. 2019. С. 34-43.

9. Key Performance Indicators [Электронный ресурс] URL: https://www.pfizer.com/purpose/workplace-responsibility/health-and-safety/key-performance-indicators (Дата обращения 25.02.2022).

10. Лабзова И.Ю. Теория самоопределения и её применение в зарубежной образовательной практике // Человек и образование. 2017. N 3(52). С. 152-156.

11. Линч М. Базовые потребности и субъективное благополучие с точки зрения теории самодетерминации // Психология. Журнал Высшей школы экономики. 2004. С. 137-142.

12. Quality.eup.ru [Электронный ресурс] URL: https://www.quality.eup.ru/MATERIALY14/dmsm.htm (Дата обращения 25.02.2022).

13. Артамонова В.В. Развитие концепции геймификации в XXI веке // Историческая и социально-образовательная мысль. 2018. Т. 10 N 2/2. С. 37-43.

14. Сафронова Ж.С. Генкин И.О. Теоретические аспекты геймификации – инновационного инструмента управления персоналом современной фармацевтической компании // Международный научно-исследовательский журнал. 2021. N 2(104). С. 85-90.

15. Biocad/Inplace [Электронный ресурс]. URL: https://inplace.ru/company/biocad (Дата обращения 24.02.2022).

16. Немцов Д.В. Роль внедрения Кайдзен в формировании корпоративной культуры // Инновации и инвестиции. 2020. N 5. С. 134-136.

17. Мурзаев Р.Т. Система «Кайдзен» как форма мотивации и стимулирования кадрового персонала // Вестник магистратуры. 2019. N 12-1 (99) С. 20-21.

18. Халимова А.А., Коваленко А.В., Угольников В.В. Применение концепций эффективного управления производством на фармацевтических предприятиях // Медикофармацевтический журнал «Пульс». 2021. Vol. 23. N 4. С. 60-67.

19. Побелянский Г., Денщиков Р., Милкина М. Кайдзен на фармпроизводстве. «ВЕРТЕКС» внедряет бережливые инновации на производстве лекарственных препаратов и БАД // ПРО КАЧЕСТВО: официальный сайт. [Электронный

ресурс] URL: https://kachestvo.pro/kachestvo-upravleniya/berezhlivoe-proizvodstvo/kaydzen-v-farmproizvodstve/ (Дата обращения 24.02.2022).

SUMMARY

CURRENT DIRECTIONS OF MOTIVATION OF LABOR ACTIVITY OF PERSONNEL AT A BIOTECHNOLOGICAL PHARMACEUTICAL ENTERPRISE

Galimova E.R. 1st year master student
Academic advise: Safronova Zh.S., Candidate of Pedagogical Sciences, senior lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: Galimova.elza@spcpu.ru

The successful functioning and competitiveness of a biotechnological pharmaceutical enterprise in market conditions mainly depend on the motivation of employees to work. The article considers and analyzes modern trends in the motivation of personnel's labor activity at biotechnological pharmaceutical enterprises: KPI, Kaizen, gamification and Deming motivation. The relationship between the growth of the development of biotechnological pharmaceutical enterprises and the introduction of new technologies for effective personnel management has been established. It is concluded that today in biotechnological pharmaceutical companies, it is worth using an individual approach and a flexible motivation system in employee motivation.

Keywords: *motivation, KPI, bonus, competitiveness, gamification, kaizen, rewards.*

REFERENCES

1. Nesterenko D.V. On the question of the need to modernize the system of training and retraining of pharmaceutical personnel // St. Petersburg Educational Bulletin. 2018. P. 28-33. (in Russian)

2. Shirokova I. Labor market - adaptation to new challenges // Remedium. 2008. N 5. P. 60-63. (in Russian)

3. Tokareva Yu.A., Glukhenkaya N.M., Tokarev A.G. Motivation of labor activity of personnel: an integrated approach. Shadrinsk: SHSPU, 2021. (in Russian)

4. Rudenko L.G., Degtyar N.P. The essence of KPI and its role in enterprise management // Bulletin of the S.Y. Witte Moscow University. – Series 1 «Economics and Management». 2017. N. 2(21). P. 50-54. (in Russian)

5. Shapiro S.A. Fundamentals of personnel management in modern organizations. M.: GrossMedia: GrossMedia Verlag, 2013. (in Russian)

6. Bobryshev A.N., Serdyukov A.M. Application of KPI indicators in the management analysis system (on the example of industrial production) // Izvestiya Timiryazevskaya agricultural Academy. 2020. N 4. P. 91-103. (in Russian)

7. KPI v sovremennoy sisteme upravleniya chelovecheskimi resursami / A.D Frolova [et al.] // Innovative economy: prospects for development and improvement. 2019 N 6(40). P. 128-134. (in Russian)

8. Kondratov S.Yu., Kimadze M.I. Possibility of integration of key indicators of ef-selectivity in pharmaceutical organization // Bulletin of the Academy of Law and Management. 2019. P. 34-43. (in Russian)

9. Key Performance Indicators [Internet]. URL: https://www.pfizer.com/purpose/workplace-responsibility/health-and-safety/key-performance-indicators (Accessed: 25.02.2022). (in Russian)

10. Labzova I.Y. Theory of self-determination and its application in foreign educational practice // Man and education. 2017. N 3(52). P. 152-156. (in Russian)

11. Lynch M. Basic needs and subjective well-being from the point of view of the theory of self-determination // Psychology. Journal of the Higher School of Economics. 2004. P. 137-142. (in Russian)

12. Quality.eup.ru [Internet] URL: https://www.quality.eup.ru/MATERIALY14/dmsm.htm (Accessed: 25.02.2022). (in Russian)

13. Artamonova V.V. Development of the concept of gamification in the XXI century // Historical and socio-educational thought. 2018. Vol. 10(2/2). P. 37-43. (in Russian)

14. Safronova Zh.S., Genkin I.O. Theoretical aspects of applying gamification as an innovative staff management tool in a pharma company // International Scientific Research Journal. 2021. N 2(104). P. 85-90. (in Russian)

15. Biocad / Inplace [Internet] – URL: https://inplacers.ru/biocad (Accessed: 24.22.2022). (in Russian)

16. Nemtsov D.V. The role of Kaizen implementation in the formation of corporate culture // Innovations and investments. 2020. N 5. P. 134-136. (in Russian)

17. Murzaev R.T. Kaizen system as a form of motivation and stimulation of personnel // Bulletin of the Magistracy. – 2019. – No.12-1 (99) – P.20-21. [in Russian]

18. Khalimova A.A., Kovalenko A.V., Ugolnikov V.V. Introdusing of efficient production management in pharmaceutical companies // Medical and pharmaceutical journal «Pulse». – 2021. – Vol.23. No.4. P. 60-67. [in Russian]

19. Pobelyansky G., Denshchikov R., Milkina M. Kaizen on pharmaceutical production. VERTEX introduces lean innovations in the production of medicines and dietary supplements // Online publication «ABOUT QUALITY»: official website. – 2018-2022. – Moscow. – [Electronic resource] - URL: https://kachestvo.pro/kachestvo-upravleniya/berezhlivoe-proizvodstvo/kaydzen-v-farmproizvodstve / (accessed 24.02.2022). [in Russian]

УДК 615.036.8

ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ОЦЕНКЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ПОМОЩИ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

Гражданкина А.А., ординатор 2 года обучения
Научный руководитель: **Каракулова Е.В.,** докт. фарм. наук, проф.
Сибирский государственный медицинский университет
634050, Томск, Московский тракт, д. 2, Российская Федерация
E-mail: 791338735927@yandex.ru

Проведен анализ отечественных и зарубежных публикаций, в которых выполнена фармакоэкономическая оценка применения антипсихотиков для терапии шизофрении. В работе обозначены проблемы и существующие ограничения проведения таких исследований. Обоснована необходимость включения в анализ экономической эффективности данных о побочных эффектах терапии.

Ключевые слова: *шизофрения, антипсихотики, фармакоэкономика, побочные эффекты, обзор литературы, моделирование.*

Шизофрения является одним из социально значимых заболеваний, которое характеризуется хроническим течением с частыми обострениями, требующими госпитализации. В мире этим психическим расстройством страдают более 20 миллионов человек [1]. При этом шизофрения является тяжелым бременем не только для больных и их родственников, но и для системы здравоохранения: на долю прямых медицинских затрат приходится от 1,3% до 2,7% бюджета в экономически развитых странах [2]. По оценкам Charlson F. et al. на 2016 год шизофрения является причиной потери 13,4 млн. лет нетрудоспособности в общем бремени болезней во всем мире, что эквивалентно 1,7% от общего YLD (годы нетрудоспособной жизни) [3].

Препаратами первого ряда для лечения шизофрении являются антипсихотики (нейролептики). Процесс выбора является сложным, учитывая разную клиническую эффективность и профиль побочных эффектов, которые часто являются причиной низкой комплаентности пациентов.

По данным литературы, при несоблюдении предписаний врача риск госпитализации увеличивается в 3 раза, преумножая общие прямые затраты на психиатрическую помощь [4]. Рецидив с госпитализацией был и остается наибольшей статьей расходов системы здравоохранения в лечении больных шизофренией.

В условиях ограниченности ресурсного обеспечения системы здравоохранения остается актуальным решение вопроса рационального распределения средств через поиск баланса между эффективностью лечения и его экономической целесообразностью. С этой целью в вопросах совершенствования лекарственного обеспечения используется фармакоэкономический анализ.

Целью данного исследования является изучение данных отечественных и зарубежных исследований, посвященных фармакоэкономическим аспектам терапии пациентов с шизофренией.

Зарубежными исследователями проведены систематические обзоры экономических моделей и значений полезности, используемых при оценке шизофрении.

В анализ экономических моделей, оценивающих фармакотерапию, включены исследования, выполненные методами «затраты-эффективность», «затраты-полезность» [5, 6, 7] или «минимизации затрат» [7].

Фармакоэкономическая оценка преимущественно выполняется методом анализа полезности затрат с использованием марковского моделирования. Большая часть исследований имеют временной горизонт от 1 года до 5 лет. Чаще всего в фармакоэкономический анализ включаются антипсихотики второго поколения (атипичные): оланзапин и рисперидон. Тем не менее ни один из препаратов нельзя назвать из-за противоречивых данных экономически эффективным [5]. В публикациях отмечено низкое качество существующих экономических моделей и определены основные проблемы исследований:

1. 67,7% исследований не включают затраты на лечение побочных эффектов. При этом для сравнения одних и тех же антипсихотических препаратов используются разные побочные эффекты [7].

2. 79,5% включенных исследований сообщают о конфликте интересов. Положительный результат определен для антипсихотика компании-спонсора, что указывает на то, что выводы этих моделей могли быть сделаны под влиянием конфликта интересов [7].

3. Небольшое количество исследований, включающих в модель устойчивую к терапии шизофрению [7].

При выполнении исследований методом «затраты-полезность», в качестве критерия эффективности используется QALY (год жизни с поправкой на качество) – показатель, учитывающий, как улучшение состояния здоровья (эффективность лечения), так и ухудшение состояния здоровья (при развитии побочных эффектов). Вопрос выбора значений полезности для включения в фармакоэкономическую оценку в этих условиях является актуальным, так как исследования выявления полезности для шизофрении позволяют получить разные значения полезности для одних и тех же состояний здоровья.

Zhou J. et al. рассмотрели значения полезности, используемые при анализе шизофрении, и оценили влияние их выбора на коэффициент приращения затрат и эффективности (ICER). Значения полезности, используемые в исследованиях, между рецидивом и стабильным состоянием варьируются в диапазоне -0,358 до -0,050, в результате чего стоимость дополнительной единицы эффективности изменяется от -56,2% до + 222,6% от среднего. Причины такой неоднородности значений объясняются различиями в интерпретации состояний здоровья из исследований по выявлению полезности в состояния здоровья, используемых в анализе «затраты-полезность», а также различиями по странам/регионам, методам выявления, респондентам, состояниям здоровья, следствием чего являются разные значения полезности [8].

В отечественной практике фармакоэкономическая оценка использования антипсихотиков преимущественно выполняется методом «затраты-эффективность» с последующим анализом «влияния на бюджет» исследуемой технологии лечения. В качестве критериев эффективности наиболее часто используются суррогатные точки: частота госпитализаций, число пациентов приверженных лечению, день без болезни [2, 9, 10, 11, 12]. В исследованиях, выполненных методом «затраты-полезность» с использованием QALY, данные о полезности взяты из зарубежных источников, в связи с отсутствием отечественных исследований по выявлению полезности.

В моделях фармакотерапии шизофрении всё чаще сравниваются пероральные атипичные антипсихотики (рисперидон, палиперидон, кветиапин) и антипсихотики пролонгированного высвобождения в инъекционной форме. Но несмотря на все преимущества современных препаратов, описанных в литературе, по итогам 2019 года типичные пероральные антипсихотики составляют большую часть в объеме закупок препаратов данной группы в РФ [13].

По результатам 5-летнего ретроспективного анализа потребления антипсихотиков на уровне стационара потребление типичных антипсихотиков увеличилось на 25% по сравнению с 2013 г. При этом для антипсихотиков длительного действия отмечено значительное снижение количества назначений. Более половины пациентов в качестве сопутствующей терапии получают тригексифенидил, который назначается в качестве корректора экстрапирамидных расстройств, вызванных приемом типичных антипсихотиков [14].

Вилюм И. А. и соавторами выполнена комплексная фармакоэкономическая оценка применения типичных и атипичных антипсихотиков на уровне стационара и на амбулаторном этапе поддеживающей терапии шизофрении. Ввиду высоких затрат, связанных с применением референтных атипичных антипсихотиков дополнительно оценены затраты при условии использования воспроизведенных лекарственных средств. Выявлено, что несмотря на преимущества атипичных антипсихотиков с позиции эффективности терапии с увеличением периода моделирования эффективность затрат нивелируется [9, 10].

Ряд исследований оценивают различные схемы лечения больных шизофренией атипичными антипсихотиками, опираясь на данные клинических исследований, что не позволяет определить долгосрочное влияние фармакотерапии на течение заболевания [2, 11, 12, 15].

В статьях прослеживается разница в нежелательных явлениях, характерных для разных антипсихотиков, что затрудняет их включение в фармакоэкономическую оценку. Для типичных антипсихотиков – это экстрапирамидные нарушения, а для атипичных антипсихотиков – метаболические нарушения, ведущие к развитию сердечно-сосудистых заболеваний.

Таким образом, развитие побочных эффектов у больных шизофренией на фоне применения антипсихотиков влечет за собой изменение не только клинической эффективности и качества жизни пациентов, но и затрат системы здравоохранения.

Зарубежные исследования по оценке стоимости и эффективности антипсихотиков на небольшом количестве антипсихотиков включают измерение влияния побочных эффектов. Однако прямой перенос данных невозможен ввиду различий в структурах систем здравоохранения, доступной фармакотерапии, медицинских услуг, популяции пациентов.

Также существует потребность в проведении исследований по выявлению полезности в пределах региона / страны, где проводится фармакоэкономическая оценка методом «затраты-полезность», поскольку значения полезности, являющиеся комплексными показателями, могут характеризоваться значительной вариабельностью в зависимости от местности. Следовательно, комплексное изучение влияния развития побочных эффектов на экономическую целесообразность применения различных антипсихотических препаратов при оказании лекарственной помощи больным шизофрений может быть рассмотрено в качестве перспективного направления для будущих исследований.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.31.29 Клиническая фармакология

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 / S.L. James [et al.] // The Lancet. 2018. Vol. 392(10159). P. 1789–1858. http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(18)32279-7

2. Сравнительный клинико-экономический анализ медикаментозного лечения пациентов с шизофренией антипсихотическими препаратами первого и второго поколения в таблетированной форме / В.В. Омельяновский [и др.] // Социальная и клиническая психиатрия. 2013. Т. 23. N 2. С. 73-83.

3. Global Epidemiology and Burden of Schizophrenia: Findings From the Global Burden of Disease Study 2016 / F.J. Charlson [et al.] // Schizophrenia Bulletin. 2018. Vol. 44(6). P. 195–203. https://doi.org/10.1093/schbul/sby058

4. A pharmaco-economic analysis of patients with schizophrenia switching to generic risperidone involving a possible compliance loss / M. Treur [et al.] // BMC Part of Springer Nature 2009. [Internet]. https://doi.org/10.1186/1472-6963-9-32

5. A Systematic Review of Economic Models Across the Entire Schizophrenia Pathway / H. Jin // Pharmacoeconomics. 2020. Vol. 38(6). P. 537-555. https://doi.org/10.1007/s40273-020-00895-6.

6. Systematic review of the methods of health economic models assessing antipsychotic medication for schizophrenia / H. Jin [et al.] // PLoS One. 2020. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234996.

7. Zhou J., Millier A., Toumi M. Systematic review of pharmacoeconomic models for schizophrenia // Journal of Market Access & Health Policy. 2018. https://doi.org/10.1080/20016689.2018.1508272.

8. Systematic review of utility values used in the pharmacoeconomic evaluations for schizophrenia: implications on cost-effectiveness results / J. Zhou [et al.] // J Mark Access Health Policy. 2019. Vol. 7(1). https://doi.org/10.1080/20016689.2019.1648973.

9. Клинико-экономический анализ использования антипсихотических лекарственных препаратов в стационаре для лечения шизофрении / И.А. Вилюм [и др.] // Клиническая фармакология и терапия. 2018. Т. 27. N 2. С. 69-76.

10. Фармакоэкономический анализ классических и атипичных лекарственных препаратов в лечении шизофрении / И.А. Вилюм [и др.] // ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. Т. 11. N 2. С. 9-24.

11. Фармакоэкономический анализ эффективности затрат современных атипичных антипсихотиков у больных шизофренией / С.К. Зырянов [и др.] // Качественная клиническая практика. 2013. N 2. С. 18-32.

12. Кожанова И.Н., Романова И.С., Сачек М.М. Тактика использования пролонгированных атипичных антипсихотиков у пациентов с шизофренией в условиях здравоохранения Республики Беларусь // Вопросы организации и информатизации здравоохранения. 2018. N 1 (94). С. 80-91.

13. Прожерина Ю. Рынок антипсихотических препаратов: вопросы региональных закупок // Ремедиум. 2020. N 4-6. С. 34-41. https://doi.org/10.21518/1561-5936-2020-4-5-6-34-41

14. Vaskova L.B., Tiapkina M.V., Mikhaylenko E.V. Comparative analysis of antipsychotic drug consumption for inpatient schizophrenia treatment: a retrospective study with 5-year follow-up // Farmakoekonomika. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology. 2020. Vol. 13(3). P. 251-261. https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2020.053

15. Фармакоэкономическая эффективность применения препарата Луразидон при лечении шизофрении / С.К. Зырянов [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020. Т. 120 N (6-2). С. 82-92.

SUMMARY

PHARMACOECONOMIC METHODS FOR THE EVALUATION OF DRUG CARE FOR SCHIZOPHRENIA

Grazhdankina A.A., 2nd year resident
Academic advise: **Karakulova E.V.**, Doctor of Pharmacy, Professor
Siberian State Medical University
2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation
E-mail: 791338735927@yandex.ru

The analysis of domestic and foreign publications which include a pharmacoeconomic evaluation of the use of antipsychotics for the therapy of schizophrenia was carried out. The paper outlines the problems and existing limitations of conducting such studies. The need to incorporate data on side effects of therapy into the cost-effectiveness analysis is justified.

Keywords: *schizophrenia, antipsychotics, pharmacoeconomics, side effects, literature review, modeling.*

REFERENCES

1. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 / SL James [et al.] // The Lancet [Internet]. Elsevier BV; 2018. Vol. 392(10159). P. 1789–1858. http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(18)32279-7

2. Comparative clinical and economic analysis of drug treatment of patients with schizophrenia with antipsychotic drugs of the first and second generation in tablet form / V.V. Omel'yanovskiy [et al.] // Social and Clinical Psychiatry. 2013. Vol. 23. (2). P. 73-83. (in Russian).

3. Global Epidemiology and Burden of Schizophrenia: Findings From the Global Burden of Disease Study 2016 / F.J. Charlson [et al.] // Schizophrenia Bulletin [Internet]. 2018. Vol. 44(6). P. 195–203. https://doi.org/10.1093/schbul/sby058

4. A pharmaco-economic analysis of patients with schizophrenia switching to generic risperidone involving a possible compliance loss / M. Treur [et al.] // BMC Part of Springer Nature [Internet]. 2009. https://doi.org/10.1186/1472-6963-9-32

5. A Systematic Review of Economic Models Across the Entire Schizophrenia Pathway / H. Jin // Pharmacoeconomics [Internet]. 2020. Vol. 38(6). P. 537-555. https://doi.org/10.1007/s40273-020-00895-6.

6. Systematic review of the methods of health economic models assessing antipsychotic medication for schizophrenia / H. Jin [et al.] // PLoS One. 2020. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234996.

7. Zhou J, Millier A, Toumi M. Systematic review of pharmacoeconomic models for schizophrenia // Journal of Market Access & Health Policy. 2018. https://doi.org/10.1080/20016689.2018.1508272.

8. Systematic review of utility values used in the pharmacoeconomic evaluations for schizophrenia: implications on cost-effectiveness results / J. Zhou [et al.] // J Mark Access Health Policy. 2019. Vol. 7(1). https://doi.org/10.1080/20016689.2019.1648973

9. Clinical and economic analysis of the use of antipsychotic drugs in the hospital for the treatment of schizophrenia/ I.A. Vilyum [et al.] // Clinical pharmacology and therapy. 2018. Vol. 27(2) P. 69-76. (in Russian).

10. Pharmacoeconomic analysis of using typical and atypical antipsychotics in schizophrenia / I.A. Vilyum [et al.] // Farmakoekonomika. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology. 2018. Vol. 11(2). P. 9-24. (in Russian). https://doi.org/10.17749/2070-4909.2018.11.2.009-024

11. Zyryanov S. K., Belousov D. Yu., Afanas'eva E. V. [et al.] Pharmacoeconomic cost-benefit analysis of modern atypical antipsychotics in schizophrenic patients // Good clinical practice. 2013. N 2. P. 18-32. (in Russian).

12. Kozhanova I.N., Romanova I. S., Sachek M. M. Tactics of using prolonged atypical antipsychotics in patients with schizophrenia in the healthcare environment of the Republic of Belarus // Voprosy organizatsii i informatizatsii zdravookhraneniya – Issues of organization and information health. 2018. N 1(94). P. 80-91. (in Russian).

13. Prozherina Yu. Antipsychotic drugs market: issues of regional procurement // Remedium. 2020. N 4-6. P. 34-41. (in Russian). https://doi.org/10.21518/1561-5936-2020-4-5-6-34-41

14. Vaskova L.B., Tiapkina M.V., Mikhaylenko E.V. Comparative analysis of antipsychotic drug consumption for inpatient schizophrenia treatment: a retrospective study with 5-year follow-up // Farmakoekonomika. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology. 2020. Vol. 13(3). P. 251-261. https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2020.053

15. The pharmacoeconomic efficacy of lurasidone in the treatment of schizophrenia / S.K. Zyryanov [et al.] // Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii imeni S.S. Korsakova. 2020. Vol. 120(6-2). P. 82-91. (in Russian) https://doi.org/10.17116/jnevro202012006282

УДК 614.273

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ДОМАШНИХ АПТЕЧЕК ГЕРИАТРИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ

Григорьева И.А., аспирант 4 года обучения (ORCID: 0000-0003-1983-8551)
Руководитель: **Егорова С.Н.**, д.фарм.н., профессор, зам.директора по образовательной деятельности Института фармации (ORCID: 0000-0002-3212-8282; ResearcherID Q-1386-2015)
Институт фармации Казанского государственного медицинского университета
420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д.49, Россия
E-mail: i.grigoreva@kazangmu.ru

Целью работы является изучение домашних аптечек гериатрических пациентов. В аптечках преобладают OTC-препараты, кроме того, в них наблюдаются нарушения сроков годности и условий хранения.

Для самостоятельного мониторинга показателей сердечно-сосудистой системы используются тонометры, тест-системы и пульсометры.

Результаты совмещенного ABC/OTC-анализа указывают на незначительное различие в затратах на рецептурные и безрецептурные лекарства (средняя стоимость Rx-препаратов – 274,91 руб., а OTC-препаратов – 258,70 руб.), что указывает на готовность самостоятельного приобретения гериатрическими пациентами не только дешевых, но и дорогостоящих препаратов. В наиболее затратной группе ассортимента аптечек преобладают лекарственные препараты фармакологических групп «Препараты для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы» и «Пищеварительный тракт и обмен веществ».

Ключевые слова. *Домашняя аптечка, гериатрическая фармация, ABC/OTC-анализ, фармацевтическое консультирование, медицинские изделия.*

В России неуклонно растет доля населения пожилого и старческого возраста (рис. 1). У одного пациента старше 60 лет обнаруживают в среднем 4–5 различных заболеваний [1], что закономерно сопровождается ростом потребления разнообразных лекарственных средств и требует более внимательного отношения со стороны фармацевтического работника к данной категории населения.

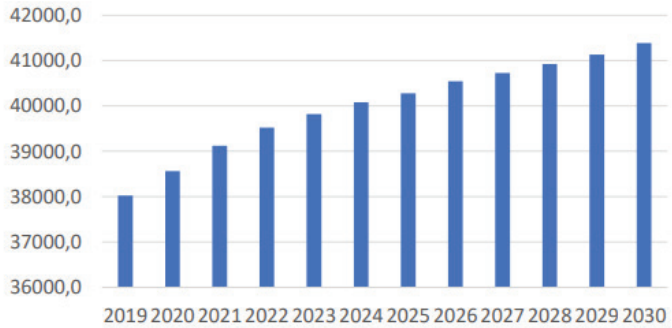


Рисунок 1. Прогноз (средний вариант) численности населения в возрасте старше трудоспособного в РФ

Медико-биологические изменения у гериатрических пациентов приводят к возрастанию риска возникновения нежелательных лекарственных реакций [1], что обусловливает необходимость совершенствования профессиональных знаний провизоров в сфере гериатрической фармации. Оценка ситуационного анализа фармацевтического консультирования гериатрических пациентов позволит сформировать методические и практические рекомендации по работе с данной категорией населения.

Цель: изучение домашних аптечек гериатрических пациентов в отношении состава, обеспечения надлежащего хранения, а также выявления потребительских предпочтений и затрат.

Задачи:

- изучить соответствие условий хранения лекарственных препаратов (ЛП) требованиям инструкций по медицинскому применению;

- провести анализ ассортимента медицинских изделий (МедИ) в домашних аптечках гериатрических пациентов с последующим сопоставлением анализа клинических рекомендаций по профилактике и лечению заболеваний сердечно-сосудистой системы для выявления основных параметров контроля, необходимых в амбулаторных условиях;

- провести совмещенный ABC-OTC анализ ассортимента ЛП в домашних аптечках гериатрических пациентов для выявления наиболее затратных групп, применяемых в рамках ответственного самолечения.

Объекты исследования: домашние аптечки гериатрических пациентов старше 65 лет (106); инструкции по медицинскому применению ЛП; клинические рекомендации лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы (12); Государственный реестр медицинских изделий Российской Федерации; интернет-сайты аптечных сетей Республики Татарстан (5), сайты интернет-аптек (1); данные справочной службы «003» ГУП «Медицинская техника и фармация Татарстана».

Методы исследования: анкетирование, контент-анализ, логический, предметный, структурный, графический анализ, ABC/OTC-анализ. Ценовая сегментация осуществлялась методом группировок Стерджесса.

Результаты. Составлена авторская анкета, включающая 11 вопросов открытого и закрытого типа, содержащая 3 блока: социально-демографический; принадлежность домашней аптечки (для личного и/или семейного пользования) и симптомы и заболевания, при которых используется ее содержимое; описание домашних аптечек на предмет содержания в них лекарственных препаратов, а также условий их хранения.

Первым этапом было изучение условий хранения лекарственных препаратов в домашних аптечках гериатрических пациентов.

Установлено, что гериатрические пациенты формируют состав домашних аптечек, исходя из имеющихся заболеваний и наиболее часто проявляющихся симптомов: повышенное артериальное давление, головная и суставная боль, простуда, нарушения пищеварения, нарушения сна, заболевания сердечно-сосудистой системы, сахарный диабет и др. (рис. 2). В среднем в домашней аптечке содержится 16 наименований лекарственных препаратов. OTC-препараты составляют 76,5%. Домашние аптечки хранятся в жилых комнатах, в холодильнике и в ванной комнате. Проведен анализ соответствия сроков годности и условий хранения лекарственных препаратов в домашних аптечках требованиям производителей, указанным на вторичной упаковке. В аптечках гериатрических пациентов выявлено 7,02% лекарственных препаратов с истекшим сроком годности, из которых 83,44% разрешены к отпуску из аптек без рецепта врача и 16,56% – отпускаются по рецепту врача; твердые лекарственные формы составляют 68,70%, жидкие – 20,87%, мягкие лекарственные формы – 10,43%.

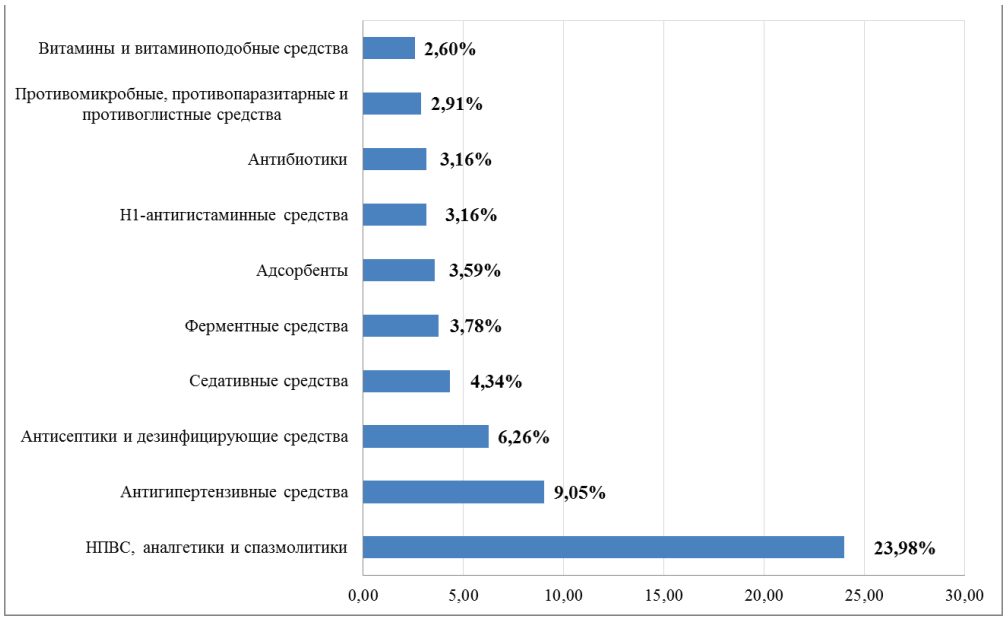


Рисунок 2. Топ-10 часто встречающихся фармакологических групп среди рассмотренных домашних аптечек

Условия хранения нарушены (рис. 3) у 30,20% лекарственных препаратов, из которых 78,87% OTC-препаратов и 21,13% -подлежащих отпуску из аптек по рецепту врача. Среди лекарственных препаратов, хранящихся с нарушением требований производителей, твердые лекарственные формы составляют 55,70%, жидкие – 27,85%, мягкие лекарственные формы – 16,45%.

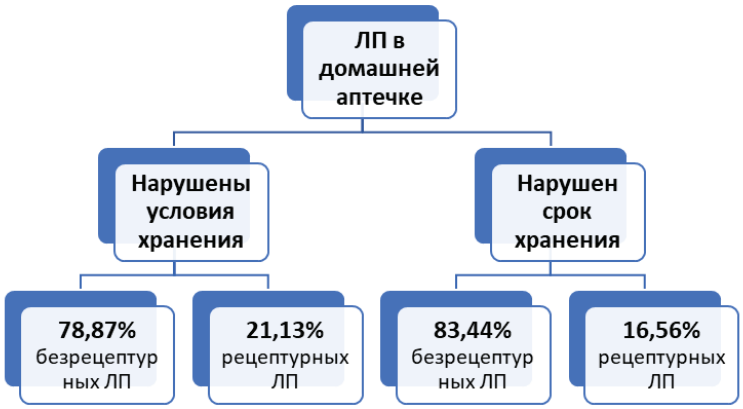


Рисунок 3. Нарушение сроков и условий хранения ЛП, имеющихся в аптечке

Поскольку частыми симптомами-обращениями в аптеку пожилыми людьми являются симптомы и заболевания сердечно-сосудистой системы, поэтому следующим этапом был проведен ассортиментный анализ медицинских изделий, предназначенных для применения в домашних условиях пациентами с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

В результате исследования был проведен анализ клинических рекомендаций по профилактике и лечению заболеваний сердечно-сосудистой системы для выявления основных параметров контроля, необходимых в амбулаторных условиях. Определены группы медицинских изделий, используемых пациентами самостоятельно: тонометры, пульсоксиметры и диагностические тесты.

Проведен анализ Государственного реестра медицинских изделий и аптечного ассортимента Республики Татарстан с целью выявления доступности населению медицинских изделий. Осуществлено ценовое сегментирование исследуемых групп медицинских изделий с целью определения потребительских возможностей; рассчитаны показатели полноты ассортимента.

В аптеках Республики Татарстан представлен широкий ассортимент моделей тонометров. Более 60% механических и автоматических тонометров входят в низкий сегмент; показатель полноты ассортимента Кп=0,83, что позволяет удовлетворить потребности пациентов. 50% ассортиментной группы «пульсоксиметры», реализуемой из аптек, относится к низкому ценовому сегменту; показатель полноты ассортимента Кп=0,29. Диагностические тесты, реализуемые в Республике Татарстан, представлены экспресс-тестами для определения кетонов в крови и в моче; показатель полноты ассортимента Кп=0,31. Ценовая сегментация тест-систем во многом определяется необходимостью использования дополнительных приборов (анализаторов) [5]. 75% от общего количества экспресс-тестов, представленных на фармацевтическом рынке Республики Татарстан относятся к среднему ценовому сегменту (рис. 4).

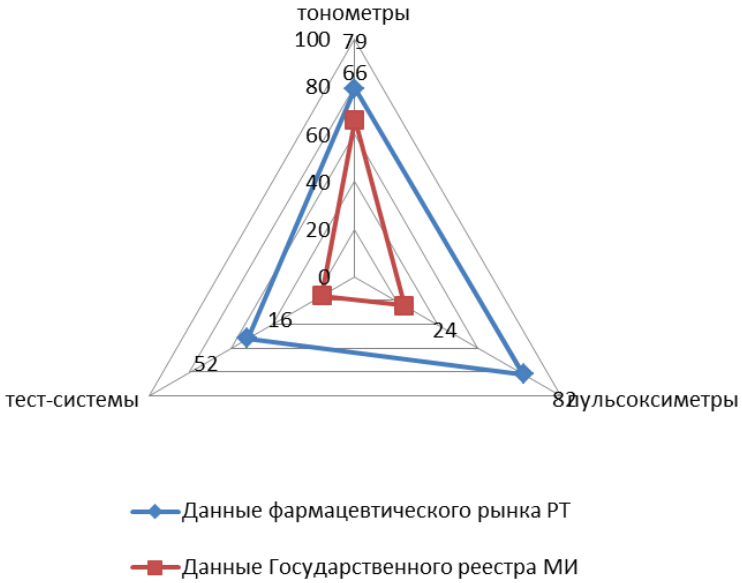


Рисунок 4. Ассортиментный макро- и мезоконтур рынка МедИ (тонометров, пульсоксиметров и экспресс-тестов)

Третьим этапом было проведение совмещенного ABC-OTC анализ ассортимента ЛП в домашних аптечках гериатрических пациентов для выявления наиболее затратных групп, применяемых в рамках ответственного самолечения.

В рамках ABC-анализа всего ассортимента ЛП домашней аптечки в группу А (79,90%) вошли 198 наименований ЛП, в группу В (15,04%) – 146 наименований, в группу С (5,04%) – 157 наименований.

Преобладающими фармакологическими группами в группе А были «Препараты для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы» (17,17%), «Пищеварительный тракт и обмен веществ» (12,63%); в группе В – «Препараты для

лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы» (11,64%), «Противопростудные препараты» (10,27%); в группе С – «Противопростудные препараты» (13,38%), «Витамины и минеральные комплексы» (7,64%).

Сравнение показателей средней стоимости ЛП по группам АВС указывает на высокую среднюю стоимость ЛП группы А (525,96 руб.), в сравнении с группами В (143,15 руб.) и С (46,77 руб.), при этом сравнивая среднюю стоимость ЛП по ОТС группам можно наблюдать незначительное различие: средняя стоимость Rx-препаратов – 274,91 руб., а ОТС-препаратов – 258,70 руб.

Заключение. Результаты анкетирования показали преобладание ОТС-препаратов в домашних аптечках гериатрических пациентов. 7,02% лекарственных препаратов в домашних аптечках непригодны к использованию вследствие истекшего срока годности; условия хранения нарушены у 30,20% лекарственных препаратов. Необходимо усиление фармацевтической опеки гериатрических пациентов в отношении организации хранения лекарственных препаратов в домашних условиях.

По состоянию на март 2021 года на отечественном рынке зарегистрировано 950 наименований медицинских изделий, применяемых в диагностике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний. При этом 22,6% могут применяться в домашних условиях и реализуются населению аптечными организациями. Для самостоятельного мониторинга показателей сердечно-сосудистой системы в амбулаторных условиях используются тонометры, тест-системы и пульсометры. Их доля от общего числа зарегистрированных медицинских изделий, применяемых в диагностике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний, составляет 17%. Ценовое сегментирование исследуемых групп медицинских изделий указывает на доступность их покупки клиентами с высокой и средней платежеспособностью. Выявлены перспективы расширения ассортимента медицинских изделий для самостоятельного применения пациентами с сердечно-сосудистыми заболеваниями на региональном фармацевтическом рынке.

Результаты совмещенного АВС/ОТС-анализа указывают на незначительное различие в затратах на рецептурные и безрецептурные ЛП (средняя стоимость Rx-препаратов – 274,91 руб., а ОТС-препаратов – 258,70 руб.), что указывает на готовность самостоятельного приобретения гериатрическими пациентами не только дешевых, но и дорогостоящих ЛП. В наиболее затратной группе ассортимента аптечек преобладают ЛП фармакологических групп «Препараты для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы» и «Пищеварительный тракт и обмен веществ».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Габдрафикова Ю.С., Кирщина И.А., Солонинина А.В. Фармацевтическая помощь гериатрическим пациентам: актуальность, проблемы, пути решения // Фармация. 2018. N 5. С. 35-41.

2. Фармацевтическое консультирование гериатрических пациентов: изучение информационных потребностей аптечных работников «первого стола» / И.А. Григорьева [и др.] // Вестник современной клинической медицины. 2019. Т. 12. N 4. С. 14-19. DOI: 10.20969/ VSKM.2019.12(4).14-19

3. Проблемы хранения лекарственных препаратов в домашних аптечках гериатрических пациентов / С.Н. Егорова [и др.] // Современная организация лекарственного обеспечения. 2020. Т. 7. N 4. С. 6-13.

4. Григорьева И.А. Изучение соблюдения требований к условиям хранения лекарственных препаратов гериатрическими пациентами // Белые цветы. 2020 : Сборник тезисов. VII Международный молодежный научно-медицинский форум. Посвящен 100-летию со дня образования ТАССР, 75-летию Победы в Великой Отечественной войне, Казань, 08–10 апреля 2020 года. Казань: Казанский государственный медицинский университет. 2020.

5. И.А. Григорьева, Г.Х. Гарифуллина, С.Н. Егорова Ассортиментный анализ медицинских изделий для мониторинга деятельности сердечно-сосудистой системы в амбулаторных условиях // Фармакоэкономика: Теория и практика. 2021. Т. 9. N 1. С. 21-29. DOI: https://doi.org/10.30809/phe.1.2021.3

SUMMARY

STUDY OF THE COMPOSITION OF HOME FIRST AID KITS OF GERIATRIC PATIENTS

Grigoreva I.A, P.G. 4st year student

Academic advice: **Egorova S.N.**, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Full Professor,

deputy Director of Educational Activities of the Institute of Pharmacy

Kazan State Medical University, Institute of Pharmacy

420012, Russian Federation, Kazan, 49 Butlerov st.

E-mail: i.grigoreva@kazangmu.ru

The aim of the work is to study the home first aid kits of geriatric patients. First-aid kits are dominated by OTC drugs (78.87%); 7.02% of drugs expired; in 30.20% of drugs, storage conditions are violated.

For independent monitoring of indicators of the cardiovascular system, tonometers, test systems and heart rate monitors are used (the share of the total number of registered medical devices used in the diagnosis and treatment of cardiovascular diseases is 17%).

The results of the combined ABC/OTS analysis indicate a slight difference in the costs of Rx and OTC drugs (the average cost of Rx drugs is 274.91 rubles, and OTC drugs is 258.70 rubles), which indicates the readiness of an independent acquisition by geriatric patients of not only cheap, but also expensive drugs. In the most expensive group of first-aid kits, drugs of the pharmacological groups **«**Preparations for the treatment of diseases of the cardiovascular system**»** and «Alimentary tract and metabolism» prevail.

Keywords: *Home first aid kit, geriatric pharmacy, ABC/OTC analysis, pharmaceutical consulting, medical devices.*

REFERENCES

1. Gabdrafikova Yu.S. Kirshchina I.A., Soloninina A.V. Farmacevticheskaya pomoshch' geriatricheskim pacientam: aktual'nost', problemy, puti resheniya // Farmaciya. 2018. N 5. P. 35-41. (in Russian)

2. Farmacevticheskoe konsul'tirovanie geriatricheskih pacientov: izuchenie informacionnyh potrebnostej aptechnyh rabotnikov «pervogo stola» / I.A. Grigor'eva [et al.] // Vestnik sovremennoj klinicheskoj mediciny. 2019. Vol. 12(4). P. 14–19. (in Russian). DOI: 10.20969/ VSKM.2019.12(4).14-19

3. Problemy hraneniya lekarstvennyh preparatov v domashnih aptechkah geriatricheskih pacientov / S.N. Egorova [et al.] // Sovremennaya organizaciya lekarstvennogo obespecheniya. 2020. Vol. 7(4). P. 6-13. (in Russian).

4. Grigor'eva, I.A. Izuchenie soblyudeniya trebovanij k usloviyam hraneniya lekarstvennyh preparatov geriatricheskimi pacientami // Belye cvety - 2020 : Sbornik tezisov. VII Mezhdunarodnyj molodezhnyj nauchno-medicinskij forum. Posvyashchen 100-letiyu so dnya obrazovaniya TASSR, 75-letiyu Pobedy v Velikoj Otechestvennoj vojne, Kazan', 08–10 aprelya 2020 goda. – Kazan': Kazanskij gosudarstvennyj medicinskij universitet. 2020. P. 162. (in Russian)

5. Grigor'eva I.A., Garifullina G.H., Egorova S.N.Assortimentnyj analiz medicinskih izdelij dlya monitoringa deyatel'nosti serdechno-sosudistoj sistemy v ambulatornyh usloviyah // Farmakoekonomika: Teoriya i praktika. 2021. Vol. 9(1) P. 21-29. (in Russian). DOI: https://doi.org/10.30809/phe.1.2021.3

УДК 330.341.13

РОБОТИЗАЦИЯ АПТЕК – ПЕРСПЕКТИВЫ И РИСКИ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РАБОТНИКА

Демина Е.В., студ. 3 курса (ORCID: ID: 0000-0003-3172-7272),
Шаехова Г.Р., студ. 3 курса (ORCID: ID: 0000-0001-6283-931X)
Руководитель: **Маймистов Д.Н.**, ст. преп. каф. социально-гуманитарных дисциплин (ORCID: ID: 0000-0001-8070-1699)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ekaterina.demina@spcpu.ru

Проведена сравнительная оценка перспективности и рисков внедрения роботов в работу аптеки. Проанализировано влияние современных технологий и автоматизации аптек на деятельность фармацевтических работников. Представлен предварительный анализ уровня автоматизации и роботизации в сфере лекарственного обеспечения в разных странах.

Ключевые слова: *роботизация, аптека, ошибки, фармацевт, автоматизация, технический прогресс.*

Роботизация во многом упрощает жизнь человека и улучшает ее качество. Самая важная роль отводится роботам, заменяющим человека при выполнении различных задач в экстремальных условиях: на больших глубинах, в вакууме, в космосе, на участках с радиационно-, взрыво- и пожароопасными условиями, а также на химических и фармацевтических производствах. Но могут ли роботы заменить фармацевта в аптеке, и стоит ли сегодня ожидать конкуренции? Данный вопрос актуален для фармацевтической области. В условиях новой коронавирусной инфекции спрос на товары аптечного ассортимента увеличился, а также увеличилась нагрузка на самих фармацевтов: уменьшилась эффективность обслуживания, время на консультирование пациентов. Следовательно, роботизация освободила бы фармацевта от рутинных действий и оптимизировала бы работу аптеки.

В повышении доступности качественных, безопасных и эффективных лекарственных препаратов заинтересованы и пациенты, и сами работники сфер здравоохранения, но кто лучше с этим справится, машина или человек?

Цель работы заключается в том, чтобы показать, как технический прогресс влияет сегодня на работу фармацевта, его положительные и отрицательные последствия.

Задачами исследования является:

1. анализ рисков при отпуске аптеками рецептурных препаратов традиционными способами;
2. выявление проблем внедрения новых технологий в деятельность по аптечному лекарственному обеспечению населения;
3. влияние новых аптечных технологий на будущность профессии фармацевта;
4. сравнительное изучение результатов авторского исследования с данными вторичного анализа.

Исследование базируется на использовании методов дескриптивного и сравнительного анализа, а также на социологических способах сбора данных.

В России роботизация аптек началась с 2006 года. В одной из аптек сети «Самсон-Фарм» в г. Москва впервые был установлен робот Consis B2 немецкой компании Willach. В 2008 и 2011 годах похожие роботы появились в аптеках г. Владивосток (Приморский край), г. Абакан (республика Хакасия) и г. Москва. Через год на российский фармацевтический рынок вышел робот нового поколения – роботизированные склады от итальянской компании PYSSA и немецкой компании CareFusion/Rowa. [1]

В фармацевтическом производстве роботы выполняют ряд однотипных операций: обрабатывают бутылки в процессе культивирования клеток, загружают и выгружают автоклавы и упаковочные машины, а также дезинфицируют шприцы. Роботы также выдают лекарства в аптеках. [2]

В фармацевтической и медицинской промышленности используются роботы компаний Stäubli, ABB, Kuka, Wittmann, Denso, Epson и др. Например, для выполнения сбора, упаковки и укладки на паллеты таблеток и других лекарств в компаниях Astra Zeneca, Glaxo Smith Kline, Johnson & Johnson и Schering-Plough применяются роботы ABB, а в компании Bayer – роботы Stäubli моделей RXl6o, TX2oo и RXl7o. Для паллетирования и упаковки вакцин и лекарств в компании Novartis применяются роботы ABB. Для сбора таблеток и размещения их в блистерной полости в компании Janssen-Ortho LLC используется робот Epson ELó5o 3o. Для приготовления лекарств используется робот Denso Wave VS-S2. [3]

Прогнозируется, что к концу 2026 года мировой рынок фармацевтических роботов достигнет 222,40 млн долларов США по сравнению с 93,37 млн долларов США в 2019 году при среднегодовом темпе роста почти 13,2%. [4]

В качестве примера роботизации аптеки рассмотрим реализацию проекта в Санкт-Петербурге в сети «Петербургские аптеки». Принцип его работы следующий. Новые лекарства загружают для робота в специальные слоты. В свободное время он забирает их из слота и сортирует на полках в соответствии со спросом на лекарства. Робот принимает сигнал с кассы и находит нужное лекарство за 7 секунд. Фармацевту надо только забрать заказ из окошка выдачи. [5]

Одна из крупнейших аптечных сетей России – «Ригла», роботизированные системы внедрены в пяти аптеках сети в Москве. Однако, по словам генерального директора, роботы не оправдали ожидания в экономическом плане. Содержание окупилось бы, если был бы больше поток людей. Но рядом были и другие аптеки, куда могла уходить часть покупателей. А за счет экономии на зарплате окупить такой проект очень сложно, так как в России зарплата фармацевта намного ниже, чем, например, в Европе, поэтому роботизированные системы в аптеках там более оправданы. [6]

Способ обслуживания по принципу роботизированной аптеки вызывает у потребителей интерес, поддерживает внимание постоянных клиентов и привлекает новых покупателей в аптеку. Комплекс преимуществ роботов для аптек создает все предпосылки для повышения числа постоянных покупателей и увеличения товарооборота. [7]

Американские ученые выявили количество ошибок, допускаемых фармацевтами при отпуске рецептурных препаратов. Исследование проводилось в 50 аптеках разных городов. Наблюдалась работа фармацевтов в течение одного дня. Общий показатель точности выдачи составил 98,3% (77 ошибок среди 4481 рецепта; диапазон 87,2%-100%; 95% доверительный интервал ± 0,4%). Ошибки в оформлении этикеток возникали чаще всего. Точность рецептов на пополнение запасов составляла 99,3% (11 ошибок среди 1677 рецептов). Из 77 обнаруженных ошибок 5 (6,5%) были признаны потенциально клинически значимыми. Это составляет 0,1% от 4481 рецепта, оцененных в этом исследовании. [8]

Медикаментозные ошибки, связанные с неточностью чтения этикеток, в медицинской практике могут привести к серьезным последствиям для пациента, вплоть до летального исхода. Приведем некоторые примеры.

68-летняя женщина, перенесшая тотальное эндопротезирование коленного сустава, получила интратекально транексамовую кислоту вместо предполагаемых бупивакаина и морфина. Хирург планировал промыть открытое колено транексамовой кислотой, чтобы свести к минимуму кровопотерю, а анестезиолог намеревался ввести интратекально бупивакаин и морфин для обезболивания. В аптеке были выданы флаконы по 10 мл как с транексамовой кислотой (100 мг/мл), так и с бупивакаином (2,5 мг/мл) в хирургическом отделении для подготовки персоналом в шприцах непосредственно перед введением (морфин имелся в наличии). Флаконы были одинакового размера, и, несмотря на различия в этикетках, анестезиолог взял 10 мл флакон с транексамовой кислотой, полагая, что это бупивакаин. Он добавил этот флакон в свой анестезиологический лоток, а затем ввел препарат интратекально. полагая, что он подготовил шприц, используя флакон с бупивакаином. Очевидно, он быстро взглянул на этикетку и не заметил, что взял не тот 10-миллилитровый флакон, раскладывая лекарства, необходимые для анестезии этого пациента. Не было возможности сканировать штрих-код препарата перед приготовлением и введением.

У пациентки сразу развился миоклонус нижних конечностей и судороги. Хирургическое вмешательство было остановлено, и пациентку в итоге пришлось подключить к аппарату искусственной вентиляции легких. Ей потребовалось лечение в отделении интенсивной терапии.

Зарегистрирована почти дюжина дополнительных зарубежных случаев смешивания транексамовой кислоты и бупивакаина, в которых транексамовая кислота была непреднамеренно введена интратекальным путем. Некоторые из них закончились летальным исходом. [9] Автоматизация данных процессов могла бы исключить ошибки со стороны врачей и фармацевтов.

Так, Пун и его коллеги сравнили ошибки целевого дозирования и потенциальные побочные эффекты лекарств (ПЭЛ) до и после внедрения многосторонних изменений рабочего процесса, включая технологию штрих-кодов и карусель лекарств для извлечения и заполнения. Пун и соавторы продемонстрировали снижение целевых ошибок выдачи на 85% и целевых потенциальных ПЭЛ на 74% после внедрения штрих-кодирования.

В двух процессах выдачи было обнаружено значительное улучшение показателей потенциальных ПЭЛ. В одном процессе выдачи («заполнение альтернативной зоны») наблюдалось увеличение потенциальных ПЭЛ и потенциальных

опасных для жизни ПЭЛ в период после штрих-кода из-за ошибок при заполнении внутривенных препаратов высокого риска. Хотя было продемонстрировано количественное улучшение в отношении ошибок при выдаче лекарств и потенциальных ПЭЛ, статистический анализ первичного результата не был завершен. Вторичные анализы показали улучшение ошибок при выдаче лекарств и потенциальных ПЭЛ когда сканировалась каждая доза или дозы сканировались при пополнении запасов и извлечении из карусели лекарств. Пун и др. указали, что новый рабочий процесс, включающий технологию штрих-кода, улучшил отпуск лекарств. [10]

Однако наличие новых технологий может создать новые проблемы в процессе использования лекарств, поскольку не все факторы поняты во время внедрения. Ситуация, подвергшая опасности здоровье пациента, произошла в больнице в Бенде, штат Орегон, несмотря на то, что в больнице на месте установлена автоматизированная система внутривенного (внутривенного) вливания. Система-workflow IV не использовалась из-за несовместимости, возникшей с их недавно внедренной электронной медицинская картой. Составленный лекарственный препарат не был проверен системой внутривенного вливания перед приготовлением, и в процессе ручной подготовки и проверки было допущено несколько ошибок, в результате чего пациенту ошибочно ввели рокуроний вместо предписанного фосфениотина. Расследование показало, что ошибку можно было бы предотвратить, если бы система-workflow IV использовалась по назначению. [11]

Кроме того, исследование британских ученых показало, что нагрузка на диспансер после автоматизации возросла на 43%, а количество предотвращенных инцидентов с распределением снизилось на 56%. После автоматизации было меньше ошибок в лекарствах и больше ошибок в маркировке.

Признано, что автоматизация может устранить все ошибки, связанные с составом лекарств, поскольку персоналу больше не требуется выбирать лекарства с полок. Было обнаружено, что инциденты как до, так и после автоматизации выдачи лекарств происходят в течение длительных периодов высокой рабочей нагрузки, когда аптечный персонал испытывает непроизвольный автоматизм и становится более самодовольным и менее бдительным. Инциденты, которые, как предполагалось, должны быть предотвращены автоматизацией, также происходили после напряженного периода, когда персонал испытывал последствия усталости. Поэтому, независимо от того, использует ли больница ручную или автоматизированную систему выдачи лекарств, деятельность аптечного персонала должна своевременно чередоваться, чтобы нарушить монотонность раздачи. [12]

Перспективным становится внедрение в практику госпитальной фармации автоматизированных систем назначения (индивидуального дозирования) лекарственных средств (ЛС), что позволит минимизировать уровень ошибок при назначении и обеспечении пациентов лекарствами. Ядром системы персонифицированного отпуска является программное обеспечение, позволяющее в режиме реального времени осуществлять врачебные назначения конкретным пациентам на конкретное время (дни и даже часы). Затем направлять эти назначения уже в виде заявки непосредственно в аптеку, которая на основе полученных заявок осуществляет фасовку лекарственного препарата индивидуально для каждого пациента в стерильную упаковку. Технология позволяет обеспечить нанесение на каждую упаковку исчерпывающей информации о пациенте, лечебном отделении, ЛС, времени приема и др. В общем виде технология персонифицированного отпуска ЛС включает следующие этапы:

1. врач оформляет назначение препарата в электронном виде и передает на автоматизированное рабочее место старшей медицинской сестры;
2. старшая медицинская сестра обобщает поступившие назначения и в электронном виде передает их в аптеку;
3. в аптеке на основе полученных требований производится расфасовка назначенных ЛС индивидуально для пациента, согласно времени приема, указанного в назначении;
4. индивидуальные упаковки ЛС поступают в отделения, где непосредственно передаются пациентам.

Предложенный алгоритм уменьшает вмешательство человеческого фактора, особенно на этапе среднего медицинского персонала, что исключает появление медицинских ошибок и злоупотреблений.

Технология персонифицированного отпуска ЛС обеспечивает целый комплекс преимуществ. Он включает учет ЛС, который ведется в режиме реального времени с точностью до 0,5 таблетки, и получение достоверной статистики потребления ЛС при конкретной патологии в условиях конкретного лечебно-профилактического учреждения. Появляется возможность ведения раздельного учета ЛС, поступающих за счет различных источников (бюджет, ОМС, ДМС, предпринимательская деятельность и др.). [13]

Монополизация искусственным интеллектом (научно корректное название – «глубокие нейронные сети») всех сфер человеческой жизни – уже давно не футурологические идеи, а экономические расчеты. Робот с точки зрения работодателя выгоднее человека: он все делает быстрее и дешевле. Тем более, что современный искусственный интеллект еще и умеет обучаться.

По мнению экспертов, под угрозой вымирания сегодня находится почти любая профессия, которая связана с повторяемым алгоритмом действий. Некоторые должности исчезнут вовсе, другие же будут вынуждены модернизироваться, чтобы соответствовать новым реалиям технологичного мира. Однозначно профессиями, которые в скором времени уйдут в небытие, признаны: водители, рабочие конвейеров, охранники, продавцы и кассиры, бухгалтерские, банковские специальности, консультанты, переводчики, программисты, солдаты, строители, турагенты, космонавты, врачи, учителя, фармацевты, журналисты и другие. [14] Эксперты сервиса HeadHunter также считают, что возникнет кадровый дефицит фармацевтов, врачей, медсестер и страховых консультантов. [15]

В системах нейронных сетей наблюдается одна интересная особенность. Дело в том, что нейронные сети способны на основе искаженных входных данных на выходе воспроизводить идеальную сущность того, что было предоставлено на входе в

искаженном виде. Эта удивительная способность искусственных нейронных сетей очень любопытна с точки зрения философии, ведь, как известно, стремление к совершенству – это одна из потребностей, а также особенность, присущая человеку. [16]

Принято считать, что цифровизация позволяет за счет повышения эффективности труда смягчить последствия негативных демографических тенденций и нехватки кадров. [17] Частично с этим можно согласиться.

Однако есть мнение, что роботизация и внедрение искусственного интеллекта приведут не столько к повышению эффективности работы человека, сколько к его постепенному вытеснению из оцифрованных процессов. [18] Цифровые технологии создают меньше рабочих мест, чем исчезает в результате их внедрения. На начало 2017 г. в России было создано 5,9% рабочих мест, а ликвидировано 6,0%, что говорит о наличии тенденций сжатия. [19]

Заключение.

Автоматизация аптеки имеет как положительное, так и отрицательное влияние на работу фармацевта. С фармацевтического работника частично снимается ответственность, уменьшается число ошибок за счет исключения человеческого фактора, повышается эффективность и качество лекарственного обслуживания населения, т.к. у фармацевта появляется больше времени для консультирования.

Однако если станет возможно полностью автоматизировать отпуск лекарств и работодателям будет выгоднее содержать машины, чем штат сотрудников, профессия фармацевта существенно трансформируется или может исчезнуть вовсе. Взаимоотношения пациент (клиент, покупатель) – провизор под давлением технического прогресса, в результате частичной или полной автоматизации работы аптеки изменяются.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

- 55.01.85 Автоматизация и автоматизированные системы
- 55.01.11 Современное состояние и перспективы развития

ЛИТЕРАТУРА

1. Дмитрий З. Роботизация – новая аптечная реальность. // Журнал «Фармацевтическое обозрение». 2013. N 07-08 (137)

2. Комкина Т.А. Особенности и перспективы развития медицинской робототехники // Концепции. 2015. N 1(33). С. 26-33.

3. Emmet C. Pharma Automation & Covid-19: Robots for Demanding Times// 2020. [Internet]. URL: https://www.automate.org/industry-insights/pharma-automation-and-covid-19-robots-for-demanding-times

4. Варшавский А. Е., Дубинина В. В. Мировые тенденции и направления развития промышленных роботов // МИР (Модернизация. Инновации. Развитие). 2020. Т. 11 N 3. https://doi.org/10.18184/2079-4665.2020.11.3.294-319

5. В петербургской аптеке лекарства выдает робот-фармацевт // Комсомольская правда. 2015. [Электронный ресурс]. URL: https://www.spb.kp.ru/daily/26334/3217589/ (Дата обращения: 06.03.2022)

6. Почему роботы в аптеках не оправдали ожиданий сети «Ригла» // Zdrav.Expert. 2013. [Электронный ресурс] URL: https://zdrav.expert/a/345977 (Дата обращения: 06.03.2022)

7. Григорьева И., Максимов И. Правовые аспекты внедрения автоматизации и роботизации в деятельность аптечных организаций // Вести научных достижений. 2018. N 2. С. 9-12.

8. Elizabeth A.F., Barker K.N., Carnahan B.J. National Observational Study of Prescription Dispensing Accuracy and Safety in 50 Pharmacies // Journal of the American Pharmaceutical Association (1996). 2003. Vol. 43(2). P. 191-200. https://doi.org/10.1331/108658003321480731

9. Grissinger M. Key Vulnerabilities in the Surgical Environment: Container Mix-Ups And Syringe Swaps // P T. 2018. Vol. 43(3). P. 129-130.

10. Boyd A.M., Chaffee B. Critical Evaluation of Pharmacy Automation and Robotic Systems: A Call to Action // Hosp Pharm. 2019. Vol. 54 (1). P. 4-11. DOI: 10.1177/0018578718786942

11. Bannow T. Investigation into patient's death.St. Charles dropped med check system before patient's death. Despite mistakes, DA not filing criminal charges // The Bend Bulletin. Dec 24, 2016. [Internet]. URL: https://www.bendbulletin.com/lifestyle/health/st-charles-dropped-med-check-system-before-patients-death/article_66f85a6f-0aac-53a5-9d1e-ea2610668c52.html/ (Accessed 06.03.2022)

12. The impact of automation on workload and dispensing errors in a hospital pharmacy / K.L. James [et al.] // International Journal of Pharmacy Practice. 2013. Vol. 21(2). P. 92-104.https://doi.org/10.1111/j.2042-7174.2012.00238.x

13. Умаров С.З., Лебедев Ю.Ф. Современные технологии отпуска ЛС пациентам ЛПУ // Ремедиум. 2010. N 8. С. 15-18.

14. Кирова Л.М., Макаревич М.Л. Правовые аспекты использования нейронных сетей // Инновационная экономика: перспективы развития и совершенствования. 2018. N 1 (27). С. 58-63.

15. Алиев М.Д. Влияние цифровой экономики на мировой рынок труда // Международная экономика. 2018. N 3. С. 39-43.

16. Шувалов Н.В., Хрусталев А.О., Замуруев И.Н. Нейронные сети // Аллея науки. 2017. N 5. С. 159-165.

17. Ловчикова Е.И., Солодовник А.И. Рынок труда и информационно-цифровая экономика: динамика, тенденции и перспективы // Менеджмент в России и за рубежом. 2018. N 5. С. 19-27.

18. Баланова С. Иллюзорный мир: пять главных мифов цифровой экономики // Forbes. 2017. [Электронный ресурс]. URL: http://www.forbes.ru/kompanii/350323-illyuzornyy-mir-pyat-glavnyh-mifov-cifrovoy-ekonomiki. (Дата обращения 19.09.2017).

19. Дигилина О.Б., Тесленко И.Б. Трансформация рынка труда в условиях цифровизации // Вестник РГГУ. Серия «Экономика. Управление. Право». 2019. N 4. С. 166-178.

SUMMARY

PHARMACY ROBOTIZATION – PROSPECTS AND RISKS FOR A PHARMACEUTICAL WORKER

Demina E.V., 3rd year student (ORCID: ID: 0000-0003-3172-7272),
Shaekhova G.R., 3rd year student (ORCID: ID: 0000-0001-6283-931X)
Research supervisor: **Maimistov D.N.**, senior lecturer of the Department of Social and Humanitarian Disciplines (ORCID: ID: 0000-0001-8070-1699)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: ekaterina.demina@spcpu.ru

A comparative assessment of the risks and benefits of the introduction of robots into the pharmacy has been carried out. It is shown how modern technologies unfold around pharmaceutical workers and what impact automation has on the pharmacist. The achievements of different countries in automating the provision of medicines to the population are considered.

Keywords: *robotization, pharmacy, errors, pharmacist, automation, technical progress.*

REFERENCES

1. Dmitry Z. Robotization is a new pharmacy reality // Pharmaceutical Review Magazine. 2013. N. 07-08 (137). (in Russian)

2. Komkina T.A. Features and prospects of medical robotics development // Concepts. 2015. N 1(33) P. 26-33. (in Russian)

3. Emmet C. Pharma Automation & Covid-19: Robots for Demanding Times// 2020. [Internet]. URL: https://www.automate.org/industry-insights/pharma-automation-and-covid-19-robots-for-demanding-times

4. Varshavsky A.E., Dubinina V.V. World trends and directions of development of industrial robots // MIR (Modernization. Innovation. Development). 2020. Vol. 11(3). (in Russian)

5. A robotic pharmacist dispenses medicines at a pharmacy in St. Petersburg // Komsomolskaya Pravda edition [Internet]. URL: https://www.spb.kp.ru/daily/26334/3217589 / (Accessed 06.03.2022). (in Russian)

6. Why robots in pharmacies did not live up to the expectations of the Rigla network // 2013. Zdrav.Expert. [Internet] URL: https://zdrav.expert/a/345977 (Accessed: 06.03.2022). (in Russian)

7. Grigorieva I., Maksimov I. Legal aspects of the introduction of automation and robotization in the activities of pharmacy organizations // News of scientific achievements. 2018. N 2. P. 9-12. (in Russian)

8. Elizabeth A.F., Barker K.N., Carnahan B.J. National Observational Study of Prescription Dispensing Accuracy and Safety in 50 Pharmacies // Journal of the American Pharmaceutical Association (1996). 2003. Vol. 43(2). P. 191-200. https://doi.org/10.1331/108658003321480731

9. Grissinger M. Key Vulnerabilities in the Surgical Environment: Container Mix-Ups And Syringe Swaps // P T. 2018. Vol. 43(3). P. 129-130.

10. Boyd A.M., Chaffee B. Critical Evaluation of Pharmacy Automation and Robotic Systems: A Call to Action // Hosp Pharm. 2019. Vol. 54 (1). P. 4-11. DOI: 10.1177/0018578718786942

11. Bannow T. Investigation into patient's death.St. Charles dropped med check system before patient's death. Despite mistakes, DA not filing criminal charges // The Bend Bulletin. Dec 24, 2016. [Internet]. URL: https://www.bendbulletin.com/lifestyle/health/st-charles-dropped-med-check-system-before-patients-death/article_66f85a6f-0aac-53a5-9d1e-ea2610668c52.html/ (Accessed 06.03.2022)

12. The impact of automation on workload and dispensing errors in a hospital pharmacy / K.L. James [et al.] // International Journal of Pharmacy Practice. 2013. Vol. 21(2). P. 92-104. https://doi.org/10.1111/j.2042-7174.2012.00238.x

13. Umarov S.Z., Lebedev Yu.F. Modern technologies of drug release to patients of medical institutions // Remedium. 2010. N 8. P. 15-18. (in Russian)

14. Kirova L.M., Makarevich M.L. Legal aspects of the use of neural networks // Innovative economy: prospects for development and improvement. 2018. N 1(27). (in Russian)

15. Aliyev M.D. The impact of the digital economy on the world labor market // International Economics. 2018. N 3. P. 39-43. (in Russian)

16. Shuvalov N.V., Khrustalev A.O., Zamuruev I.N., Neural networks // Alley of Science. 2017. N 5. P. 159-165. (in Russian)

17. Lovchikova E.I., Solodovnik A.I. Labor market and information and digital economy: dynamics, trends and prospects // Management in Russia and abroad. 2018. N 5. P. 19-27.

18. Balanova S. «The fourth myth: digitalization will mitigate the effect of the shortage of skilled labor.» Illusory world: the five main myths of the digital economy) // Forbes. 2017. [Internet]. URL: http://www.forbes.ru/kompanii/350323-illyuzornyy-mir-pyat-glavnyh-mifov-cifrovoy-ekonomiki (Accessed 19.09.2017). (in Russian).

19. Digilina O.B., Teslenko I.B. Transformation of the labor market in the conditions of digitalization // Bulletin of the Russian State University. The series «Economics. Management. Right.» 2019. N 4-2. P. 166-178. (in Russian).

УДК 615.1

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ COVID-19

Дзидзоева М.И., студ. 4-го обучения
Научный руководитель: **Морозов В.А.,** доцент, кандидат фармацевтических наук,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Северо-Осетинский государственный университет имени Коста Левановича Хетагурова»,
Россия, 362025, Республика Северная-Осетия Алания, г. Владикавказ, ул. Ватутина, 44-46
E-mail: milana_dzidzoeva@mail.ru

В результате проведенного анализа были получены данные об ассортименте лекарственных препаратов, используемых для лечения и профилактики COVID-19, изучена заболеваемость коронавирусной инфекции в РСО-Алании. Определено количество фармакологических групп препаратов, используемых для лечения и профилактики COVID-19, дан их структурный анализ.

Ключевые слова: *COVID-19, АТХ-классификация, отечественные и зарубежные препараты, контент-анализ, фармакологическая группа.*

Актуальность темы исследования обусловлена тем, что вспышка тяжелого инфекционного заболевания Coronavirus Disease – 2019, вызванного действием вируса Severe acute respiratory syndrome –related coronavirus 2, начавшаяся в 2019 году и продолжающаяся по настоящее время, оказала влияние на работу систем здравоохранения всех стран мирового сообщества. Всемирная Организация Здравоохранения официально объявила эпидемию COVID-19 чрезвычайной ситуацией затрагивающей все страны планеты. В короткие сроки была реорганизована работа в сфере обращения лекарственных препаратов, затронув как работу медицинского, фармакологического и научного сообществ, так и работу фармацевтических предприятий и производств [1]. Произошло резкое изменение динами и структуры потребления лекарственных препаратов различных фармакологических групп, вызвавшее необходимость пересмотра существующих схем лечения и профилактики ОРВИ, пневмоний и специфического лечения данного COVID-19. Имеющийся на фармацевтическом рынке ассортимент лекарственных препаратов нуждается в анализе и оценке с точки зрения возможности применения в период пандемии, для дальнейшего планирования тактики лекарственного обеспечения и расчета потребностей [2].

Целью данного исследования является структурный анализ ассортимента лекарственных препаратов, используемых для лечения и профилактики COVID-19, представленных на фармацевтическом рынке Российской Федерации.

Задачей исследования явилось проведение контент-анализа источников данных о зарегистрированных лекарственных препаратах, рекомендованных и применяемых для лечения и профилактики COVID-19.

Материалы и методы. В качестве методов исследования были использованы контент-анализ источников данных о зарегистрированных в Российской Федерации лекарственных препаратах, а также структурный и логический методы. Исходные данные были получены в ходе контент-анализа источников о зарегистрированных лекарственных препаратах для лечения и профилактики COVID-19: Государственного реестра лекарственных средств Российской Федерации и действующей версии Временных методических рекомендаций Министерства Здравоохранения РФ «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19).

Результаты и обсуждение. В результате контент-анализа источников данных о зарегистрированных и применяемых лекарственных препаратах при COVID-19, было определено, что общее количество фармакотерапевтических групп составило 35. Всего под международным непатентованным наименованием (МНН) – представлено 34 препарата, с учетом торговых наименований (ТН) – 87.

Далее был проведен анализ по фармакологическому признаку. Результаты представлены на рисунке 1.

Рисунок 1. Структурный анализ по фармакологическому признаку

Как следует из диаграммы наибольшее число препаратов представлено антикоагулянтными средствами прямого действия (АТХ-B01AB05) – 10,34 % (18), противовирусные средства (АТХ -J05AX27) составили – 8,04 % (14), на третьем месте находятся группы – глюкокортикостероид (15 группа) (АТХ – H02AB04) – 6,9%(10) и глюкокортикостероид (16 группа) (АТХ- D07AC14) – 6,9%(10).

На следующем этапе был проведен анализ по производственному признаку. Результаты представлены на рисунке 2.

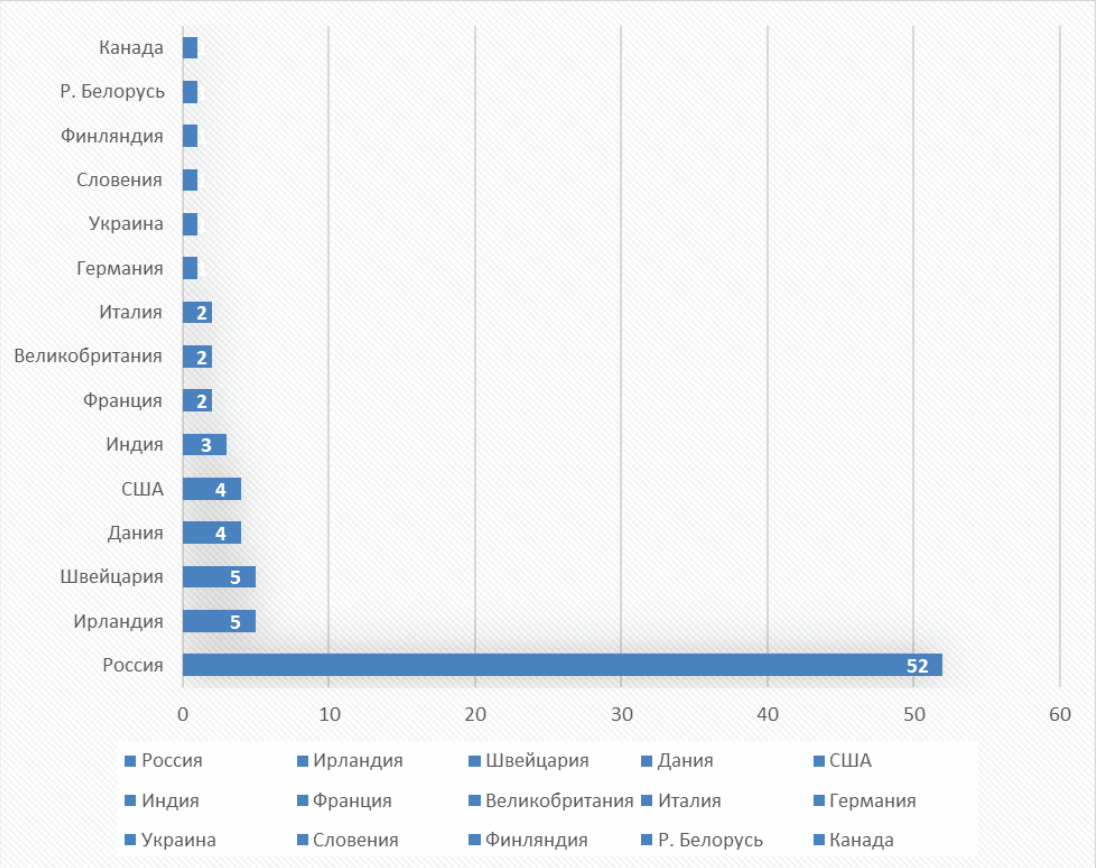


Рисунок 2. Структурный анализ по производственному признаку

Как можно заметить из диаграммы, специфические препараты для лечения COVID-19 на фармацевтическом рынке Российской Федерации представлены производителями 14 стран. Большинство представленных препаратов – 52 наименований (59,77%) отечественного производства. По 5,75% – Ирландия (5 наименований) и Швейцария (5 наименований), по 5 % – Дания (4 наименований) и США (4 наименований), в Индии выпускается 3 препарата (3,45%), во Франции, Великобритании, Германии и Италии, выпускается по 2 вида препаратов(2,30%), в остальных странах – Украина, Словения, Финляндия, Канада, Беларусь производится выпуск 1 препарата(1,15%).

Далее были изучены формы выпуска, в которых представлены препараты. Результаты были систематизированы в диаграмму, представленную на рисунке 3.

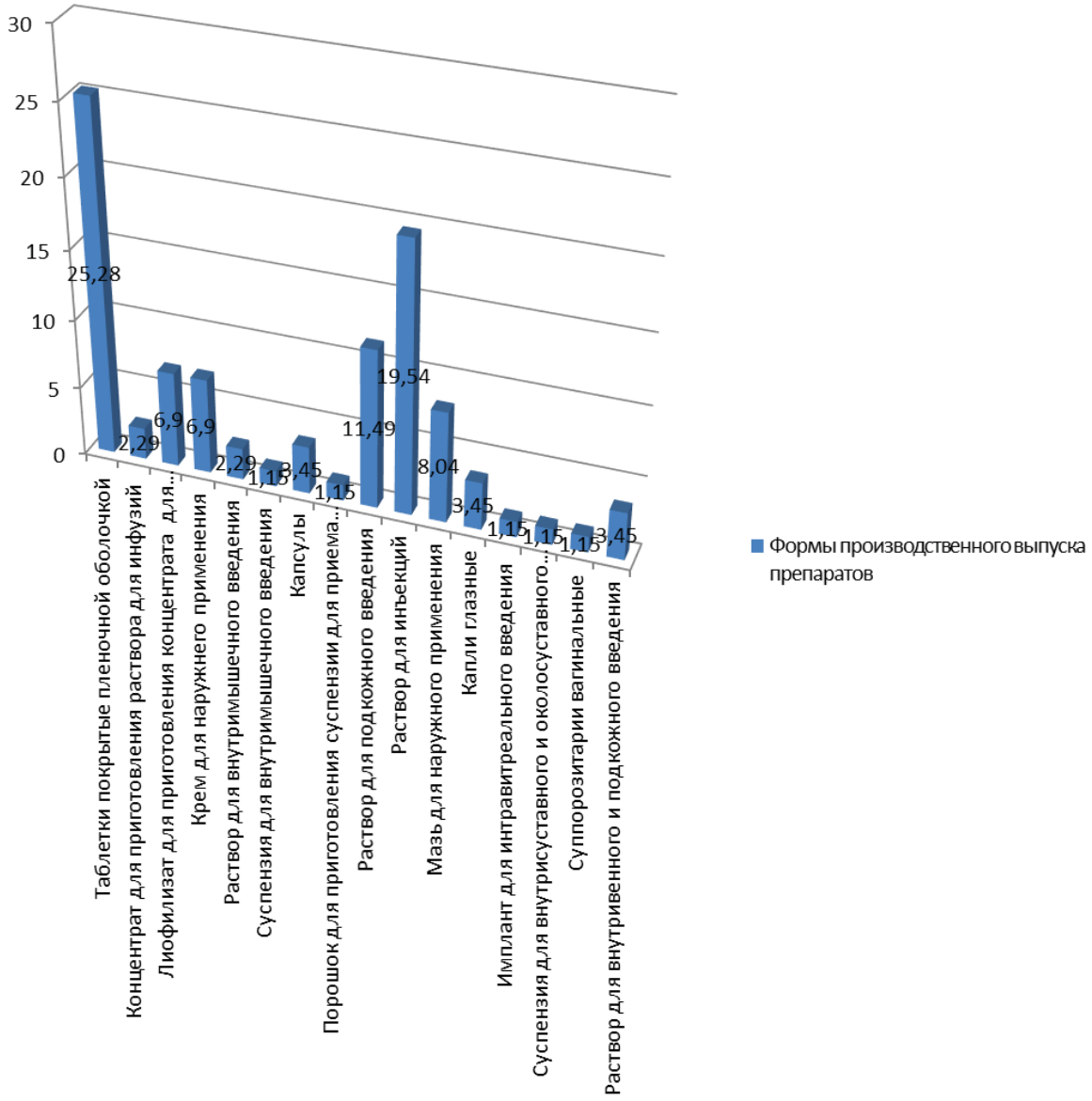


Рисунок 3. Структурный анализ по производственному признаку

Исходя из вышеуказанной диаграммы можно сделать вывод о том, что наиболее развитая форма выпуска препарата – таблетки, покрытые пленочной оболочкой из 87 препаратов – 22 выпускаются в форме таблеток и составляют 25,28%, второе место по форме выпуска принадлежит раствору для инъекций – 17 форм выпуска, составляет 19,54%, менее развитой формой выпуска препаратов является раствор для подкожного введения – всего 10 препаратов выпускаются рассматриваемой формой выпуска и составляют 11,49%, далее по форме выпуска идет мазь для наружного применения – 7 препаратов и составляет 8,04%, остальные формы выпуска препаратов менее развиты, тем не менее представлены на диаграмме (концентрат для приготовления раствора для инфузий 2,29%; лиофилизат для приготовления концентрата для приготовления раствора для инфузий 6,9%; крем для наружного применения 6.9%; раствор для внутримышечного введения 2,29%; суспензия для внутримышечного введения 1,15%; капсулы 3,45%; порошок для приготовления суспензии для приема внутрь 1,15%; эмульсия для наружного применения 1,15%; капли глазные 3,45%; имплант для интравитреального введения 1,15%; суспензия для внутрисуставного и околосуставного введения 1,15%; суппозитории вагинальные 1,15%; раствор для внутривенного и подкожного введения 3,45%.

Заключение. Определена структура ассортимента лекарственных препаратов для лечения и профилактики COVID-19, выявлены номенклатурные позиции, занимающие лидирующее место в структуре потребления, определены их производители. По результатам исследования подготовлено инструктивно-аналитическое письмо, для представления в медицинские и фармацевтические организации Республики Северная Осетия-Алания.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Честнова Т.В., Подшибякина А.С. Препараты, применяемые при лечении COVID-19: Механизм воздействия и эффективность (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. 2021. N 1.
2. Аширметов А.Х. Covid-19: Известные препараты, новые возможности /А.Х. Аширметов [и др.] // Анализ риска здоровью. 2020. N 4 С. 170-180.

SUMMARY

ANALYSIS OF THE RANGE OF MEDICINES USED FOR THE TREATMENT AND PREVENTION OF COVID-19

Dzidzoeva M.I., 4th year student

Scientific supervisor: **Morozov V.A**. Associate Professor, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kosta Levanovich Khetagurov North Ossetian State University»

Russia, 362025, Republic of North Ossetia Alania, Vladikavkaz, Vatutina str., 44-46

E-mail:milana_dzidzoeva@mail.ru

As a result of the analysis, data on the state of the range of medicines used for the treatment and prevention of COVID-19 were obtained, the incidence of coronavirus infection in the RSO-Alania was studied. The number of pharmacological groups of drugs used for the treatment and prevention of COVID-19 is determined, their structural analysis is given.

Keywords: *COVID-19, ATC classification, domestic and foreign drugs, content analysis, pharmacological group.*

REFERENCES

1. Chestnova T.V., Podshibyakina A.S. Drugs used in the treatment of COVID-19: Mechanism of action and effectiveness (literature review) // Bulletin of New Medical Technologies. 2021. N 1. (in Russian).
2. Ashirmetov A.H. Covid-19: Known drugs, new opportunities / A.H. Ashirmetov [et al.] // Health risk analysis. 2020. N 4. P. 170-180. (in Russian).

УДК 004.9

ПРЕИМУЩЕСТВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНФОРМАЦИОННЫХ СИСТЕМ КЛАССА LIMS НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЯХ

Егоров Е.Е., магистрант 2 года обучения

Научный руководитель: **Коваленко А.В.**, канд. экон. наук, доцент

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация

E-mail: egorov.egor@pharminnotech.com

В результате исследования были выявлены основные предпосылки и преимущества использования систем класса LIMS на фармацевтических предприятиях, проведено экспертное интервью с сотрудником отдела контроля качества ООО «Гематек», получены данные об использующихся в отделе информационных системах и сделано предложение по усовершенствованию рабочих процессов посредством интеграции LIMS.

Ключевые слова: *лабораторное программное обеспечение, автоматизация лабораторий, LIMS, ERP, система управления качеством, фармацевтическое предприятие.*

Целью данного исследования является анализ возможностей информационных систем класса Laboratory Information Management System (LIMS) в рамках отдела контроля качества фармацевтического предприятия в РФ.

Стандартное руководство по лабораторным информационным менеджмент-системам (ЛИМС) даёт следующее определение: термин «лабораторные информационные менеджмент-системы, ЛИМС» (laboratory information management systems, LIMS) описывает класс компьютерных систем, предназначенных для управления лабораторной информацией; компьютерное программное обеспечение, которое используется в лаборатории для управления образцами, результатами испытаний, пользователями, приборами, стандартными образцами и такими лабораторными функциями, как оформление счетов, управление образцами, помещенными в планшеты (контейнеры, пробирки) для проведения анализа, изучение стабильности образцов с использованием ЛИМС, автоматизация рабочего потока [1].

Актуальность исследования возможностей и преимуществ использования LIMS состоит в необходимости автоматизации многих рутинных рабочих процессов сотрудников службы качества фармацевтических компаний.

Задачами исследования являлись:

1. Оценка существующего на данный момент статуса систем класса LIMS на российском фармацевтическом рынке.
2. Проведение экспертного интервью с инженером-химиком отдела контроля качества ООО «Гематек» (г. Тверь).

3. Изучение возможностей, предоставляемых LIMS для лабораторий фармацевтических предприятий.

Материалы и методы. Исходные данные были получены при анализе открытой базы данных аналитического агентства TAdviser, специализирующегося на темах корпоративной информатизации, телекоммуникаций, информационных технологий и программного обеспечения [2].

Также были проанализированы сведения, полученные в ходе опроса специалиста в области контроля качества, сотрудника фармацевтического предприятия ООО «Гематек».

В качестве методов исследования были использованы опрос в виде экспертного интервью, а также сравнительный, структурный и графический анализы.

Результаты и обсуждение. По результатам проведённых исследований можно сделать вывод о том, что рынок LIMS в Российской Федерации в данный момент времени находится на начальном этапе своего развития, что подтверждает количество реализованных с 2005-го года проектов по внедрению подобных систем [3]. На рисунке снизу видно, что соотношение между использованием систем класса Enterprise Resource Planning (ERP) и LIMS в лабораториях идёт существенно в пользу ERP-систем, несмотря на то, что они неспособны решать специфические задачи, которые стоят перед сотрудниками лабораторий и исследовательских центров фармацевтических предприятий [4].

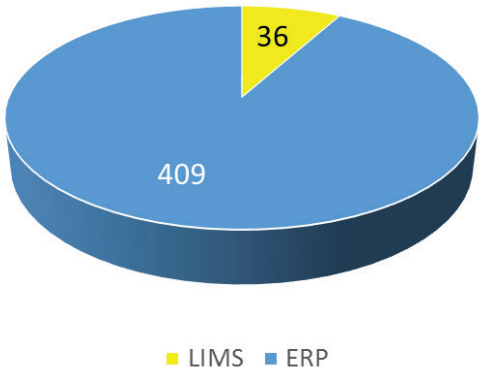


Рисунок. Соотношение количества реализованных проектов систем ERP и LIMS среди организаций фармацевтической отрасли

Данная статистика подтверждается также и опрошенным специалистом, сотрудником отдела контроля качества ООО «Гематек». В аналитической лаборатории предприятия основной используемой информационной системой является «SAP ERP», позволяющая сотрудникам напрямую вести работу с заказами и поставщиками, оперативно управлять запасами лаборатории и пополнять их, вести учёт привозимых и списанных реактивов, аналитического и прочего лабораторного оборудования, значительно ускоряет взаимодействие службы качества с бухгалтерией и предоставление инвентаризационных отчётов.

В том числе на сотрудников службы качества возлагается ответственность за высылку поставщикам счетов, счёт-фактур, универсальных передаточных документов (накладных), что упрощается использованием системы внешнего электронного документооборота «Диадок», а для согласования договоров с поставщиками заместителем директора по качеству, главным бухгалтером и юристом на персональных компьютерах в лаборатории стоит система внутреннего документооборота «1С:Документооборот».

Из полученной информации был сделан вывод, что на исследуемом фармацевтическом предприятии, как и на многих других в Российской Федерации, учитывая весьма скромные показатели реализованных проектов в сфере LIMS, автоматизация работ касается в основном вопросов, не связанных напрямую с основной деятельностью аналитических и микробиологических лабораторий, то есть сбором, обработкой, накоплением, хранением и отображением информации, полученной в результате проведения различных лабораторных анализов и испытаний.

На наш взгляд, решением данной проблемы является автоматизация рутинной работы сотрудников лабораторий отдела контроля качества в условиях потокового производства с помощью внедрения LIMS, так как подобные системы изначально предназначены для увеличения производительности лабораторий предприятий, повышения точности результатов измерений и оперативности управления производством.

Фармацевтические лаборатории – это высокопроизводительные рабочие структуры, которые могут включать множество единиц оборудования, сотни проб и наборов данных. Одна фармацевтическая компания может содержать множество лабораторий, работающих в разное время, каждая со своими собственными уникальными рабочими процессами и занимающихся всем, от исследований и разработок до производственной аналитики. Кроме того, фармацевтические компании ввиду серьёзной конкуренции вынуждены производить лекарства более эффективно и в более короткие сроки.

LIMS может помочь повысить эффективность и производительность за счет стандартизированных и автоматизированных рабочих процессов, централизованного управления данными и приборами. На конкурентном рынке поиска новых лекарств лаборатории могут быть уверены в безопасности любой интеллектуальной собственности, хранящейся в их LIMS. С помощью этих систем они могут консолидировать свои отчеты и гарантировать, что их протоколы и рабочие процессы соответствуют требованиям регулирующих органов. Поскольку поставщики LIMS стремятся быть в курсе технологических разработок, лаборатории могут относительно безболезненно внедрять улучшения в технологии LIMS.

Наконец, легко настраиваемый характер LIMS делает их привлекательным вариантом для фармацевтических компаний, которые ищут единое решение, которое с некоторой доработкой может использоваться во всех их лабораториях.

Основные функции LIMS [5]:

1. Менеджмент проб, оборудования и данных. Когда пробы поступают в лабораторию, они вносятся и регистрируются в системе, включая любые возможные данные, связанные с пробой, а также время и дату, когда проба была доставлена. LIMS также может присваивать пробе уникальный идентификатор, например, штрих-код, который прикрепляется к образцу и используется для его отслеживания в лаборатории. LIMS также можно использовать для инвентаризации реагентов и других лабораторных ресурсов и материалов, включая такие сведения, как сроки годности, требования к хранению проб и реагентов, а также количество расходных материалов.

2. Интеграция с оборудованием и управление рабочим процессом. LIMS может подключаться к лабораторным приборам и приложениям, что упрощает передачу информации об исследуемом образце и запуск экспериментов непосредственно из программного обеспечения. Эти решения также могут автоматически назначать задачи, связанные с пробой, сообщать аналитикам, куда пробы должны поступать, и предлагать инструменты, подходящие для данного эксперимента. Во время экспериментов LIMS может отслеживать работу оборудования и отмечать ошибки при их возникновении. Также LIMS может импортировать результаты экспериментов в аналитическое программное обеспечение для анализа и интерпретации сотрудниками.

3. Контроль качества. LIMS обеспечивают централизованный доступ к данным контроля качества. Для фармацевтических аналитических лабораторий, которые должны соответствовать определенным нормативным требованиям, LIMS может предоставить контрольные журналы для образцов и данных, а также информацию о контроле и обеспечении качества.

Другие функции, включенные в решения LIMS, представленные сегодня на рынке, включают цепочку поставок, настраиваемые функции отчётности, назначение ролей для использования и администрирования, управление задачами, электронные подписи, управление поставками, техническое обслуживание приборов, выставление счетов и многое другое.

Преимущества использования LIMS:

1. Простое администрирование. Эти системы сокращают или устраняют бумажную работу сотрудников, оптимизируют лабораторные процессы от начала до конца, повышая производительность и сокращая время до получения результатов.

2. Экономия денег. Делая лабораторные и рабочие процессы более эффективными и автоматизированными, эти системы могут привести к значительной экономии времени и средств по всем направлениям. Они также позволяют сотрудникам лаборатории сосредоточиться на задачах, повышающих ценность конечной готовой продукции, вместо того, чтобы тратить время на поиск образцов с неправильной маркировкой или отслеживание происхождения образца или эксперимента. В долгосрочной перспективе подобное решение может привести к экономии значительного количества ценного времени.

3. Единая стандартизированная система. Сотрудникам не нужно тратить время на поиск или отслеживание информации, содержащейся в нескольких системах или сводных таблицах Excel, потому что у них есть доступ ко всему из одной системы. Кроме того, как отмечалось выше, для лабораторий фармацевтических фирм, работающих в жёстко регулируемых средах, LIMS может помочь гарантировать, что их внутренние рабочие процессы соответствуют необходимым рекомендациям по контролю и обеспечению качества.

4. Интеграция с существующими системами. В настоящее время стандартной практикой для решений LIMS за рубежом является беспрепятственная интеграция со сторонней инфраструктурой, уже используемой в лаборатории, то есть подключение системы к спектрофотометрам, хроматографам и прочему аналитическому оборудованию.

5. Устранение необходимости в дорогостоящем оборудовании и крупной команде технической поддержки. Данное преимущество является характерным для облачных решений LIMS, поскольку поддержка системы и предоставление своевременных обновлений осуществляется поставщиком.

Заключение. На основании проведённого исследования можно утверждать, что внедрение LIMS в работу аналитических и микробиологических лабораторий и научно-технологических центров может быть весьма ценным дополнением к существующим ныне на многих фармацевтических предприятиях ERP-системам. LIMS не только повышают эффективность работы, но и снижают риск человеческой ошибки и обеспечивают целостность данных на протяжении всего лабораторного процесса, а также помогают вести деятельность сотрудников служб качества в строгом соответствии с требованиями нормативной документации.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. химическая промышленность

61.01.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р 53798-2010 Стандартное руководство по лабораторным информационным менеджмент-системам (ЛИМС).

2. TAdviser. [Электронный ресурс]. URL: https://www.tadviser.ru/ (Дата обращения 05.03.2022).

3. Отраслевое распределение по количеству проектов внедрений лабораторных информационных систем // TAdviser. [Электронный ресурс]. URL: https://www.tadviser.ru/Лабораторные_информационные_системы (Дата обращения 05.03.2022).

4. Отраслевое распределение по количеству проектов внедрений ERP // TAdviser. [Электронный ресурс]. URL: https://www.tadviser.ru/index.php/ERP?cache=no&ptype=otr (Дата обращения 05.03.2022).

5. Lims vs eln – what's right for your lab? // CDD VAULT. [Internet]. URL: https://www.collaborativedrug.com/lims-vs-eln/ (Accessed: 05.03.2022).

SUMMARY

ADVANTAGES OF USING LIMS CLASS INFORMATION SYSTEMS IN PHARMACEUTICAL ENTERPRISES

Yegorov Y.Y., 2nd year undergraduate
Academic advisor: **Kovalenko A.V.**, PhD in Economics, docent
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: egorov.egor@pharminnotech.com

As a result of the study, the main prerequisites and advantages of using LIMS class systems in pharmaceutical enterprises were identified, an expert interview was conducted with an employee of the quality department of Gematek, data were obtained on the information systems used in the quality department and a proposal was made to improve workflows through LIMS integration.

Keywords: *laboratory software, laboratory automation, LIMS, ERP, quality management system, pharmaceutical enterprise.*

REFERENCES

1. GOST R 53798-2010 Standard guide for laboratory information management systems (LIMS).

2. TAdviser. [Internet]. URL: https://www.tadviser.ru/ (Accessed: 05.03.2022). (in Russian).

3. Industry distribution by the number of projects for the implementation of laboratory information systems, // TAdviser. [Internet]. URL: https://www.tadviser.ru/Лабораторные_информационные_системы (Accessed: 05.03.2022). (in Russian).

4. Industry distribution by the number of projects for the implementation of ERP // TAdviser. [Internet]. URL: https://www.tadviser.ru/index.php/ERP?cache=no&ptype=otr (Accessed: 05.03.2022). (in Russian).

5. Lims vs eln – what's right for your lab? // CDD VAULT. [Internet]. URL: https://www.collaborativedrug.com/lims-vs-eln/ (Accessed: 05.03.2022).

УДК 615.2

СОВРЕМЕННЫЕ САХАРОСНИЖАЮЩИЕ ПРЕПАРАТЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ПРАКТИКЕ ПРИ ТЕРАПИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА II ТИПА

Егорова К.Ю., магистрант 1 года обучения
Научный руководитель: **Коваленко А.В.**, канд. экон. наук, доцент кафедры ЭиУ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: egorova.kristina@pharminnotech.com

Цель данного исследования – изучение современных сахароснижающих препаратов, применяемых для терапии больных сахарным диабетом II типа. В ходе работы был произведен анализ фармакологических групп пероральных противодиабетических лекарственных средств, изучен механизм их действия, исследован отечественный рынок сахароснижающих препаратов, а также выявлены имеющиеся проблемы производства данных лекарственных средств в РФ.

Ключевые слова: *сахароснижающие препараты, терапия, сахарный диабет, производство лекарственных средств, отечественный рынок лекарственных препаратов.*

Для изучения современных сахароснижающих препаратов поставлены следующие задачи: произвести анализ фармакологических групп сахароснижающих препаратов, рассмотреть механизм их действия, выявить преимущества и недостатки каждой фармакологической группы; исследовать отечественный рынок пероральных противодиабетических лекарственных средств; определить имеющиеся проблемы производства данных лекарственных средств в РФ.

Мониторинг лечения больных сахарным диабетом позволяет оценить ситуацию в отношении используемых лекарственных препаратов для терапии данного хронического заболевания. На сегодняшний день эпидемиологическая ситуация как во всем мире, так и в частности в России носит неблагоприятный характер, однако внедрение новых технологий лечения и современных методов производства лекарственных препаратов снижает смертность больных сахарным диабетом и, соответственно, увеличивает продолжительность их жизни. Таким образом, основная задача для пациентов и врачей – отсрочить развитие осложнений и максимально продлить жизнь с помощью лекарственной терапии. Вопрос подбора верного лечения, способного снизить уровень глюкозы и предотвратить осложнения, до сих пор остается открытым.

Что касается сахарного диабета II типа, то для его лечения чаще всего применяют пероральные сахароснижающие препараты. Перечень данных лекарственных средств достаточно внушителен. Выделяют шесть фармакологических групп, они различаются механизмом действия и имеют свои преимущества и недостатки. Итак, современные сахароснижающие препараты включат в себя: бигуаниды, производные сульфонилмочевины, ингибиторы альфа-глюкозидазы, тиазолидиндионы, ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4), ингибиторы SGLT2 (натрий-глюкозного котранспортера 2 типа). Рассмотрим механизмы действия препаратов каждой фармакологической группы.

Бигуаниды не изменяют секрецию инсулина, они увеличивают периферическую утилизацию глюкозы тканями. Также препараты этой группы снижают глюконеогенез и уменьшают продукцию глюкозы печенью. Самым известным препаратом этой фармакологической группы является Метформин. Обычно при терапии данный препарат назначают самым первым, если нет противопоказаний. К преимуществам бигуанидов можно отнести: малый риск гипогликемии, отсутствие влияния на вес, доступная цена, положительный эффект на липидный профиль и снижение риска диабета при низкой толерантности к глюкозе. Несмотря на значимые преимущества, данная группа препаратов имеет и недостатки. Например, длительный прием Метформина может привести к В12-дефицитной анемии, также среди побочных действий следует отметить диарею.

Производные сульфонилмочевины заставляют организм вырабатывать инсулин. Они связываются с рецепторами, расположенными на мембранах бета-клеток поджелудочной железы. Это вызывает последовательность событий внутри клеток, результатом которой становится увеличение количества инсулина, вырабатываемого бета-клетками. Как правило, к препаратам данной группы обращаются при отсутствии или недостаточном ответе на лечение Метформином. Примеры препаратов производных сульфонилмочевины: Хлорпропамид, Толбутамид (старые препараты, которые в данный момент практически не используются); Глибенкламид, Диабетон МВ, Амарил (более современные препараты). К преимуществам производных сульфонилмочевины можно отнести: доступную цену, быстрое начало действия, отсутствие влияния на уровень давления, снижение микрососудистых осложнений. Недостатки: риск гипогликемий, прибавка в массе тела, низкая долгосрочность эффекта.

Ингибиторы альфа-глюкозидазы замедляют усвоение углеводов из пищи и поступление глюкозы в кровь. Они блокируют кишечные ферменты, которые участвуют в расщеплении сахаридов. Препараты данной группы применяют при возникновении сложности с контролем уровня глюкозы в крови. Ингибитор альфа-глюкозидазы, представленный на рынке, – Акарбоза. Несмотря на преимущества в виде: низкой вероятности гипогликемии, уменьшения риска перехода низкой толерантности к глюкозе в сахарный диабет, отсутствия набора веса от препарата. Эту группа препаратов имеет достаточно низкую эффективность, неудобный режим приема, побочные действия со стороны ЖКТ, высокую стоимость.

Тиазолидиндионы повышают чувствительность организма к инсулину. Они связываются с рецепторами, которые обнаруживаются в печени, эндотелии сосудов, жировой и мышечной тканях, что приводит к увеличению синтеза белков, участвующих в обмене глюкозы. К препаратам этой группы обращаются в случаях, когда Метформин или производные сульфонилмочевины плохо переносятся или не позволяют компенсировать диабет. Наиболее широко применяется из этой группы Пиоглизатон. Преимуществами являются: снижение риска проблем с крупными сосудами, низкий риск критического падения уровня сахара, нормализация биохимических показателей крови по жирам, потенциальный защитный эффект к клеткам поджелудочной железы, снижение риска перехода низкой толерантности к глюкозе в сахарный диабет. Однако данные препараты вызывают отек конечностей, прибавку массы тела, снижают минеральную плотность костей и увеличивают риск переломов, больше у женщин. Также тиазолидиндионы имеют медленное начало действия и большую стоимость.

Ингибиторы ДПП-4 блокируют действие фермента ДПП-4, который разрушает группу желудочно-кишечных гормонов – инкретинов. Инкретины помогают стимулировать выработку инсулина, когда это необходимо, а также снизить продуцирование печенью глюкагона, когда он не нужен. Кроме того, они замедляют пищеварение и снижают аппетит. Препараты этой группы используют, если лечение Метформином, производными сульфонилмочевины не дало желаемого результата. Часто они становятся альтернативой тиазолидиндионам. Примеры препаратов ингибиторов ДПП-4: Янувия, Галвус, Онглиза, Тражента. У этих лекарств достаточно высокая цена, однако они не влияют на вес, имеют низкий риск гипогликемии, обладают потенциальным защитным эффектом на В-клетки поджелудочной железы.

Ингибиторы SGLT2 являются самым новым классом сахароснижающих препаратов. Их действие основано на способности «помогать» почкам снижать уровень глюкозы в крови. Препараты этой группы применяются при недостаточном ответе на лечение Метформином и инсулином. Они не рекомендуются больным с нарушением функции почек (нефропатией). Препараты-ингибиторы SGLT2: Форсига, Джардинс, Канаглифлозин. Они имеют высокую сахароснижающую активность, снижают массу тела, однако возможен риск инфекций мочевого тракта, риск гипогликемий. Также данные препараты имеют высокую стоимость.

Определить препараты какой фармакологической группы лучше невозможно. Успешность терапии зависит от правильной схемы комбинирования данных препаратов [1]. Применение двух препаратов разных классов в средних дозах более оправдано: такая терапия создает меньший риск тяжелых побочных эффектов, чем высокие дозы одного препарата.

Далее рассмотрим подробней рынок отечественных сахароснижающих препаратов. Пероральные сахароснижающие препараты, применяемые в РФ, представлены монокомпонентными лекарственными формами, которые содержат одно действующее вещество, и также комбинированными лекарственными формами с несколькими действующими веществами [2]. Большую часть среди производимых монокомпонентных пероральных сахароснижающих препаратов занимают бигуаниды, а именно Метформин. Среди комбинированных лекарственных препаратов чаще всего встречается сочетание Метформина и Глибенкламида. Анализ производителей современных сахароснижающих лекарственных средств показал, что больше половины данных препаратов производят за пределами России. Из зарубежных препаратов

наибольшее количество производится на территории Германии. Среди немецких компаний-производителей сахароснижающих препаратов лидирует фирма «Берлин-Хеми». В ее антидиабетическом портфеле: Сиофор (МНН Метформин), Манинил (МНН Глибенкламид), Глибомет (комбинация МНН Метформина и Глибенкламида), Берлитион (создан на основе альфа-липоевой (тиоктовой) кислоты, усиливает гипогликемическое действие инсулина и гипогликемических препаратов для перорального применения при совместном применении).

Что касается отечественных производителей, то можно выделить компанию «Акрихин». «Акрихин» как ведущий производитель социально значимых лекарственных средств придает большое значение выпуску противодиабетических препаратов. Первый сахароснижающий препарат в портфеле данной компании появился в 1996 году. На сегодняшний день компания вывела на рынок семь пероральных сахароснижающих препаратов: Глиформин, Глиформин Пролонг (МНН Метформин), Диамерид (МНН Глимепирид), Диаглинид (МНН Репаглинид), Глидиаб и Глидиаб МВ (МНН Гликлазид) и Глимекомб (комбинация МНН Метформина и Гликлазида). Также важно отметить, что данный производитель активно принимает участие в государственных программах по обеспечению лекарственными препаратами в рамках «Социально значимых заболеваний» и Национального проекта «Здоровье». Более того, «Акрихин» занимается поставкой сахароснижающих препаратов в рамках специализированных региональных программ для лечения больных диабетом.

Также из отечественных производителей можно отметить «Фармасинтез-Ритейл», входящую в группу компаний «Фармасинтез». Эта компания вывела на российский рынок номенклатуру традиционных сахароснижающих препаратов: Мерифатин, Мерифатин МВ (МНН Метформин), Глибенфаж (комбинация МНН Метформина и Глибенкламида), Голда МВ (МНН Гликлазид), Сатерекс (МНН Гозоглиптин), Статиглин (МНН Глибенкламид), Юглин (МНН Гликвидон), Иглинид (МНН Репаглинид), Инстолит (МНН Глимепирид). Получение доступных отечественных препаратов помогло удовлетворить потребность нуждающихся пациентов с сахарным диабетом. Один из ключевых моментов, отличающих «Фармасинтез» от других производителей на рынке, заключается в том, что все субстанции для производства данных препаратов изготавливают на заводе «БратскХимСинтез». Таким образом, развитие компании направлено на импортозамещение лекарственных субстанций.

Однако, несмотря на развитое производство на российском рынке пероральных сахароснижаюих лекарственных средств, следует отметить, что высокоэффективные инновационные препараты, не имеющие дженериковых аналогов, производятся исключительно за рубежом. Еще важен тот факт, что препараты отечественного производства, как правило, являются воспроизведенными лекарственными средствами.

Также был проведен анализ доли сахароснижающих препаратов, включенных в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП). Примерно чуть больше половины пероральных сахароснижающих препаратов включены в данный перечень. Это лекарственные средства со следующими действующими веществами: Метформин (бигуаниды), Глибенкламид, Гликлазид (производные сульфонилмочевины), Алоглиптин, Вилдаглиптин, Гозоглиптин, Линаглиптин, Саксаглиптин, Ситаглиптин, Эвоглиптин (ингибиторы ДПП-4), Дапаглифлозин, Эмпаглифлозин, Ипраглифлозин, Эртуглифлозин (ингибиторы SGLT2). Из них производят в РФ: Метформин, Глибенкламид, Гликлазид, Гозоглиптин, Эвоглиптин. Вилдаглиптин, Ситаглиптин, Дапаглифлозин производятся в российских филиалах зарубежных компаний-производителей.

Одной из остро стоящих проблем на рынке сахароснижащих препаратов является проблема импортозамещения. На сегодняшний день многие зарубежные фирмы занимаются производством сахароснижающих препаратов, выпуск которых в последние годы освоила и Россия. К таким лекарственным средствам относятся, например, Метформин, Глибенкламид, Гликлазид. Важно отметить, что зарубежные препараты значительно выше по цене, что наносит вред с экономической точки зрения системе здравоохранения в тех случаях, когда в качестве льготных лекарств приобретаются иностранные препараты. Самим больным также экономически невыгодно лечение зарубежными лекарствами, когда они приобретают дорогой препарат за свои деньги. С другой стороны, если определенный зарубежный препарат стоит не дороже отечественного, то в таком случае некоторые пациенты отдают предпочтение иностранным производителям. Это лишает отечественных производителей средств на развитие и поддержание производства. Важным моментом в проблеме импортозамещения является тот факт, что на сегодняшний день России не хватает собственных разработок оригинальных сахароснижающих препаратов.

Во многих развитых зарубежных странах большой популярностью у локальных производителей лекарств пользуются исследования по сравнительной эффективности производимых ими дженериков с оригинальными препаратами. Например, США издают «Оранжевую книгу» (список одобренных лекарственных препаратов с оценкой терапевтической эквивалентности), в которой присваивают дженерикам, подтвердившим терапевтическую эквивалентность оригиналу, код А, а препаратам, которые по каким-либо причинам нельзя считать терапевтически эквивалентными оригиналу, – код В. К сожалению, в России публикуют мало работ подобного рода, даже несмотря на то, что практически все сахароснижающие препараты производят из зарубежного сырья. То есть данные лекарственные средства сами по себе являются дженериками. Таким образом, важным шагом для импортозамещения является проведение сравнительных клинических исследований отечественных и зарубежных препаратов.

В ходе исследования были рассмотрены механизмы действия сахароснижающих препаратов, преимущества и недостатки каждой фармакологической группы. Был проведен анализ рынка отечественных пероральных противодиабетических лекарственных средств, показавший, что данные препараты, как правило, являются воспроизведенными лекарственными средствами. Также был изучен вопрос импортозамещения, на основе которого можно сделать вывод, что на данный момент необходимо принять меры, направленные на разработку и внедрение в клиническую практику отечественных эффективных противодиабетических средств.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. химическая промышленность

61.01.11 Современное состояние и перспективы развития

ЛИТЕРАТУРА

1. Аметов А.С., Гусенбекова Д.Г. Лечение сахарного диабета 2 типа с применением фиксированной комбинации метформина и глибенкламида // Терапия. 2017. N 4(14). С. 119-123.

2. Анциферов М.Б., Волкова А.К. Пероральные сахароснижающте препараты в лечении сахарного диабета типа 2 // Медицинский совет. 2007. N 2. С. 42-50.

3. Анциферов М.Б., Котешкова О.М., Духарева О.В. Современные подходы к терапии пациентов с сахарным диабетом 2 типа неинсулиновыми препаратами // Доктор.Ру. 2021. Т. 20. N 2. С. 30-39.

4. Бирюкова Е.В. Сахарный диабет 2 типа: выбор сахароснижающего препарата // Эффективная фармакотерапия. 2014. N 39. С. 18-25.

5. Бирюкова Е.В. Лечение сахарного диабета 2-го типа: вопросы выбора сахароснижающего препарата // Медицинский совет. 2018. N 4. С. 12-16.

6. Забаровская З.В., Забаровская О.В. Особенности сахароснижающей терапии при лечении пациентов с сахарным диабетом 2-го типа // Рецепт. 2012. N 6(86). С. 120-129.

7. Зуев Е.Н Марциник, Д.Г., Когут К.А. Безопасность и эффективность сахароснижающей терапии: место метформина // Международный эндокринологический журнал. 2013. N 7 (55). С. 47-54.

8. Корельская Г.В., Буюклинская О.В., Довгань С.Н. Анализ ассортимента пероральных сахароснижающих препаратов на фармацевтическом рынке города Архангельска и Архангельской области // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т. 16. N 5-2. С. 987-989.

9. Моргунова Т.Б., Фадеев В.В. Комбинация двух сахароснижающих препаратов при сахарном диабете 2 типа // Фарматека. 2020. Т. 27. N 12. С. 33-37.

10. Моргунова Т.Б., Фадеев В.В. Лечение сахарного диабета 2 типа: устойчивость сахароснижающего действия препаратов // Ожирение и метаболизм. 2016. Т. 13. N 3. С. 32-36.

11. Моргунова Т.Б., Фадеев В.В. Современные подходы к лечению сахарного диабета 2-го типа // Медицинский совет. 2018. N 4. С. 17-19.

12. Немченко А.С., Тораев К.Н., Назаркина В.Н. Анализ рынка антидиабетических лекарственных средств на основе метформина // Социальная фармация в здравоохранении. 2018. N 1. С. 60-71.

13. Орлова Т.С., Буюклинская О.В. Анализ регионального фармацевтического рынка пероральных сахароснижающих препаратов // Саратовский научно-медицинский журнал. 2017. Т. 13. N 2. С. 225-228.

14. Петунина Н.А., Хасанова Э.Р. Препараты сульфонилмочевины в современных алгоритмах ведения больных сахарным диабетом 2 типа // Эффективная фармакотерапия. 2012. N 49. С. 28-39.

15. Полозова Л.Г. Место ингибиторов ДПП-4 в диабетологической практике // Проблемы эндокринной патологии. 2018. N 4 (46). С. 16-26.

16. Руяткина Л.А., Руяткин Д.С. Многоплановые эффекты метформина у пациентов с сахарным диабетом 2 типа // Сахарный диабет. 2017. Т. 20. N 3. С. 210-219.

17. Сунцов Ю.И. Современные сахароснижающие препараты, используемые в России при лечении сахарного диабета 2 типа // Сахарный диабет. 2012. N 1. С. 6-9.

18. Современные возможности сахароснижающей терапии при сахарном диабете 2-го типа и хронической болезни почек / Н.П. Трубицына [и др.] // Проблемы эндокринологии. 2015. Т. 61. N 6. С. 36-43.

19. Фиксированные комбинации сахароснижающих препаратов: стандарты применения в РФ, США и Европе / Ю.А. Сорокина [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. 2018. N 12-1(78). С. 173-176.

SUMMARY

MODERN HYPOGLYCEMIC DRUGS USED IN DOMESTIC PRACTICE IN THE TREATMENT OF TYPE II DIABETES MELLITUS

Egorova K.Y., 1st year master student
Academic advise: **Kovalenko A.V.**, Candidate of Economic Sciences,
Associate Professor of the Department of Economics and Management
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: egorova.kristina@pharminnotech.com

The purpose of this study is to study modern hypoglycemic drugs used for the treatment of patients with type II diabetes mellitus. In the course of the work, the pharmacological groups of oral antidiabetic drugs were analyzed, the mechanism of their action was studied, the domestic market of hypoglycemic drugs was investigated, and the existing problems of the production of these drugs in the Russian Federation were identified.

Keywords: *hypoglycemic drugs, therapy, diabetes mellitus, production of medicines, domestic market of medicines.*

REFERENCES

1. Ametov A.S. Gusenbekova D.G. Treatment of type 2 diabetes mellitus with the use of a fixed combination of metformin and glibenclamide // Therapy. 2017. N 4(14). P. 119-123.
2. Antsiferov M.B., Volkova A.K. Oral hypoglycemic drugs in the treatment of type 2 diabetes mellitus // Medical Council. 2007. N 2. P. 42-50. (in Russian)
3. Antsiferov M.B., Koteshkova O.M., Duhareva O.V. Modern approaches to the treatment of patients with type 2 diabetes mellitus with non-insulin preparations // Doktor.Ru. 2021. Vol. 20(2). P. 30-39. (in Russian)
4. Biryukova E.V. Type 2 diabetes mellitus: the choice of a hypoglycemic drug // Effective pharmacotherapy. 2014. N 39. P. 18-25. (in Russian)
5. Biryukova E.V. Treatment of type 2 diabetes mellitus: issues of choosing a hypoglycemic drug // Medical Council. 2018. N 4. P. 12-16. (in Russian)
6. Zabarovskaya Z.V., O.V. Zabarovskaya Features of hypoglycemic therapy in the treatment of patients with type 2 diabetes mellitus // Recipe. 2012. N 6(86). P. 120-129. (in Russian)
7. Zuev E.N., Martsinik D.G., Kogut K.A. Safety and efficacy of hypoglycemic therapy: the place of metformin // International Journal of Endocrinology. 2013. N. 7(55). P. 47-54. (in Russian)
8. Korelskaya G.V. Buyuklinskaya O.V., Dovgan S.N. Analysis of the range of oral hypoglycemic drugs in the pharmaceutical market of the city of Arkhangelsk and the Arkhangelsk region // Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2014. Vol. 16(5-2). P. 987-989. (in Russian)
9. Morgunova T.B., Fadeev V.V. Combination of two hypoglycemic drugs in type 2 diabetes mellitus // Farmateka. 2020. Vol. 27(12). P. 33-37. (in Russian)
10. Morgunova T.B., Fadeev V.V. Treatment of type 2 diabetes mellitus: stability of the hypoglycemic effect of drugs // Obesity and metabolism. 2016. Vol. 13(3). P. 32-36. (in Russian)
11. Morgunova T.B. Fadeev V.V. Modern approaches to the treatment of type 2 diabetes mellitus // Medical Council. 2018. N 4. P. 17-19. (in Russian)
12. Nemchenko, A.S., Toraev K.N., Nazarkina V.N. Market analysis of antidiabetic drugs based on metformin // Social pharmacy in health care. 2018. N 1. P. 60-71. (in Russian)
13. Orlova, T.S., Buyuklinskaya O.V. Analysis of the regional pharmaceutical market of oral hypoglycemic drugs // Saratov Scientific Medical Journal. 2017. Vol. 13(2). P. 225-228. (in Russian)
14. Petunina, N.A., Khasanova E.R. Sulfonylureas in modern algorithms for the management of patients with type 2 diabetes mellitus // Effective pharmacotherapy. 2012. N. 49. P. 28-39. (in Russian)
15. Polozova L.G. The place of DPP-4 inhibitors in diabetic practice // Problems of endocrine pathology. 2018. N 4(46). P. 16-26. (in Russian)
16. Ruyatkina, L.A., Ruyatkin D.S. Multifaceted effects of metformin in patients with type 2 diabetes mellitus // Diabetes mellitus. 2017. Vol. 20(3). P. 210-219. (in Russian)
17. Suntsov Yu.I. Modern hypoglycemic drugs used in Russia in the treatment of type 2 diabetes mellitus // Diabetes mellitus. 2012. N 1. P. 6-9. (in Russian)
18. Modern possibilities of hypoglycemic therapy in type 2 diabetes mellitus and chronic kidney disease / N.P. Trubitsyna [et al.] // Problems of endocrinology. 2015. Vol. 61(6). P. 36-43.
19. Fixed combinations of hypoglycemic drugs: standards for use in the Russian Federation, USA and Europe / Yu.A. Sorokina [et al.] // International Research Journal. 2018. N 12-1 (78). P. 173-176.

УДК 33:339.13

АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ ТЕНДЕНЦИЙ НА РОССИЙСКОМ И МИРОВОМ РЫНКЕ ПРЕПАРАТОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ И ПЛАЗМОЗАМЕЩАЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ

Елизарова М.С., магистрант 1 года обучения
Научный руководитель: **Орлов А.С.**, канд. фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой экономики и управления
(ORCID: 0000-0002-1467-6234)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: elizarova.mariya@pharminnotech.com

В данной статье представлены результаты анализа современных тенденций на российском и мировом рынке препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов. В ней приведены характеристика и классификация данной группы препаратов крови. Представлены результаты анализа потребности пациентов в препаратах плазмы крови и плазмозамещающих препаратах в России и в мире. Осуществлена оценка динамики продаж на российском рынке препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов в целом и в разрезе его деления на отечественные и импортные, а также

на оригинальные препараты и дженерики. Установлена высокая социальная значимость и востребованность препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов на российском и мировом рынке.

Ключевые слова: *российский и мировой фармацевтический рынок, препараты плазмы крови, плазма, плазмозамещающие препараты, динамика продаж, импортозамещение.*

Необходимость в переливании крови существует еще с древних времен и является широко распространенной проблемой в настоящее время. Современные методы фракционирования белков плазмы крови позволяют переливать отдельные компоненты вместо цельной крови. Для этого в клинической практике используются специализированные препараты, получаемые из крови. Наиболее распространёнными заболеваниями крови и кроветворения как в Российской Федерации, так и в других странах являются анемии, острые и хронические лейкозы, лимфомы и нарушения свертываемости крови. Ежегодно в России болезнями крови и кроветворных органов заболевают около 2000 тыс. человек, а в мире – десятки тысяч пациентов с онкогематологическими заболеваниями (гемобластозами), наиболее сложными в плане лечения и выживаемости.

Для лечения больных, страдающих заболеваниями крови, требуется использовать разнообразные лекарственные препараты. Для получения объективной информации, необходимой для принятия обоснованных управленческих решений, способствующих эффективной организации лекарственного обеспечения, требуется проведение комплексного исследования, целью которого является анализ современных тенденций на российском и мировом рынке препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов. К задачам данного исследования можно отнести оценку потребности пациентов в препаратах плазмы крови и плазмозамещающих препаратах в России и на мировом уровне, а также анализ динамики развития российского рынка в сравнении с мировыми лидерами в производстве препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов.

Среди препаратов крови важную роль занимают препараты плазмы крови и плазмозамещающие препараты, которые используются для лечения:

онкологических больных;

пациентов с болезнями крови;

больных, которые нуждаются в оперативных вмешательствах;

людям, которые пострадали в авариях, получили травмы или серьезные ожоги, потеряли много крови в результате несчастного случая.

Препараты плазмы крови и плазмозамещающие препараты входят в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП) и в состав анатомо-терапевтическо-химической классификации (АТХ), в соответствии с которой они подразделяются на несколько подгрупп (таблица 1).

Таблица 1 – АТХ-классификация препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов

Код АТХ	Наименование подгруппы	Примеры
B05AA01	Альбумин	Альбумин человека, Биотест, Альбумин человека сывороточный, Альбумин человеческий 20%, Альбумина раствор, Зенальб-20, Зенальб-4,5, Плазбумин 20, Плазма, Уман альбумин
B05AA02	Прочие белковые фракции плазмы	–
B05AA03	Фторкарбоновые кровезаменители	Перфторан
B05AA05	Декстран	Гемостабил, Декстран 40, Декстран 70, Лонгастерил 40, Полиглюкин, Реоглюман, Реомакродекс, Реополиглюкин, Реополиглюкин-40, Реополиглюкин-40-Эском, Реополидекс
B05AA06	Препараты желатина	Гелоплазма баланс, Гелофузин, Желатиноль
B05AA07	Гидроксиэтилкрахмал	Венофундин, Волекам, Волекам ГЭК-200, Волювен Гемохес 10%, Гемохес 6%, ГидроксиЭтилКрахмал 200, Гидроксиэтилкрахмал-Эском, ГиперХАЕС

Потребность в препаратах плазмы крови и плазмозамещающих препаратах увеличивается с каждым годом. Мировые рынки ежегодно демонстрируют высокий спрос на препараты данной группы, например, альбумин, из-за уникальности лечебного эффекта, достижение которого невозможно обеспечить иными путями. На рисунке приведены данные, отражающие мировое потребление альбумина в настоящее время и в ближайшей перспективе.

Рисунок. Мировое потребление альбумина (2016-2026 гг.)

В соответствии с данными Бюро маркетинговых исследований (Marketing Research Bureau, Inc.) и статистикой, представленной Европейским альянсом крови и Международной ассоциации плазмы и фракционирования, было установлено, что основной мировой объем производства препаратов крови обеспечивается странами Северной Америки и Европы (соответственно 35% и 37%).

Наибольший спрос на альбумин также приходится на страны Северной Америки, что объясняется следующими причинами:

1) Проблемы больных, нуждающихся в препаратах крови, широко освещаются, пациенты занимают активную гражданскую позицию в обеспечении данной группы лекарственными средствами;

2) Значительное влияние оказывает разница в ценах на препараты крови для различных стран. Соотношение «цена/качество» оказывается наиболее приемлемым в Северной Америке, так как в США налажено производство препаратов крови, отсутствует необходимость импорта;

3) Сами производители лекарственных средств вовлечены в процесс образования населения и рекламы;

4) Открытая рыночная система и множество производителей обеспечивают возможность выбора различных препаратов, соответствующее правовое обеспечение гарантирует прозрачное образование цен.

Количество центров сбора исходной плазмы в США продолжает расти, достигнув 737 организаций в 2018 году, согласно презентации Plasma Protein Therapeutic Association [1]. В 2018 году было добавлено 66 новых центров сбора плазмы крови в дополнение к 70 центрам, добавляемым ежегодно в 2015-2017 гг.

Темпы роста центров сбора плазмы в Европейском регионе остаются значительно более низкими. В Европейском Союзе в период с 2014 по 2018 гг. в среднем ежегодно добавляется около пяти новых центров.

Спрос на обеспечение больных препаратами крови растет и в России. По данным исследовательской компании DSM Group было установлено, что за последние пять лет (2017-2021 гг.) объём реализации препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов вырос по отношению на 3,408 млрд. руб. [2]. В таблице 2 приведена динамика продаж препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов на розничном рынке России.

Таблица 2 – Динамика продаж препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов на розничном рынке России в 2017-2021 гг.

Наименование	Натуральный объем, млн. уп.					Стоимостной объем, млрд. руб.				
	2017	2018	2019	2020	2021	2017	2018	2019	2020	2021
Препараты плазмы крови и плазмозамещающие препараты	2,632	4,654	5,511	3,804	3,764	2,099	3,754	5,335	4,560	5,507

В современных условиях доля импортных препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов значительно преобладает в сравнении с отечественными препаратами, при этом основными производителями являются Германия, Швейцария и Италия. В 2017 г. долевое соотношение импортных и отечественных препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов составляло 70,1% и 29,9% соответственно, в 2018 г. – 63,1% и 36,9%, в 2019 г. – 79,5% и 20,5%, в 2020 г. – 75,3% 24,7%, в 2021 г. – 75,6% и 24,4%.

Основную часть на российском рынке препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов занимают дженерики. Соотношение продаж оригинальных препаратов и дженериков в России за последние пять лет приведено в таблице 3.

Таблица 3 – Соотношение продаж оригинальных препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов и дженериков на российском рынке в 2017-2021 гг.

Год	Оригинальные препараты			Дженерики		
	Натуральный объем, тыс. уп.	Стоимостной объем, млн руб.	Примеры	Натуральный объем, тыс. уп.	Стоимостной объем, млн. руб.	Примеры
2017	0,981	0,332	Перфторан, Реополиглюкин	1523,980	627,652	Альбумин, Гемодез, Гидроксиэтилкрахмал-эском
2018	0,503	0,103		2997,995	1385,966	
2019	0,074	0,009		2480,543	1091,272	
2020	0,178	0,021		1604,656	1125,364	
2021	0,043	0,005		1583,909	1344,722	

Лидирующие позиции по продажам среди препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов занимают Альбумин, Волювен, Гелофузин, Реополиглюкин, Альбурекс и Гидроксиэтилкрахмал. Данные препараты наиболее востребованы и продаются в больших количествах на территории Российской Федерации.

Помимо реализации действующих препаратов в настоящее время активно разрабатываются новые препараты крови, одним из которых является КОВИД-глобулин. В марте 2021 г. Минздравом России был одобрен препарат против COVID-19, созданный на основе плазмы крови переболевших коронавирусом. Подобное лекарство зарегистрировали впервые в мире [3]. Препарат был разработан Национальной иммунобиологической компанией («Нацимбио») из плазмы крови переболевших москвичей – для этого столица передала 2,5 т биоматериала. В ходе исследований разработка подтвердила безопасность, отсутствие побочных эффектов и способность нейтрализовывать вирус. Препарат будут применять для лечения средних и тяжелых форм заболевания. Регистрационное удостоверение разрешает применять «КОВИД-глобулин» пациентам в возрасте от 18 до 60 лет. Холдинг «Нацимбио» инвестирует в проект до 400 млн рублей: основной объем денег направят на закупку сырья, оплату клинических исследований, закупку оборудования и расходных материалов, говорится в сообщении. Плазму будут поставлять также из региональных станций переливания крови, расположенных в Московской, Оренбургской, Свердловской областях, Башкирии и других регионах.

Для качественного лекарственного обеспечения граждан препаратами крови необходимо достаточное количество современных и прогрессивных заводов. В связи с этим, в Татарстане построят завод по производству препаратов плазмы крови. Израильская компания Alishech к 2023 году намерена построить в Татарстане завод по переработке плазмы крови мощностью 500 тонн ежегодно. На её основе планируется производить 25 наименований препаратов. Инвестиции в проект оцениваются в 9 млрд рублей. Предприятие займется фракционированием плазмы крови. Всего планируется производить 25 наименований препаратов, среди них альбумин, иммуноглобулин, факторы свертывания крови VIII и IX. Кроме того, предполагается производство «сухой плазмы».

Разработка фармацевтических препаратов обладает высоким экспортным потенциалом, который в настоящее время активно используют самые технологически развитые страны. В то же время можно обозначить две ключевых проблемы российской фармацевтической отрасли. Во-первых, это критическая зависимость отрасли от импорта фармацевтической продукции, что вызывает серьезные расходы на зарубежную продукцию. Во-вторых, часто наблюдаются ситуации, когда фактически единственным источником инновационных лекарственных препаратов на рынке России является продукция зарубежных производителей.

Препараты плазмы крови и плазмозамещающие препараты являются социально-значимыми и востребованы на российском и мировом рынках. С каждым годом потребность на данные лекарства увеличивается, что является толчком к развитию новых технологий, позволяющих создавать продукты для лечения ранее неизлечимых болезней. Таким образом, обеспечивается увеличение пациентской базы, которое способствует росту рынка. К сожалению, российская фармацевтическая отрасль отстает от мировых лидеров (США, Германия, Швейцария и др.) в производстве препаратов плазмы крови и плазмозамещающих препаратов. Главной проблемой является зависимость от импортозамещения, которая тормозит развитие российской фармацевтической промышленности.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.01.11 Современное состояние и перспективы развития
76.01.14 Коммерческие вопросы, маркетинг, конъюнктура, реклама в медицине и здравоохранении
76.01.73 Медицинская статистика

ЛИТЕРАТУРА

1. International blood/plasma news // MRB Marketing Research Bureau [Internet]. URL: https://marketingresearchbureau.com/ (Дата обращения: 07.12.2021)

2. DSM Group, годовой отчет. [Электронный ресурс]. URL: https://dsm.ru/ (Дата обращения: 07.12.2021)

3. Ковид-глобулин // Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=b3e088b5-e6ca-42b5-b1cb-954001956899&t (Дата обращения: 02.12.2021).

SUMMARY

ANALYSIS OF MODERN TRENDS OF BLOOD PLASMA AND PLASMA SUBSTITUTE DRUGS ON THE RUSSIAN AND WORLD MARKET

Elizarova M.S., 1st year master student
Academic advise: **Orlov A.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Associate Professor, chairholder of Economics and Management.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: elizarova.mariya@pharminnotech.com

This article presents the results of an analysis of current trends in the Russian and world market for blood plasma products and plasma-substituting drugs. It describes the characteristics and classification of this blood products group. The results of the analysis of patients' needs in blood plasma products in Russia and in the world are discussed and presented. The dynamics of blood plasma drugs sales on the Russian market is assessed in general and in the context of its division into domestic and imported products, as well as completed classification of original preparations and generics. The high social significance and increasing demand for blood plasma products and plasma-substituting drugs in the Russian and world markets has been established and proven.

Keywords: *Russian and world pharmaceutical markets, blood plasma products, plasma, plasma-substituting drugs, sales dynamics, import substitution.*

REFERENCES

1. International blood/plasma news // MRB Marketing Research Bureau [Internet]. URL: https://marketingresearchbureau.com/ (Accessed: 07.12.2021)
2. DSM Group, Annual report [Electronic resource]. URL: https://dsm.ru/ (Accessed:: 07.12.2021). (in Russian)
3. Covid-globulin // State Register of Medicines. [Internet]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=b3e088b5-e6ca-42b5-b1cb-954001956899&t (Accessed: 02.12.2021). (in Russian)

УДК 578.834.1

АНАЛИЗ РЫНКА ТЕСТОВ НА COVID-19

Жиляева Е.В., магистрант 1 года обучения
Руководитель: **Коваленко А.В.**, к.э.н., доц.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: zhilyaeva.ekaterina@pharminnotech.com

Исследование посвящено анализу рынка экспресс-тестов на коронавирусную инфекцию, которые позволяют быстро диагностировать инфицированных и бороться с распространением заболевания. Главным преимуществом экспресс-тестов считается скорость получения результатов. Однако серьезным недостатком является вероятность получения большого процента ложных результатов.

Ключевые слова: *коронавирусная инфекция, экспресс-тесты, «бытовая» диагностика, антиген-тесты, ПЦР-тесты, внелабораторная диагностика.*

COVID-19 более двух лет будоражит жизнь современного общества. Кривая пандемии своеобразна, имеет множество скачков на всем пути своего развития. И именно в феврале 2022 года она вышла на свой максимум. Появление нового штамма Омикрон спровоцировало новый виток в развитии рынка тестов [1]. Тест-системы не только улучшали, но и модернизировали, исходя из потребностей населения. На данном этапе необходима была не только качественная, но и скорейшая диагностика инфекции. Причем запрос состоял не только в скорости обработки анализа, но и в возможностях взятия биоматериала. Возможность сдать тест на коронавирус, минуя услуги медицинского персонала, стала открытием 2022 года. Множество лабораторий на данный момент уже присоединились обработке результатов проектов по «само забору» [2].

Цель. Анализ рынка экспресс-тестов на COVID-19

Задачи:

1. Провести анализ статистических данных по использованию экспресс-тестирования на коронавирусную инфекцию.
2. Обозначить новейшие требования, предъявляемые к экспресс-тестированию.
3. Обозначить перечень документации и нормативных требований, связанных с экспресс-тестами.
4. Выделить виды тест-систем для экстренного анализа.

5. Анализировать ограничения, коснувшиеся некоторых видов тестов.

6. Сделать выводы по влиянию экспресс-тестирования на фармацевтический рынок.

На данный момент официальные данные статистики, представленные на сайте Стопкоронавирус.рф [3], говорят о том, что на 31.01.2022 года было диагностировано 124 тыс. случаев заражения, а уже 03.02.2022 года число заболевших превысило 155 тыс. Естественно, что в связи с увлечением количества заболевших, у общественности возник запрос на увеличение числа методов диагностики и их ускорение.

Говоря о методах, стоит сказать, что существенно новых решений не появилось. На данный момент самыми популярными методами диагностики являются [4]:

1. ПЦР-тесты;

тесты на антиген COVID-19;

тесты на антитела COVID-19 (иммуноглобулинов IgE, IgM и IgG) к коронавирусу.

И хотя изменения не коснулись методов тестирования, ситуация с тестами на антитела существенно изменилась. С 21 февраля 2022 года Министерство здравоохранения Российской Федерации опубликовало поправки, связанные с получением QR-кода для ведения социальной активности [5]. Если ранее такой код получали лишь переболевшие и вакцинированные признанной вакциной, теперь это стало доступно для неофициально переболевших COVID-19 или привитых непризнанной в России вакциной. Для этого необходимо выполнить ряд следующих условий:

1. быть зарегистрированным на портале «Госуслуги». Это необходимо для получения QR-кода.

2. сдать тест на антитела (колличественный или качественный показатель Ig G). Данные тесты показывает возможности «сопротивляемости» организма коронавирусной инфекции. Их можно сдать в любой лаборатории, которая аккредитована Роспотребнадзором. На данный момент, в Санкт- Петербурге таких лабораторий насчитывается 18 штук. Среди них – «Хеликс», «Инвитро» «Ситилаб» и другие. Стоимость тестирования варьируется от 1000 до 1700 рублей, готовность результатов- в течение суток.

3. получить любой результат, кроме отрицательного (нижняя граница количества иммуноглобулинов G в приказе Минздрава не определена).

4. сформировать сертификат, после того, как лаборатория выполнила результат. Это делается либо автоматически, в течение 3 рабочих дней, или же самостоятельно через запрос сертификата на сайте «Госуслуг» в разделе «Сведения об иммунизации COVID-19». Сертификат будет сформирован на двух языках – русском и английском.

Полученный сертификат действует шесть месяцев с момента получения результатов теста.

Существенные изменения коснулись области забора биоматериала. Если раньше взятием мазков занимался квалифицированный медицинский персонал, то с недавних пор существует альтернатива- само забор. Ярким примером таких новшеств сдал проект «Сдай на коронавирус» [6]. Это программа, которая предлагает услуги по бесконтактному анализу на Covid-19. Подготовка и взятие включает в себя несколько этапов:

1. Пациент самостоятельно заполняет онлайн все необходимые данные для заказа анализа.

2. Оформление заказа и оплата так же бесконтактны.

3. Далее необходимо дождаться курьера с заказом, или прийти в центр-партнер, заранее выбранный на сайте и удобный для пациента, и получить пакет с инструкцией, листом заказа и всем необходимым для взятия биоматериала.

4. Взятие производится самостоятельно по инструкции, размещенной на сайте и вложенной в пакет. Далее биоматериал можно передать с курьером или самостоятельно отнести в центр.

5. Результат теста приходит на электронную почту в течение 2 дней.

После этого пакет с биоматериалом отправляется в лабораторию, где происходит стандартная процедура лабораторной обработки теста.

Спектр анализов, предоставляемый проектом Сдайна коронавирус.рф такой же, как и на базе лаборатории-партнера. Конкретно для Санкт-Петербурга это лабораторная служба Хеликс [4]. Пациент может сделать такие анализы, как [7]:

1. Стандартный ПЦР-тест на коронавирус COVID-19;

2. ПЦР-тест на коронавирус COVID-19 с определением штаммов Omicron и Delta;

3. Экспресс-тест на COVID-19 (с официальной справкой на иностранных языках);

4. Срочный тест на COVID-19 (результат за 6 или 12 часов, методом антиген) с вирусной нагрузкой;

5. Экспресс-тест на IgM и IgG-антитела к коронавирусу COVID-19 (качественно).

Стоит отметить, что результаты тестов имеют статус официальных и котируются при предъявлении в медицинских учреждениях, а также подходят для международного пользования.

Ситуация с тестами, купленными в аптеке или на сторонних сайтах, не проходящих стадию лабораторного анализа, обстоит совершенно по-другому. По данным аналитической компании DSM Group,к концу первого месяца этого года россияне купили в аптеках более 48,1 тыс. экспресс-тестов на сумму 106,9 млн руб. против примерно 10 тыс. штук на сумму 17,79 млн руб. годом ранее. Это говорит о том, что розничные продажи таких тестов в январе 2022 года получили невероятный прирост в денежном и количественном выражении.

На сегодняшний день в мире зарегистрированы десятки тест-систем на определение антигена COVID-19 методом экспресс-диагностики. Большинство зарегистрированных в России экспресс-тестов на антигены производятся в Южной Корее – абсолютном лидере по производству высокоточных и высокоспецифичных тестов. Большая их часть имеет чувствительность 90 процентов и выше, причем некоторые из представленных в России экспресс-систем включены в список рекомендованных ВОЗ для диагностики коронавирусной инфекции. В России наиболее популярными являются продукты родом из Южной Кореи: SDBIOSENSOR Inc, BIOCREDIT Covid-19 Ag, тест SGTI-flex Covid 19 Ag, Now-

check Covid-19 Ag. Довольно широко распространены тест-системы китайских производителей: Beijing Lepu Medical Technology, Core Technology, VivaChek Biotech (Hangzhou), Guangzhou Wondfo Biotech Co., Innovita (Tangshan) Biological Technology Co. Имеются тесты российского производства, одобренные Росздравнадзором – Rapid BIO, Imbian и др [8].

Кому показан экспресс-тест:

1. Наличие признаков респираторного заболевания (слабость, головная боль, повышение температуры, кашель, сопли)
2. Контакт с больным человеком с признаками респираторной инфекции
3. При поездке заграницу, на дачу, в случае появления признаков респираторного заболевания, для быстрого исключения COVID-19
4. Планируете посетить пожилых родственников и исключить риск заражения

Принцип работы экспресс-теста на коронавирус (COVID-19):

Экспресс-тест определяет непосредственно сам коронавирус, то есть антиген, иммунохроматографическим методом. Данный метод позволяет обнаружить коронавирус в организме с первых дней заражения, являются аналогом ПЦР-теста, с получением результата в течение 10-15 минут. Суть метода заключается в выявлении антигена коронавируса находящегося в носоглотке, за счет связывания с антителами к коронавирусу нанесенных на хроматографическую бумагу. При взаимодействии антигена с антителом происходит окрашивание рабочей полосы.

При выполнении экспресс-теста важно учитывать следующие моменты:

• при взятии мазка нужно водить палочкой по слизистой, а не по коже;

• тестовая кассета и буферный раствор, в который вы погружаете ватную палочку с биоматериалом, должны быть комнатной температуры;

• при погружении ватной палочки в буферный раствор надо поводить палочкой по стенкам пробирки, чтобы в раствор перешло как можно больше биоматериала;

• перед использованием надо проверить целостность упаковки тест-системы: только новый набор покажет точный результат;

• при контакте реагента с воздухом результаты могут исказиться, поэтому быстро и плотно закрывайте пробирку;

• интерпретируйте полученный результат не позднее времени, указанного в инструкции[9]

Как отмечают многие специалисты, применение экспресс тестов в ближайшее время следует сделать доступным для массового потребителя, чтобы любой человек, имеющий сомнения по поводу своего здоровья, мог приобрести тест через аптеку и провести оперативное исследование у себя дома. Уже сегодня многие компании производители и дистрибьюторы экспресс тестов начинают осуществлять продажи через аптечные сети, торгово-розничные сети (супермаркеты) и маркетплэйсы (такие как Ozon, Goods и др.). Но есть и противники экспресс тестов, которые считают, что использование любых тест-систем должно оставаться прерогативой специализированных лабораторий [10]. Чтобы получить достоверный и точный ответ от тест-системы, необходимо соблюдать определенные условия. И иногда они настолько специфичны, что добиться их поддержания в домашних условиях невозможно. Н. Беспалов**,** директор по развитию из компании RNC Pharma отмечает, что «продавать тест-системы в аптеках бессмысленно. ПЦР-тесты вообще невозможно использовать в домашних условиях, требуется специальное оборудование и умение с ним работать. Что касается тестов на антитела, то чисто теоретически это возможно. Однако практически реализовать это довольно сложно. Это все также связано с факторами, влияющими напрямую на результаты теста и которые рядовой потребитель соблюсти в домашних условиях не сможет». По мнению ряда специалистов, домашние тесты подходят больше для самоуспокоения, и тут, при нарушении методики проведения, существует большая вероятность получить ошибочный результат [11].

И все же результат такого теста не является сертифицированным и достаточным для точной диагностики. Представитель известной отечественной лаборатории KDL Ольга Малиновская так комментирует данную ситуацию: «Тесты, которые приобрел сам человек, имеют информационный характер, их результаты нигде не учитываются». Такого же мнения придерживается и Владимир Чуланов. «В случае если у человека отсутствует симптоматика ОРВИ, коронавируса либо есть легкие симптомы и он провел самостоятельное экспресс-тестирование, ему рекомендуется оставаться дома, позвонить на телефон единой службы «122» или в поликлинику и сообщить о результате теста и своем самочувствии», – утверждает заместитель директора по научной работе и инновационному развитию Минздрава РФ[12].

На данный момент такие экспресс-системы предлагают следующие аптеки: «СберЕаптека», «Ригла», «Планета здоровья» и др. Самые востребованные производители тестов: отечественный ООО «ДРД», WELLS Bio Inc. и Sugentech Inc. Корея, Shanghai B&C Biological Technology Co., Ltd. Китай. В России стоимость экспресс-теста на коронавирус (антиген) в интернете колеблется от 900 до 24 тыс. рублей. Это данные сетей «Еаптека», «Столички», «Асна» и «Горздрав». В супермаркетах в России цены за тесты на коронавирус (антиген) начинаются от 1 500 рублей. В остальном мире цены на тесты зачастую гораздо ниже [13]. В Европе вопрос ценообразования контролируется государством. Например, в Испании цена за тесты установлена на уровне закона и составляет €3 на 2022 год. Практика такого государственного регулирования была бы полезна и для России.

Если касаться ситуации с открытием больничного листа, то внелабораторные тесты не подходят для этого. А вот тесты «само забора» вполне могут считаться основанием для этого. Сайт Стопкоронавирус.рф дает такие инструкции [14]: больничный необязательно открывать в поликлинике. Достаточно сделать звонок на горячую линию или в регистратуру. В памятке Минздрава, недавно опубликованной на их сайте, указано, что листок нетрудоспособности оформляется с соблюдением карантина [15].

Заключение. Анализируя вышесказанное, можно смело утверждать, что экспресс-тестирование на коронавирусную инфекцию является не только альтернативой стандартным тестам, но и конкурентной и перспективной нишей

в фармацевтической отрасли. Производство таких тест систем и основание проектов, связанных с этим, является актуальным с точки зрения современных реалий, а также необходимым в условиях роста числа заболевших новыми штаммами COVID-19. Стоит отметить, что внедрение экспресс-тестирования помогло значительно снизить нагрузки на поликлиники и пункты забора биоматериала. Использование экспресс-тестов должно позволить быстро диагностировать COVID-19 и принимать решения по эпидемиологическим мерам и лечебной тактике при работе на скорой, в приемных отделениях, лабораториях или скрининге сотрудников предприятий. Совершенствование законодательной базы в области данной области здравоохранения в дальнейшем должно устранить все ограничения, связанные с тестами «само забора» и внелабораторными тестами. И в дальнейшем, рынок тестов «бытовой» диагностики не только останется актуальной и необходимой, но и вполне может вытеснить стандартную процедуру тестирования на коронавирусную инфекцию.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.01.11 Современное состояние и перспективы развития

ЛИТЕРАТУРА

1. Стопкоронавирус.рф [Электронный ресурс]. URL: https://xn--80aesfpebagmfblc0a.xn--p1ai/

2. Жиляева Е.В. Рынок тестов на антитела и коронавирусную инфекцию // Сборник материалов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной Году науки и технологий. 2021. С. 101-106.

3. Особенности лабораторной диагностики заболевания COVID-19 / И.М. Улюкин [и др.] // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2020. Т. 39. N 2. С. 27-34.

4. Современная лаборатория в условиях пандемии / Т.С. Белохвостикова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. 2021. Т. 66. N 54. С. 16.

5. Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н. Лабораторные стратегии диагностики COVID-19: современные технологии и тенденции развития (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Т. 65. N 12. С. 757-766.

6. Сыров А.В., Стуров Н.В., Колупаев В.Е. Диагностика COVID-19 в амбулаторных условиях // Трудный пациент. 2020. Т. 18. N 5. С. 6-9.

7. Аникина А.О. Влияние коронавируса на экономику России // Язык науки и профессиональная коммуникация. 2021. С. 250-267.

8. Турсунбаева Н.С., Салыжанова Э.С. Евразийская экономическая интеграция в условиях пандемии коронавирусной инфекции: вызов для евразийского экономического союза // Вестник кыргызско-российского славянского университета. 2021. Т. 21. С. 134-141.

9. Дейкин Н.С. Коронавирус: экономический аспект // Via scientiarum - дорога знаний. 2020. С. 12-15.

10. Красикова Т.Ю., Зеленская М.О. Обогащение фармацевтических компаний за счет пандемии коронавируса 2020 года // Экономический альманах. 2020. С. 48-52.

11. Шульга Я., Панина Е. Что делают ваши коллеги, чтобы не растерять клиентов в пандемию коронавируса // Здравоохранение. 2020. С. 102-107.

12. Киселев И.Н., Мишина Н.Н. Проблемы развития российского законодательства о преодолении последствий пандемии коронавируса на современном этапе // Вопросы российского и международного права. 2021. Т. 11. С. 193-201.

13. Российское здравоохранение на фоне коронавируса covid-19: возможности и угрозы / В.И. Стародубов [и др.] // Менеджер здравоохранения 2020. С. 68-78.

14. Булдакова А.А. Влияние коронавируса на экономику России //Вестник научных конференций. 2020. С. 32-34.

15. Губкин С., Шмык С., Трофимов Ю. Медицинские технологии - для борьбы с коронавирусом // Наука и инновации. 2020. С. 37-42.

SUMMARY

MARKET ANALYSIS FOR COVID-19 TESTS

Zhilyaeva E.V., 1st year undergraduate
Academic advise: **Kovalenko A.V.,** Candidate of Economic Sciences, docent.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: zhilyaeva.ekaterina@pharminnotech.com

The study is devoted to the analysis of the market for rapid tests for coronavirus infection, which allow you to quickly diagnose infected people and fight the spread of the disease. The main advantage of rapid tests is the speed of obtaining results. However, a serious disadvantage is the likelihood of a large percentage of false results.

Keywords: *Coronavirus infection, rapid tests, «household» diagnostics, antigen tests, PCR tests, out-of-laboratory diagnostics.*

REFERENCES

1. Stopkoronavirus.rf [Internet]. URL: https://xn--80aesfpebagmfblc0a.xn--p1ai/(in Russian)

2. Zhilyaeva E.V. The market for tests for antibodies and coronavirus infection // Collection of materials of the VIII All-Russian scientific and practical conference with international participation, dedicated to the Year of Science and Technology. 2021. P.101-106. (in Russian)

3. Features of laboratory diagnostics of COVID-19 disease / I.M. Ulyukin [et al.] // Izvestia of the Russian Military Medical Academy. 2020. Vol. 39(2). P. 27-34. (in Russian)

4. Modern laboratory in a pandemic / T.S. Belokhvostikova [et al.] // Clinical laboratory diagnostics. 2021. Vol. 66(54). P. 16. (in Russian)

5. Andryukov B.G., Lyapun I.N. Laboratory strategies for diagnosing COVID-19: modern technologies and development trends (literature review) // Clinical laboratory diagnostics. 2020. Vol. 65(12). P. 757-766. (in Russian)

6. Syrov A.V., Sturov N.V., Kolupaev V.E. Diagnosis of COVID-19 on an outpatient basis // Difficult patient. 2020. Vol. 18(5). P. 6-9. (in Russian)

7. Anikina A.O. The impact of coronavirus on the Russian economy // Languages in professional communication. 2021. P. 250-267. (in Russian)

8. Tursunbayeva N.S., Salyzhanova E.S. Eurasian economic integration in the context of the coronavirus pandemic: a challenge for the Eurasian Economic Union // Bulletin of the Kyrgyz-Russian Slavic University. 2021. Vol. 21. P.134-141. (in Russian)

9. Deikin N.S. Coronavirus: economic aspect // Via scientiarum - the road of knowledge. 2020. P. 12-15. (in Russian)

10. Krasikova T.Yu., Zelenskaya M.O. Enrichment of pharmaceutical companies due to the 2020 coronavirus pandemic // Economic Almanac. 2020. P. 48-52. (in Russian)

11. Shulga Ya., Panina E. What do your colleagues do to avoid losing customers during the coronavirus pandemic // Zdravookhranenie. 2020. P. 102-107. (in Russian)

12. Kiselev I.N., Mishina N.N. Problems of development of Russian legislation on overcoming the consequences of the coronavirus pandemic at the present stage // Issues of Russian and international law. 2021. Vol.11 P. 193-201. (in Russian)

13. Russian healthcare against the backdrop of covid-19 coronavirus: opportunities and threats / V.I. Starodubov // Health Manager 2020. P. 68-78. (in Russian)

14. Buldakova A.A. The impact of coronavirus on the Russian economy // Bulletin of scientific conferences. 2020. P. 32-34. (in Russian)

15. Gubkin S., Shmyk S., Trofimov Yu. Medical technologies - for the fight against coronavirus // Science and Innovations. 2020. P. 37-42. (in Russian)

УДК 658.5:615.15(045)

ИНСТРУМЕНТЫ БЕРЕЖЛИВОГО ПРОИЗВОДСТВА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Заяц Е.С., студ. 4 курса
Руководитель: **Золотарёва Н.Г.,** канд. фарм. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ekaterina.zayac@spcpu.ru

Изучено понятие бережливого производства, его принципы, задачи и основные инструменты. Проанализированы национальные цели и стратегические задачи развития Российской Федерации по повышению производительности труда, а также возможности и опыт внедрения бережливого производства в деятельность аптечных организаций.

Ключевые слова: *бережливое производство, производительность труда, производственные потери, фармацевтическая деятельность, аптечная организация.*

Указом президента РФ от 7 мая 2018 года №204 «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года» были поставлены цели по повышению производительности труда в стране до 2024 года. А годом ранее, 18 декабря 2017 года, решением президиума Совета при Президенте РФ по стратегическому развитию и приоритетным проектам создана АНО «Федеральный центр компетенций в сфере производительности труда» (ФЦК). Миссия ФЦК состоит в повышении качества товаров и услуг и росте конкурентоспособности российской экономики путем создания культуры высокой производительности и эффективности среди сотрудников организаций в каждом регионе России. ФЦК реализует проекты, направленные на устранение потерь в средних и крупных организациях за счет передачи сотрудникам этих организаций опыта, знаний и навыков; создание экосистемы для запуска цепной реакции роста производительности в организациях, в регионе и в стране в целом. ФЦК работает над реализацией нацпроекта «Производительность труда» в части адресной поддержки предприятий (федеральный проект «Адресная поддержка повышения производительности труда на предприятиях»), занимается продвижением и внедрением культуры БП в России [1].

Проект коснулся не только крупных производственных компаний, но и многих других организаций в разных отраслях экономики. Процесс реализации товаров аптечного ассортимента установлен и регламентируется Приказом МЗ России от 31 августа 2016 г. №647н «Об утверждении Правил надлежащей аптечной практики лекарственных препаратов для медицинского применения» [2]. Тем не менее, в аптечных организациях (АО) данный процесс может нести большие скрытые потери. К ним можно отнести потери времени при поиске необходимого препарата, лишние движения и перемещения персонала, которые можно минимизировать оптимальным распределением товаров аптечного ассортимента в местах их хранения. В марте 2021 года АО «Губернские аптеки» стало первым предприятием в стране в сфере ритейла, которое получило расширенную поддержку ФЦК. Главной целью участия АО в Национальном проекте явилось снижение цен на товары аптечного ассортимента. При аудите складских помещений «Губернских аптек», а также после общения с сотрудниками компании, генеральный директор ФЦК Н.И. Соломон, отметил, что инструменты БП являются универсальными для предприятий разных отраслей. Он также упомянул, что процесс реализации проекта на данном предприятии задержится на год, а не на полгода, как это было ранее. Это будет сделано с целью более детального анализа проблем, связанных с транспортом, логистикой, продажами и маркетингом лекарственных препаратов (ЛП). Отдельное внимание будет уделено интернет-продажам, в связи с их высокой популярностью в наше время. При реализации проекта на базе Губернских аптек, особое внимание уделялось объединению опыта предприятий, работающих в этой отрасли, – от производства лекарств и медикаментов до продажи их конечным потребителям с тем, чтобы снизить издержки [3].

Целью настоящей работы явилось изучение возможности использования отдельных инструментов БП для оптимизации деятельности АО.

Для достижения выше обозначенной цели были сформулированы следующие задачи:

1) Проанализировать национальные цели и стратегические задачи развития РФ по повышению производительности труда;

2) Изучить понятие БП, его принципы, задачи и основные инструменты;

3) Изучить опыт внедрения инструментов БП в деятельность АО.

Методологически данная работа опирается на законодательство РФ и нормативно – правовые акты в части адресной поддержки предприятий в повышении производительности труда. Исследования проводились с использованием материалов, размещенных на сайте https://производительность.рф, публикаций отечественных и зарубежных авторов, посвященных БП. В процессе проведения исследования применялись следующие методы: исторический, системный, логический, контент-анализ.

Бережливое производство (БП) (англ. lean production) – концепция управления предприятием, которая основана на постоянном стремлении к выявлению и устранению всех видов потерь. БП предполагает максимальную ориентацию на требования потребителя и вовлечение в процесс оптимизации каждого сотрудника. Концепция БП очень объёмна и включает в себя не только сам процесс оптимизации производства и бизнес-процессов компании, но и внутреннюю философию, правильную организацию рабочих мест сотрудников, их мышления и распределение функций между ними. Глобальной целью концепции БП является увеличение прибыли за счёт постоянного сокращения издержек, совершенствования всех процессов организации, оптимального распределения задач для всех сотрудников на каждом этапе производства [1].

В любой организации, во всех ее процессах существуют скрытые потери. Эти потери увеличивают издержки, не добавляя ценности продуктам или услугам, предоставляемым организацией. Из-за потерь эффективность может снизиться на 70-80%. Помимо выявления и устранения потерь в организации необходимо изменять культуру сотрудников, учить их бережно относиться к ресурсам компании и постоянно улучшать свою работу и процессы, в которые они вовлечены [1].

Несмотря на то, что система БП получила свою популярность в РФ не так давно, историей эта концепция уходит в 1950-е годы. Основателем БП в его современном понимании является японский специалист Тайити Оно, который разработал производственную систему для компании «Toyota», благодаря которой компании удалось не только удержаться на плаву во времена экономических кризисов в Японии, но и оставаться конкурентоспособной. Коллеги Т. Оно внесли существенный вклад в развитие теории и практики БП, разработав некоторые инструменты БП. Нельзя забывать и отечественного основоположника БП – Гастева Алексея Капитоновича, который являлся теоретиком научной организации труда и руководителем Центрального института труда СССР. Кроме практических рекомендаций, Гастев создал множество теоретических наработок по организации труда и времени. Эти работы лежат в основе современных принципов бережливого мышления. Прежде всего, известны его работы по научной организации труда: книга «Как надо работать» и «Трудовые установки». Помимо Гастева и Оно, крупный вклад в систему БП внесли Фредерик Тейлор и Генри Форд. Ф. Тейлор стремился к тому, чтобы рабочие сами предлагали способы повышения эффективности труда. Г. Фордом были сформулированы и внедрены ключевые идеи БП, он создал первую в мире модель производственного потока, в основу которого легло передвижение обрабатываемого изделия между процессами с использованием конвейера [5-7].

Классификацию семи видов скрытых потерь предложил Тайити Оно. Иногда к ним добавляют восьмой вид потерь – нереализованный талант сотрудников. Устранение потерь представляет собой огромный ресурс повышения эффективности процессов [1].

Классификация потерь, согласно Оно представлена в таблице.

Таблица – классификация и характеристика потерь в системе БП

№	Вид потерь	Краткая характеристика
1	Перепроизводство	Избыточный выпуск продукции влечёт за собой повышение расходов и запасов и не влечёт повышение доходов. Часто избыточное производство становится причиной других видов потерь.
2	Излишние запасы	Накопление на предприятии сырья, материалов или выпуск готовой продукции в объёмах больших, чем это необходимо.
3	Лишние движения	Любые действия, которые выходят за рамки производительной работы или в которых нет необходимости. Лишние движения повышают утомляемость персонала, значит снижают производительность труда и могут привести к росту травматизма.
4	Избыточная обработка	Операции, которые не обязательны для получения требуемого результата, либо превышающие требования заказчика.
5	Переделка и брак	Переработка или доработка некачественной продукции приводит к дополнительным затратам.
6	Ненужная транспортировка или перемещение	Передвижение продуктов без необходимости, неэффективная логистика в потоке. Влечёт за собой увеличение затрат на перемещение, повреждение продукции.
7	Ожидание	Простой оборудования или простой операторов во время работы станков или в связи с неисправностью оборудования.

Существует ряд инструментов БП, которые можно считать универсальными и применять в организациях различных отраслей деятельности. Один из ключевых инструментов работы с потоком – картирование потока создания ценностей (ПСЦ).

Картирование ПСЦ – это инструмент визуализации и анализа материального и информационного потоков в процессах создания ценности от поставщика до клиента. Картирование применяется для выявления потерь, их источников и скорейшего их устранения. Карта потока – простая и наглядная графическая схема процесса, на которой видны издержки как в материальном, так и информационном потоках. Карта потока позволяет увидеть весь процесс как цепочку связанных между собой операций, выявить коренные проблемы потока, и на основе их анализа разработать план улучшений.

Еще одним важным инструментом системы БП является диаграмма «Спагетти» – это схематичное изображение траектории движения продукции по потоку. Диаграмма «Спагетти» даёт возможность наглядно оценить весь клубок линий, отражающих перемещение сотрудников, выявить избыточные и оценить оптимальность расстановки оборудования и организации процесса. В случае с реализацией товаров аптечного ассортимента, диаграмма «Спагетти» является важным инструментом для анализа рационального распределения ЛП по местам их хранения в зоне выдачи товаров или торговом зале.

Следующим инструментом БП является стандартизированная работа. Стандартизированная работа – это описание наилучшего способа выполнения работы, основанное на движениях человека, обеспечивая безопасность, качество, производительность труда, описанный и документированный на бланках стандартизированной работы. Стандартизированная работа является катализатором дальнейшего совершенствования системы БП. Внедрение стандартизированной работы позволяет упорядочить различные процессы производства и реализации товаров, а также офисные процессы. Стандартизация влияет на сокращение времени выполнения той или иной работы, повышение эффективности выполнения услуг. При внедрении стандартизированной работы, создаётся документ, описывающий оптимальный ход выполнения работ, содержащий информацию о последовательности и времени выполнения операций для достижения требуемого уровня качества процесса, его результативности и эффективности – стандарт. Стандарт должен быть легко читаемым для всех (и рабочих, и специалистов), визуально понятным, включающим только имеющиеся на рабочем месте материалы и инструменты, обязательно содержащим информацию о последовательности и времени выполнении операций, проверенным и одобренным сотрудниками и их руководителями. Стандарт должен постоянно анализироваться и дополняться.

Помимо вышеупомянутых инструментов, в концепции БП есть такой инструмент, как производственный анализ (ПА). ПА направлен на получение точных фактических данных о ходе выполнения производственной программы на любом из этапов изготовления и перемещения продукции и быстрое решение возникающих проблем. Результаты ПА должны быть документированы, визуализированы и понятны любому участнику производственного процесса. Ведение ПА должно проходить в комплексе с эффективной процедурой решения проблем. Без процедуры решения проблем, поиска и устранения коренных причин, ПА будет неэффективен. Культура БП распространяется и на то, какой подход выбирает предприятие и каждый сотрудник к решению проблем, с этой целью на предприятии можно организовать сбор предложений по улучшениям от сотрудников.

В основе идеологии БП положено стремление проанализировать проблему и выявить её коренную причину. В большинстве случаев рекомендуется отказаться от временных решений последствий проблемы в пользу устранения первопричины. Системное решение проблемы предлагает работу в команде сотрудников с разным рабочим функционалом. 8D – инструмент системного решения проблем, который состоит из восьми этапов. D0 – планирование и немедленные ответы, D1 – формирование команды, D2 – уточнение и описание проблемы, D3 – разработка временных корректирующих действий, D4 – определение, верификация коренных причин и точек выявления проблемы, D5 – определение постоянных корректирующих действий, D6 – выбор и внедрение лучших постоянных корректирующих действий, D7 – устранение повторения системной проблемы, D8 – оценка результатов 8D и работы команды. 8D – это комбинация известных и проверенных инструментов, минимально достаточных для решения конкретной проблемы, выявления её коренных причин, устранения их и предотвращения повторного появления.

Метод «5 Why» или «5 Почему» – простой и практичный инструмент, который позволяет выйти за рамки видимых симптомов проблемы и найти её коренную причину. Ответ уже на пятый вопрос «почему?» обычно и будет являться первопричиной проблемы. Когда проблема слишком глубока, может потребоваться и больше итераций. Когда новый вопрос не будет давать новых содержательных ответов, это и будет коренной причиной проблемы.

«Диаграмма Ишикавы» или диаграмма «Рыбья кость» является инструментом системного подхода к определению коренных проблем и способом определения наиболее существенных причинно-следственных взаимосвязей между факторами и их последствиями в ПСЦ. В диаграмме Ишикавы оцениваются следующие факторы влияния: персонал, методы/технологии, оборудование, материалы, окружающая среда [1]. Обычно каждому из факторов присваивается коэффициент значимости, по убыванию которого и учитывается их влияние.

Вариант диаграммы Ишикавы представлен на рисунке.

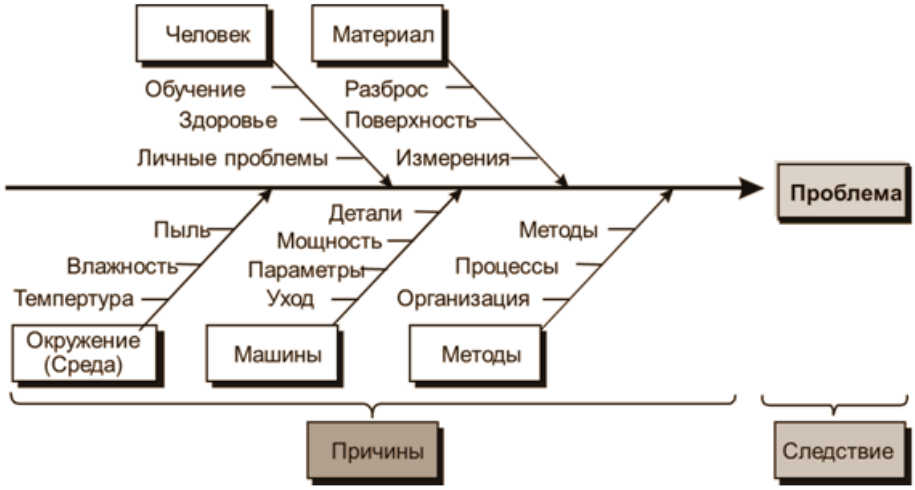


Рисунок. Диаграмма Ишикавы

Для АО эффективным инструментом БП является система 5С, состоящая из пяти шагов рациональной организации рабочего места. Шаг 1 – Сортируйте. Первый шаг внедрения – проведение генеральной уборки и отсортировки необходимого инвентаря и оборудования по частоте использования, все неиспользуемые предметы убираются в карантин. Шаг 2 – Соблюдайте порядок. Этот шаг заключается в рациональном расположении и организации хранения средств производства по принципу «легко найти, легко взять, легко вернуть на предназначенное место любому сотруднику». Шаг 3 – Содержите в чистоте. Смысл – в поддержании рабочего места в чистоте, в подготовленном к работе состоянии. Шаг 4 – Стандартизуйте. Процедуры предыдущих этапов визуализируются и закрепляются в оформленном стандарте. Шаг 5 – Совершенствуйте – заключается в регулярном пересмотре и совершенствовании созданного стандарта [1].

В бережливом подходе к деятельности АО следует уделять внимание равномерному распределению обязанностей между фармацевтическими работниками. На рабочих местах надлежит соблюдать чистоту и порядок, согласно принципам системы 5С. С помощью инструментов БП, таких как, картирование ПСЦ и диаграмма «Спагетти» можно оценить удобство расположения ЛП, часто используемые препараты сгруппировать и расположить ближе к рабочему месту, вместо традиционного расположения товаров. Применение инструментов БП позволит снизить временные потери при обслуживании населения, а также снизить нагрузку на сотрудников, избавляя их от лишних движений. Согласно идеологии БП необходимо производить регулярные инвентаризации ЛП, чтобы избегать излишних запасов, которые несут за собой другие виды скрытых потерь [4].

Примером успешного внедрения концепции БП в работу АО может являться упомянутое АО «Губернские аптеки». За полгода работы команды ФЦК были решены проблемы несвоевременной и некачественной отгрузки товара со склада, высокой себестоимости обработки заказов. Благодаря стандартизации процессов время доставки товаров до любой из аптек сети уменьшилось с 45 до 21 минуты. Уровень незавершенного производства уменьшился с 423 до 48 штук (на 88%). Объем производства увеличился на 35 %: с 562 до 763 штук на человека в день [3].

Положительный опыт использования инструментов БП имеет также крупная государственная аптечная сеть ГП «Калугафармация». По итогам первых трёх месяцев реализации нацпроекта на предприятии на 12 часов сократилось время приемки товаров. Также на базе аптечной сети действует единственное производственное подразделение, которое изготавливает лекарственные препараты по индивидуальным рецептам и доставляет их в любую аптеку компании. Эксперты РЦК помогают компании оптимизировать рабочие процессы и стандартизировать их. Непрерывно улучшаются условия труда за счёт внедрения инструментов системы БП, а также за счёт обучения сотрудников [4].

Таким образом, наглядно показана необходимость внедрения концепции БП как для крупных фармацевтических предприятий, так и для АО розничной торговли. К актуальным инструментам БП в АО можно отнести картирование ПСЦ, диаграмма «Спагетти», стандартизированная работа и 5С. Результатом успешного применения данных инструментов БП будет являться значительное улучшение качества обслуживания населения, снижение издержек, повышение производительности труда и уменьшение избыточной нагрузки на сотрудников АО.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Основы бережливого производства // Федеральный центр компетенций в сфере производительности труда. 2019. С. 1-45.

2. Приказ Минздрава России от 31.08.2016 N 647н «Об утверждении Правил надлежащей аптечной практики лекарственных препаратов для медицинского применения» URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_210618/

3. Герасимова И.В., Юшкова Л.В. Разработка конкурентной стратегии развития государственного предприятия Красноярского Края «Губернские аптеки» // Современные проблемы экономического и социального развития. 2010. N 6. С. 23-24.

4. Балашова Е.С. Громова Е.А. Бережливое производство в Российской промышленности как инновационная стратегия развития // Инновационная наука. 2015. N 8. С. 12-14.

5. Warnecke H.J., Hüser M. Lean production // International journal of production economics. 1995. Vol. 41(1-3). P. 37-43.

6. Hampson I. Lean production and the Toyota production system or, the case of the forgoften production concepts // Economic and industrial democracy. 1999. N 3. C. 369-391.

7. Shah R., Ward P.T. Defining and developing measures of lean production // Journal of Operations Management. 2007. Vol. 25(4) C. 785–805.

SUMMARY

TOOLS OF LEAN PRODUCTION IN PHARMACEUTICAL PRACTICE

Zayats E.S., 4th year student
Academic advise: **Zolotareva N.G.,** Ph.D. farm. Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation

The concept of lean production, its goals, objectives and main tools have been studied. The national goals and strategic objectives of the development of the Russian Federation to increase labor productivity, as well as the possibilities and experience of introducing lean manufacturing into the activities of pharmacy organizations are analyzed.

Keywords: *lean production, labor productivity, production losses, pharmaceutical activity, pharmacy organization.*

REFERENCES

1. Osnovy berezhlivogo proizvodstva // Federal'nyj centr kompetencij v sfere proizvoditel'nosti truda. 2019. P. 1-45. (in Russian)

2. Prikaz Minzdrava Rossii ot 31.08.2016 N 647n «Ob utverzhdenii Pravil nadlezhashhej aptechnoj praktiki lekarstvennyh preparatov dlja medicinskogo primenenija». URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_210618/ . (in Russian)

3. Gerasimova I.V., Jushkova L.V. Razrabotka konkurentnoj strategii razvitija gosudarstvennogo predprijatija Krasnojarskogo Kraja «Gubernskie apteki» // Sovremennye problemy jekonomicheskogo i social'nogo razvitija. 2010. N 6. P. 23-24. (in Russian)

4. Balashova E.S., Gromova E.A. Berezhlivoe proizvodstvo v Rossijskoj promyshlennosti kak innovacionnaja strategija razvitija // Innovacionnaja nauka. 2015. N 8. P. 12-14. (in Russian)

5. Warnecke H.J., Hüser M. Lean production // International journal of production economics. 1995. Vol. 41(1-3). P. 37-43.

6. Hampson I. Lean production and the Toyota production system or, the case of the forgoften production concepts // Economic and industrial democracy. 1999. N 3. C. 369-391.

7. Shah R., Ward P.T. Defining and developing measures of lean production // Journal of Operations Management. 2007. Vol. 25(4) C. 785–805.

УДК 339.138

ВНЕДРЕНИЕ DIGITAL-ИНСТРУМЕНТОВ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ МАРКЕТИНГ ПОД ВЛИЯНИЕМ COVID-19

Зеленина Д.Д., студ. 3 курса (ORCID: 0000-0003-1976-0694),
Копылова Д.А., студ. 3 курса (ORCID: 0000-0002-6187-193X)
Руководитель: **Халимова А.А.**, ст. преподаватель каф. экономики и управления.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: darya.zelenina@spcpu.ru

Основной целью работы было изучение тенденций в digital-продвижении лекарственных препаратов и БАДов на фоне пандемии. Осуществлен анализ внедрения digital-инструментов в фармацевтический маркетинг. Оценено влияние новой коронавирусной инфекции на увеличение инвестиций фармацевтических компаний в digital. Проведен опрос по вопросам использования Интернета и, в частности, социальных сетей для получения информации о лекарственных препаратах и БАДах. По результатам опроса сделаны выводы о важности использования социальных сетей и нативной рекламы для продвижения продукции. Огромную роль при принятии решения о покупке для потребителя играют отзывы в Интернете, поэтому компаниям необходимо изучать их и модерировать информационное поле.

Ключевые слова: *российский фармацевтический рынок, фармацевтический маркетинг, продвижение лекарственных препаратов, Интернет, социальные сети.*

Медиа-инвестиции рекламодателей отражают приоритеты интереса использования потребителями инструментов продвижения. Поэтому на фоне все более широкого использования Интернета выросли и затраты на рекламу, инвестиции в цифровые технологии, то есть в digital. Так, по данным опроса WEB Index, с февраля по ноябрь 2020 года в России в среднем 95,6 млн человек пользовались Интернетом хотя бы раз в месяц, что составляет 78,1% населения страны старше 12 лет [5]. Интернет становится неотъемлемой частью повседневной жизни, заменяя другие медиаканалы, такие как телевидение или рекламные баннеры. В результате эти инструменты оказывают все меньше влияния на потребителя, чем Интернет, что приводит к сокращению затрат на них. Коронавирусная инфекция становится решающим толчком для развития фармацевтических компаний в digital-направлении, активно применяя все возможности, предоставляемые Интернетом.

Цель работы: изучение тенденций среди применяемых digital-инструментов продвижения фармацевтической продукции на российском фармацевтическом рынке на фоне пандемии COVID-19.

Задачи работы: изучить современные методы продвижения и тенденции их изменений на фармацевтическом рынке и в целом на рынке; оценить влияние проникновения Интернета в маркетинг под воздействием COVID-19; рассмотреть реальные приемы и примеры фармацевтических компаний по использованию digital-инструментов; провести опрос среди широкого круга населения для оценки эффективности маркетинговых шагов в разрезе различного возраста и пола опрашиваемых; сделать выводы о трендах и перспективах использования различных социальных сетей и данные e-commerce на фармацевтическом рынке.

Общую тенденцию развития современных медиаканалов поддерживает и фармацевтическая отрасль, которая в последние годы значительно увеличила инвестиции в цифровые технологии. Digital продолжает развиваться, открывая большие возможности, постоянно появляются новые инструменты и совершенствуются уже используемые, что особенно актуально для фарминдустрии, учитывая специфику и ограничения маркетинга в этой отрасли. Именно digital позволяет выявлять узкие сегменты целевой аудитории и выстраивать долгосрочные партнерские и трансверсальные коммуникации.

Следует отметить, что маркетинг в фарминдустрии имеет ряд специфических характеристик, к которым относятся высокая роль посредников, вовлеченных в процесс продаж (врачей, дистрибьюторов, фармацевтов), значительное государственное регулирование, наличие лидеров мнений (врачей), разделение рынка на оригинальные препараты и дженерики, а также дифференциация на два основных сегмента – рецептурные (Rx) и безрецептурные (OTC) препараты [1].

Эпидемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19) сломала старый уклад маркетинга фармацевтических компаний. В условиях пандемии, из-за невозможности организации очных встреч с медицинскими представителями, фарминдустрия активно перестраивается на новый формат, при возможности перенося маркетинговые встречи в виртуальное пространство и переходя к digital-коммуникациям.

В 2019 году доля визитов медицинских представителей в каналы продвижения лекарственных средств среди врачей фармацевтических компаний снизилась до 83% по сравнению с 89% в 2016 году; при этом доля digital выросла до 9% по всем каналам. Большая часть цифровой активности пришлась на электронные и СМС-рассылки – 83%, удаленные визиты – 11% и онлайн-семинары – 6% (рис. 1).

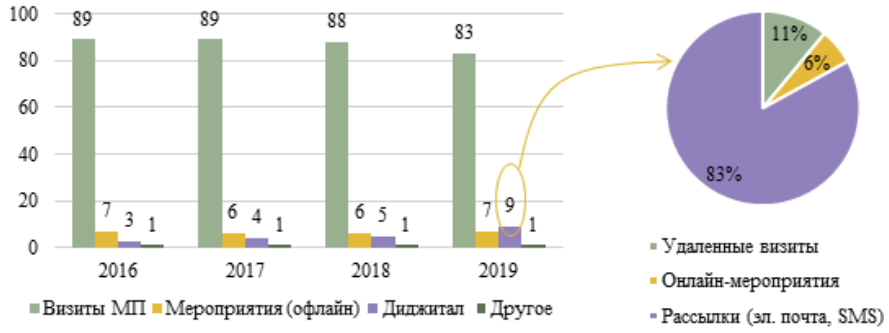


Рисунок 1. Структура каналов продвижения фармацевтической продукции в 2016–2019 гг. [1]

В связи с этим маркетинговый бюджет фармкомпаний делился на три части:

– финансирование медицинских представителей, работающих с врачами и работниками аптек;

– финансирование продвижения в аптеках (возвратные комиссии, образовательные программы, скидки и программы лояльности);

– финансирование традиционных каналов (преимущественно телевидение).

Сумма затрат на продвижение лекарственных препаратов в России составляет примерно 15–20% от всего рынка лекарственных средств, что в денежном выражении равно более 200 млрд руб. (по курсу 2021 года). Из них на финансирование медицинских представителей выделяется около 40%, но на фоне пандемии их работа оказалась невостребованной [2].

В целях снижения заболеваемости и темпов распространения коронавирусной инфекции (COVID-19) в марте 2020 г. были введены антиковидные меры, что в первую очередь ограничило возможность работы медицинских представителей. Однако цифровые технологии и в этом случае являются наилучшим решением. Возможность удаленной работы позволяет оставаться функциональным без привязки к рабочему месту, уменьшает временные затраты на транспорт и делает возможным сохранение санитарно-эпидемиологического благополучия сотрудника.

Общей тенденции подчиняется и российский аптечный сегмент, наращивающий расходы на Интернет-рекламу (в первом квартале 2020 г. составили 66%). В частности, сети Аптека.ру и Здрав-сити зафиксировали очень высокий рост расходов на контекстную рекламу (в четыре раза за квартал). Другие игроки значительно увеличили бюджет на таргетированную рекламу в социальных сетях (36,6 и АСНА). Все аптечные сети повысили активность по работе с базой данных CRM (Customer Relationship Management) (рост активности примерно в 2-3 раза по сравнению с первым кварталом 2019 года). Также многие участники аптечного сегмента изменили стратегию собственного появления в digital-пространстве и значительно увеличили инвестиции в имиджевое продвижение (баннеры и онлайн-ролики). Например, сети «Горздрав», «АСНА», «еАптека» и «Аптека Живика» увеличили вложения только в онлайн-видео, а сеть «Здрав-сити» увеличила вложения в баннерную и видеорекламу (в 3 и 4 раза соответственно по сравнению с аналогичным периодом предыдущего года).

В последнее время затраты на рекламу становятся все больше, и она начинает окружать человека буквально со всех сторон. По этой причине, было решено провести опрос среди потенциальных потребителей лекарственных средств и БАДов различного возраста (от 18 и старше) и проанализировать результаты. Был составлен опросник, который содержал вопросы об отношении к рекламе потребителя, предпочтениях в социальных сетях, о формате рекламы и доверии к различным формам рекламы. Респондентами стали 145 человек, среди которых было 50,3% в возрасте от 18 до 24 лет, 14,5% от 25 до 34 лет, 13,1 % – от 35 до 44 лет, по 9% от 45 до 55 и старше 65 лет. Большую часть респондентов составили женщины (71,7%). В результате удалось выяснить, что значительная часть опрошенных не обращает внимания на такой популярный digital-инструмент, как контекстная реклама – реклама, которая подбирается на основе истории пользователя в Интернете (рис. 2.).

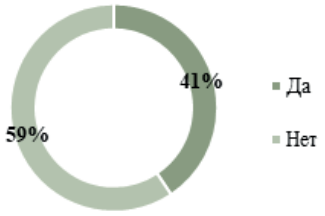


Рисунок 2. Внимание на контекстную рекламу

Изменения в продвижении произошли и за пределами аптечного сегмента. Фармпроизводители увеличили расходы на Интернет-рекламу на 42% в первом квартале 2020 года. Например, бренды «Корвалол фито» (ОАО «Фармстандарт») и «Юнивит» (ОАО «Отисифарм»), имевшие очень низкие затраты на продвижение в 2019 году, вошли в ТОП-50 в I квартале 2020 года по затратам на Интернет-рекламу в фармацевтической отрасли в целом.

В целом затраты на цифровую рекламу на продвижение 125 площадок от 21 рекламодателя в первом квартале 2020 года составили около 1 млрд рублей (на 54% больше, чем в первом квартале 2019 года), из них 382 млн в марте 2020 года (на 59 % больше, чем годом ранее).

В наше время digital востребован как никогда, не только из-за обострившейся ситуации с новой коронавирусной инфекцией, но и вследствие общего повышения интереса потребителей к сфере Интернета и медиа-пространству. Это всё подтолкнуло производителей обратить внимание на digital-маркетинг и искать иные пути повышения продаж в новых условиях.

Рисунок 3. Исследования Гарвардской школы бизнеса, BrightLocal, Nielsen, Blockthrough, Deloitte & Touche Agency

Исходя из приведенных исследований (рис. 3), почти 100% людей перед покупкой обязательно интересуются мнением о товаре или услуге, планируемых к приобретению. По результатам проведенного авторами статьи опроса, в России отзывами перед покупкой интересуется более 93% опрошенных. Также, по данным опроса, (рис. 4) бóльший уровень доверия у потребителей разного возраста основан на человеческом факторе, то есть на рекламе в виде отзывов людей в Интернете и рекомендациях знакомых, а информации с сайта производителя, различным видам реклам и рассылкам доверяют меньше.

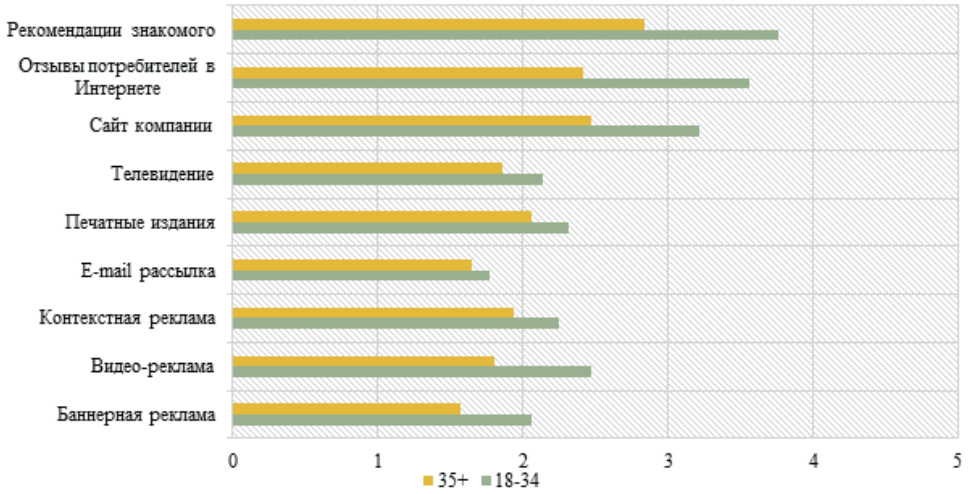


Рисунок 4. Уровень доверия к рекламе среди опрошенных

В связи с этим компаниям необходимо поддерживать хороший имидж в трех направлениях: в социальных сетях, на маркетплейсах и аптеках, на сайтах отзывов. Работа должна проводиться на всех возможных путях пересечения покупателя и бренда.

В таком случае компания ставит перед собой следующие цели:

о повышение узнаваемости бренда;

о создание позитивного инфополя;

о снижение доли негатива в обсуждениях;

о позитивная поисковая выдача в Яндекс и Google, как в наиболее популярных поисковиках.

Улучшение имиджа и повышение уровня доверия через узнаваемость приведет к увеличению продаж. ORM (Online Reputation Marketing) и методы улучшения имиджа:

– агенты влияния (работа с отзывами и упоминаниями компании в соц. пространстве);

– мониторинг социальных медиа в любых форматах;

– построение позитивной поисковой выдачи, удаление негативных отзывов;

– видеоотзывы (разъяснение правильного использования препарата);
– нативная реклама (нативные статьи без пометки «реклама»).

Отследить работу с отзывами и поисковой выдачей не представляется возможным, а использование видеоблогеров не так популярно. В повседневной жизни, проводя по несколько часов в социальных сетях, чаще всего мы сталкиваемся именно с нативной рекламой. Действительно, по данным опроса, проведенного авторами статьи, 56% респондентов от 18 до 34 лет и 76% старше 35 лет не доверяют ни лекарственным препаратам, ни БАДам на маркетплейсах.

Во время начала пандемии компания начала активно вести аккаунт в Instagram. Это хорошо подходящая платформа для наукоемкого препарата, так как позволяет преподносить информацию потенциальным покупателям в удобной для них форме.

Использование данной социальной сети – грамотный стратегический шаг для привлечения аудитории. Популярность Instagram транслируется через следующие цифры опроса (рис. 5):

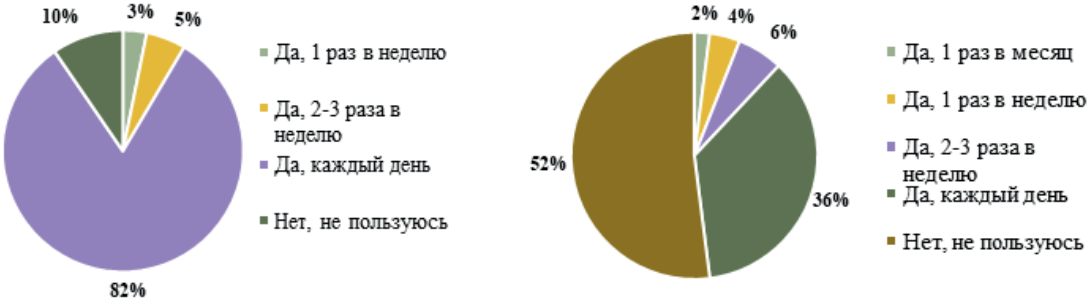


Рисунок 5. Использование Instagram людьми 18-34 лет (слева) и старше 35 лет (справа)

Исходя из мнения респондентов об использовании Instagram, можем заметить, что больше 80% людей в возрастном диапазоне 18-34 каждый день пользуются данной платформой. Из опрошенных в возрасте старше 35 почти половина пользуется Instagram в принципе, а 36% делают это каждый день. Однако Instagram удобен как личный блог, а возможность использования в качестве корпоративного аккаунта не предусмотрена, нельзя продавать через это приложение, то есть это инструмент для продвижения, но не для продаж.

Ещё одним каналом продвижения биологически активных добавок стал Яндекс.Дзен. Доверие к Дзену достаточно высокое, и это экспертное мнение позволяет продемонстрировать продукт и его отдельные составляющие.

Активность пользователей Интернета в такой платформе как Яндекс.Дзен менее велика, о чем свидетельствуют данные проведенного опроса (рис. 6):

Рисунок 6. Использование Яндекс.Дзен людьми 18-34 лет (слева) и старше 35 лет (справа)

61% опрошенных от 18 до 34 вообще не используют данную платформу, а лишь 4% делают это каждый день. Респонденты старше 35 лет также не проявляют высокой активности в использовании Дзена, но 50% респондентов из этой категории пользуются платформой, хоть и редко. Малая популярность Яндекс.Дзена может быть вызвана тем, что данная платформа довольно молода и пользователи с недоверием относятся к новинке.

Однако именно Яндекс.Дзен позволяет обеспечить необходимый формат лонгрида, чего не может предоставить Instagram. Лонгрид (англ. longread; long read — букв. «долгое чтение») — формат подачи журналистских материалов в интернете. Его спецификой является большое количество текста, разбитого на части с помощью различных мультимедийных элементов: фотографий, видео, инфографики и прочих, он также позволяет читателю преодолеть «информационный шум» и полностью погрузиться в тему.

Активная работа с платформами Instagram и Яндекс.Дзен позволила компании добиться следующих результатов:
+ 113% – sell-out
+ 120% – брендовые запросы
+ 46% – конверсий (клик в кнопку «где купить?»)

Такие высокие показатели доказывают правильность выбранных платформ для продвижения компанией своей продукции.

Аналогичный путь продвижения можно предложить использовать и производителям фармацевтической продукции. Активное участие в интернет-пространстве и социальных сетях повысит узнаваемость бренда и уровень доверия к нему. К тому же, больше половины респондентов на вопрос: «Интересно ли Вам читать информацию о лекарственных препаратах, БАДах и их компонентах, изложенную доступным языком, на таких платформах как Instagram и Яндекс.Дзен?», ответили утвердительно (рис. 7).

Рисунок 7. Интерес к информации о ЛП, БАДах и их компонентах

Однако только решением проблем имиджа и узнаваемости digital не ограничивается. Он позволяет избежать обобщения целевой аудитории в рекламе и потери потенциальной аудитории, а также персонализировать рекламу под различные интересы групп внутри целевой аудитории.

Узнать свою целевую аудиторию до старта рекламной компании позволит предварительное ее портретирование на базе телеком-операторов и основных ОФД.

Опять же в рамках одного из кейсов на DIGITALPHARMA2021 был приведен пример precision-таргетинга и его результативность. Данный кейс был разработан для энтеросорбента с целевой аудиторией – женщины 24-45 лет.

В ходе портретирования удалось выявить следующее:

о наибольшее количество покупок из всей аудитории совершали женщины в возрасте 34-45, на втором месте по показателю – мужчины 25-34 лет;

о наибольшее количество покупок из всей аудитории после взаимодействия с рекламой пришлось на аудиторию с доходом ниже среднего;

о ВКонтакте, Одноклассиники (ОК) и Facebook+Instagram – наиболее популярные социальные сети среди целевой аудитории;

о целевая аудитория по интересам делится на 5 групп: приверженцы ЗОЖ, мамы, путешественники за рубежом, любители алкоголя и любители фастфуда.

Разрез социальных сетей необходим, чтобы убедится, что площадка MyTarget подходит для размещения рекламы, в ее состав входят ВКонтакте и сеть Одноклассники, что позволяет обеспечить достаточное перекрытие аудитории рекламой.

В соответствии с интересами целевой аудитории, было создано 5 персональных рекламных обращений. Людей в разные группы идентифицировали на основании СМС о транзакциях из тренажерных залов, заведений фастфуда, из магазинов игрушек, алкомаркетов и баров, исходя из роуминга, посещении сайтов по покупке билетов для путешествий на основании использования специальных приложений для тренировок.

Персонализированный подход к рекламе позволил повысить объем продаж по сравнению с классическим подходом к рекламе за счет сегментации аудитории и индивидуального подхода к каждой группе.

Заключение. Несмотря на существующие сложности с регулированием рекламы и регулированием рынка лекарственных препаратов и БАДов в целом, digital-маркетинг набирает обороты – движущей силой этого развития можно назвать и COVID-19, и периодическое вынужденное введение локдаунов, а также все более массовое использование рекламы конкурентами. Трендом последних лет, в том числе и из-за пандемии, становится переход к интернет-общению не только в личной жизни, но в работе, коммуникация посредством электронной почты, мессенджеров или социальных сетей, с которыми современный человек практически не расстаётся. Это позволяет расширять горизонты влияния и внедрения digital, в том числе и в фармацевтической отрасли. Российский фармацевтический рынок не стоит на месте и активно переводит рекламу в цифровой формат, следуя общемировым тенденциям. Сфера digital не нова, а новая коронавирусная инфекция стала катализатором бурного внедрения.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

06.00.00 Экономика и экономические науки

06.81.55 Сбыт продукции, маркетинг

ЛИТЕРАТУРА

1. Ефимова Е.А. Роль DIGITAL-инструментов при выводе на рынок новых фармацевтических брендов //Практический маркетинг. 2018. N 1. С. 30–40.

2. Поверинов А.И., Кунев С.В Диджитал-инструменты фармацевтического продвижения в условиях пандемии // Фундаментальные исследования. 2020. N 7. С. 85–89.

3. Влияние цифровизации на развитие фармацевтической промышленности / А.И. Кривцов [и др.] // Интеллект. Инновации. Инвестиции. 2019. N 3. С. 19–26.

4. Новые инсайты о российском покупателе // The Nielsen Company. [Электронный ресурс]. URL: www.nielsen.com/ru/ru/insights/video/2019/novye-insayty-o-rossiyskom-pokupatele/. (Дата обращения: 10.11.2021).

5. Аудитория интернета в России. // Media scope WEBIndex. [Электронный ресурс] URL: https://webindex.mediascope.net/. (Дата обращения: 10.11.2021)

SUMMARY

INTRODUCING DIGITAL TOOLS TO PHARMACEUTICAL MARKETING DUE TO COVID-19

Zelenina D.D., ORCID: 0000-0003-1976-0694, 3rd year student,
Kopylova D.A., ORCID: 0000-0002-6187-193X, 3rd year student
Academic advise: **Khalimova A.A.**, Assistant Professor of the Department of Economics and Management
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: darya.zelenina@spcpu.ru

The main purpose of the work was to study trends in the digital promotion of medicines and nutritional supplements against the backdrop of the pandemic. An analysis of the implementation of digital tools in pharmaceutical marketing was carried out. The impact of the new coronavirus infection on the increase of pharmaceutical companies' investments in digital was assessed. A survey on the use of the Internet and, in particular, social networks to obtain information about medicines and dietary supplements was conducted. Based on the results of the survey, conclusions were made about the importance of using social media and native advertising to promote products. Feedback on the Internet plays a huge role in the purchasing decision for consumers, so companies need to study them and moderate the information field.

Keywords: *Russian pharmaceutical market, pharmaceutical marketing, drug promotion, Internet, social networks.*

REFERENCES

1. Efimova E.A., The role of DIGITAL tools in bringing new pharmaceutical brands to the market // Prakticheskij marketing. 2018 N 1. P. 30-40 (in Russian).

2. Poverinov A.I., Kunev S.V. Digital-tools of pharmaceutical promotion in a pandemic // Fundamental'nye issledovani. 2020. N 7. P. 85-89. (in Russian).

3. The impact of digitalization on the development of the pharmaceutical industry / A.I. Krivtsov [et al.] // Intellekt. Innovacii. Investicii. 2019. N 3. P. 19-26 (in Russian).

4. New insights about the Russian buyer // The Nielsen Company. [Internet] URL: www.nielsen.com/ru/ru/insights/video/2019/novye-insayty-o-rossiyskom-pokupatele/. (Accessed:10.11.2021). (in Russian).

5. The Internet audience in Russia // Media scope WEBIndex. Available. [Internet]. URL: https://webindex.mediascope.net/. (Accessed:10.11.2021).

УДК 61.614.2

АНАЛИЗ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКИХ ТАРГЕТНЫМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

Зеликова Д.Д., студ. 3 курса (ORCID: 0000-0002-2776-3222)
Юрочкин Д.С., младший научный сотрудник лаборатории регуляторных отношений и надлежащих практик (ORCID: 0000-0003-4609-0155),
Лешкевич А.А., младший научный сотрудник лаборатории регуляторных отношений и надлежащих практик (ORCID: 0000-0002-8160-5401).
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: darya.zelikova@spcpu.ru

В настоящей работе проведен анализ соответствия проводимых молекулярно-генетических тестирований закупке таргетных лекарственных препаратов (далее – ЛП), применяющихся для лечения немелкоклеточного рака легких (далее – НМРЛ) с мутацией в гене EGFR у пациентов, проживающих на территории Санкт-Петербурга, за 2018-2020 гг. В ходе исследования было выявлено, что 44% пациента остаются необеспеченными необходимыми таргетными препаратами.

Ключевые слова: *рак легких, мутация EGFR, таргетные препараты, противоопухолевые препараты, лекарственное обеспечение.*

Введение и актуальность исследования

По данным агенства GLOBOCAN, рак легких является одним из самых распространенных злокачественных новообразований (11,6% от общего числа случаев) и занимает первое место в структуре смертности от онкологических за-

болеваний (18,6%) [1]. Одной из основных проблем является несвоевременная диагностика из-за которой происходит снижение эффективности терапии различных подтипов рака, которая требует использование направленных (таргетных) препаратов.

По гистологической классификации рак легких подразделяется на мелкоклеточный (15%) и немелкоклеточный (85%), который в свою очередь включает аденокарциному (30-45%) и плоскоклеточные варианты (25-40%). Аденокарцинома встречается у людей, имеющих активирующую мутацию в гене, кодирующемся рецептором эпидермального фактора роста – EGFR [2]. В ходе исследований было выявлено, что данный подтип немелкоклеточного рака легких встречается у 19,8% пациентов, проживающих на территории Санкт-Петербурга [3].

С появлением таргетных препаратов стандартная химиотерапия была вытеснена более эффективной прецизионной, которая снижает количество побочных эффектов и направленно воздействует на опухолевую «мишень». Согласно клиническим рекомендациям от 2021 года «Злокачественное новообразование бронхов и легкого», разработанными «Ассоциацией онкологов России» и «Российским обществом клинической онкологии», для лечения НМРЛ с мутацией EGFR применяются следующие таргетные препараты: гефитиниб, эрлотиниб, афатиниб и осимертиниб [4]. Назначению данных препаратов предшествует проведение молекулярно-генетических тестирований для обоснованного назначения ЛП.

Целью данного исследования являлось проведение всестороннего анализа, позволяющего определить зависимость проведенных диагностических исследований и назначенных таргетных лекарственных препаратов на примере оказания медицинской помощи при немелкоклеточном раке легких с мутацией в гене EGFR в Санкт-Петербурге.

Задачи:

- проведение анализа заболеваемости пациентов с немелкоклеточным раком легких с мутацией в гене EGFR;
- исследование рынка лекарственных препаратов и молекулярных тест-систем в Санкт-Петербурге;
- формирование предложений по совершенствованию порядка лекарственного обеспечения при онкологических заболеваниях.

Материалы и методы

В работе использованы методы статистического, структурно-логического и сравнительного анализа.

Информационную базу исследования для анализа фармацевтического рынка составили аудиты и аналитические базы данных Alpha RM [5] в разрезе динамики обеспечения граждан противоопухолевыми ЛП за счет бюджетных средств всех уровней на территории Санкт-Петербурга в период с 2018 по 2020 гг., отчеты RUSSCO, данные Единой информационной системы в сфере закупок, клинические рекомендации, а также нормативные правовые акты.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием MS Excel 2019.

Результаты и обсуждение

В соответствии с паспортом национального проекта «Здравоохранение» [6] и паспортом федерального проекта «Борьба с онкологическими заболеваниями» [7] одним из основных приоритетов развития здравоохранения является реализация программ по борьбе с онкологическими заболеваниями, направленными на профилактику, раннее выявление заболевания и эффективное лечение. Стоит отметить, что осуществление данных программ зависит от финансового благополучия региона, в связи с чем наблюдается отток пациентов в регионы с профицитными бюджетами.

Согласно статистическим данным [8], в 2020 году снизилось количество нововыявленных случаев заболевания НМРЛ с мутацией EGFR (с 172 и 177 человек в 2018 и 2019 году соответственно до 131 человека в 2020 году), что связано с уменьшением количества обращений пациентов в онкологические центры, в связи с распространением пандемии COVID-19, которая привела к установлению ограничений на посещение медицинских учреждений.

Таргетными препаратами, применяющимися для терапии НМРЛ EGFR+ согласно клиническим рекомендациям «Злокачественное новообразование бронхов и легкого» [4], являются: осимертиниб (дата регистрации: 18.10.2017), гефитиниб (дата регистрации: 20.05.2019), эрлотиниб (дата регистрации: 27.08.2010), афатиниб (дата регистрации: 11.10.2013) [9]. Стоит отметить, что из перечисленных препаратов только осимертиниб и афатиниб являются оригинальными и не имеют воспроизведенных ЛП. Эрлотиниб в отличии от других перечисленных препаратов является не только ингибитором EGFR, но и HER1, поэтому может использоваться при терапии рака поджелудочной железы в комплексе с другими препаратами.

Обеспечение противоопухолевыми ЛП для лечения НМРЛ EGFR+ граждан, проживающих на территории СПб, за период 2018-2019 г. увеличилось на 56% в стоимостном выражении, что связано с началом реализации распоряжения Правительства Санкт-Петербурга от 28 июня 2019 г. N 21-рп (ред. от 30 октября 2019 г.) «Об утверждении Региональной программы Санкт-Петербурга «Борьба с онкологическими заболеваниями» на 2019-2024 годы», направленной на повышение доступности и эффективности оказываемой помощи при онкологических заболеваниях [10]. По итогам 2019-2020 года доля закупки препаратов за счет средств регионального бюджета составляет практически всю часть закупки по сравнению с 2018 годом (с 16 млн.руб. в 2018 до 223 млн.руб. и 163 млн.руб. в 2019 и 2020 году соответственно) (рис. 1).

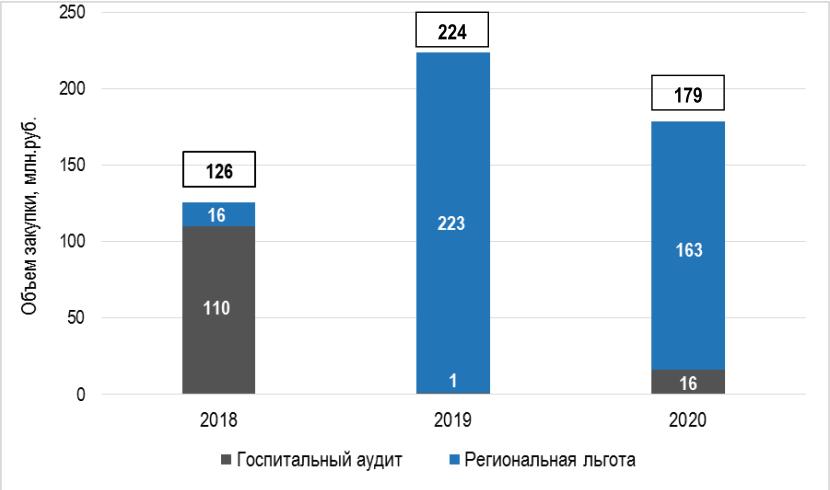


Рисунок 1. Динамика обеспечения граждан противоопухолевыми ЛП против НМРЛ EGFR+ за счет бюджетных средств всех уровней в Санкт-Петербурге за период 2018-2020 год, млн руб.

В 2020 году объем закупок таргетных препаратов для лечения НМРЛ EGFR+ достиг 179 млн. рублей и 892 упаковок, что соответствует снижению на 28% в стоимостном и 50% в натуральном выражении. Сокращение обеспечения пациентов скорее всего связано с введением эпидемиологических мер по противодействию новой коронавирусной инфекции, что привело к уменьшению расходования регионального бюджета на обеспечение онкологических пациентов.

Наибольшую долю от общего объема закупки таргетных препаратов в 2020 году имеет осимертиниб (59,3% в упаковках, 81,4% в рублях). Так как препараты гефитиниб и эрлотиниб несмотря на наличие в клинических рекомендациях считаются устаревшими и менее эффективными, в регионе закупается более дорогостоящий препарат, цена которого в 3 раза больше, чем у других таргетных ЛП, применяющихся для лечения НМРЛ EGFR+. Такая цена приводит к понижению доступности направленной лекарственной терапии для пациентов, а также к дефициту используемого регионом бюджета.

С 2011 года обеспечением проведения молекулярно-генетического тестирования для определения мутации EGFR занималось Российское общество клинической онкологии (RUSSCO). В 2019 году в тарифы ОМС был введен новый норматив на осуществление диагностического исследования с целью выявлению мутации EGFR, который составил 5500 рублей. Таким образом, за период 2018-2020 гг. количество тестирований, проводимых в лечебно-профилактических учреждениях Санкт-Петербурга, монотонно увеличивалось в 2 раза (с 101 и 217 тестирования в 2018 и 2019 году соответственно до 480 в 2020 году), однако 50% тестирований все еще проводится за счет RUSSCO, что говорит о дефиците выделяемого бюджета на определение мутации EGFR [11].

Учитывая, что 17% тестирований оказывается положительными, было рассчитано количество пациентов с выявленной мутацией, которые нуждаются в таргетных препаратах – 564 человека. Общая закупка таргетных препаратов с учетом длительности приема обеспечивает только 313 человек, что не соответствует количеству положительных тестирований на 44%. Таким образом, часть пациентов с положительным диагнозом остаются необеспеченными необходимыми лекарственными препаратами.

Заключение

В результате проведенного анализа было выявлено, что за период 2018-2020 гг. ежегодно 20-45% пациентов остается необеспеченными эффективной лекарственной терапией. С учетом того, что рынок противоопухолевых препаратов продолжает активно развиваться и появляется все больше таргетных препаратов, необходимо создание единых подходов к лекарственному обеспечению, способствующих рациональному использованию бюджетов всех уровней.

Повышение эффективности лекарственного обеспечения пациентов может осуществляться за счет внедрения в Единую государственную информационную систему в сфере здравоохранения новой подсистемы, которая будет осуществлять принятие решений в области задач по прогнозированию и планированию расходов на лекарственные препараты и молекулярно-генетические тест-системы на основе анализа реальной потребности пациентов в ЛП с учетом обезличенных данных пациентов, а также создания единого механизма формирования заявок для обеспечения льготных категорий граждан.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.01.11 Современное состояние и перспективы развития (медицина и здравоохранение)

ЛИТЕРАТУРА

1. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray [et al.] // CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2018. Vol. 68(6). P. 394-424.

2. Мутации EGFR и KRAS, важные для таргетной терапии немелкоклеточного рака легкого / Н.Н. Мазуренко [и др.] // Молекулярная медицина. 2013. N 6. С. 55-59.

3. Моисеенко В.М. Новые алгоритмы терапии и передовая практика: лечение пациентов с приобретенной резистентностью к итк EGFR. // Эффективная фармакотерапия. 2018. N 5. С. 46-48.

4. Клинические рекомендации «Злокачественное новообразование бронхов и легкого» утв. 2020 Министерством здравоохранения РФ

5. AlphaRM. Alpha research& marketing [Электронный ресурс]. URL: https://alpharm.ru/ru

6. Паспорт национального проекта «Здравоохранение» (утв. президиумом Совета при Президенте Российской Федерации по стратегическому развитию и национальным проектам, протокол от 24 декабря 2018 г. N 16).

7. Паспорт федерального проекта «Борьба с онкологическими заболеваниями», приложение к протоколу заседания проектного комитета по национальному проекту «Здравоохранение» от 14 декабря 2018 г. N 3.

8. Комитет по здравоохранению Санкт-Петербурга. [Электронный ресурс] URL: http://zdrav.spb.ru/ru/. (Дата обращения: 20.02.2022)

9. Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. [Электронный доступ]. URL: http://grls.rosminzdrav.ru/. (Дата обращения: 22.02.2022)

10. Распоряжение Правительства Санкт-Петербурга от 28 июня 2019 г. N 21-рп (ред. от 31 мая 2021 г.) «Об утверждении Региональной программы Санкт-Петербурга «Борьба с онкологическими заболеваниями» на 2019-2024 годы». URL: https://docs.cntd.ru/document/560524459. (Дата обращения: 22.02.2022).

11. Итоги реализации Национальной Программы RUSSCO в 2020 «Совершенствование молекулярно-генетической диагностики в Российской Федерации с целью повышения эффективности противоопухолевого лечения». [Электронный доступ]. URL: http://cancergenome.ru/project/reports/1_2020.pdf . (Дата обращения: 04.07.2021).

SUMMARY

ANALYSIS OF PROVISION OF TARGETED DRUGS TO PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Zelikova D.D., 3rd year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197367, Russian Federation

In this paper, an analysis of the compliance of the conducted molecular genetic testing with the purchase of targeted drugs used for the treatment of non-small cell lung cancer with a mutation in the EGFR gene in patients living in St. Petersburg for 2018-2020 was carried out. During the study, it was revealed that 44% of the patient remain unsecured with the necessary targeted drugs.

Keywords: *lung cancer, EGFR mutation, targeted drugs, anticancer drugs, drug provision.*

REFERENCES

1. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray [et al.] // CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2018. Vol. 68(6). P. 394-424.

2. Mutations of EGFR and KRAS, which are important for targeted therapy of lung cancer / N. N. Mazurenko [et al.] / / Molecular medicine. 2013. N 6. P. 55-59. (in Russian)

3. Moiseenko V.M. New therapy algorithms and best practice: treatment of patients with acquired resistance to EGFR TIC. Effective pharmacotherapy. 2018. N 5. P. 46-48. (in Russian)

4. Clinical guidelines «Malignant neoplasm of the bronchi and lung» 2020 Ministry of Health of the Russian Federation. (in Russian)

5. AlphaRM. Alpha research& marketing [Electronic resource]. URL: https://alpharm.ru/ru

6. The passport of the national project «Healthcare» (approved the Presidium of the presidential Council of the Russian Federation for strategic development and national projects, the Protocol of 24 December 2018, N 16). (in Russian)

7. The passport of the Federal project «Fight against cancer», the Appendix to the minutes of the meeting of the project Committee on the national project «Health» of 14 December 2018. N 3. (in Russian)

8. Health Committee of St. Petersburg. [Internet]. URL: http://zdrav.spb.ru/ru /. (Accessed: 20.02.2022). (in Russian)

9. State Register of Medicines of the Russian Federation [Internet]. URL: Available by: http://grls . rosminzdrav.ru /. (Accessed: 22.02.2022). (in Russian)

10. Decree of the Government of St. Petersburg dated June 28, 2019 No. 21-rp (ed. dated May 31, 2021) «On approval of the Regional Program of St. Petersburg «Fight against oncological diseases» for 2019-2024». URL: https://docs.cntd.ru/document/560524459 (Accessed: 22.02.2022). (in Russian).

11. Results of the implementation of the RUSSCO National Program in 2020 «Improvement of molecular genetic diagnostics in the Russian Federation in order to increase the effectiveness of antitumor treatment». [Internet]. URL: http://cancergenome.ru/project/reports/1_2020.pdf (Accessed: 04.07.2021). (in Russian).

УДК 65:658.5

ЦИФРОВАЯ АДАПТАЦИЯ РОССИЙСКИХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЙ: ПРОИЗВОДСТВО – ПРОДВИЖЕНИЕ – РЕАЛИЗАЦИЯ

Иванов Я.М., маг. 1 года обучения
Руководитель: **Угольников В.В.**, кандидат экономических наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ivanov.yaroslav@pharminnotech.com

Стремительное развитие цифровых технологий, рост фармацевтического рынка, появление новых товаров порождает новые запросы и требования к предприятиям. Одним из ответов на эти запросы стала цифровая адаптация фармацевтических предприятий. В статье рассмотрена тенденции в цифровой адаптации фармацевтических компаний и использовании актуальных цифровых инструментов взаимодействия с потребителями.

Ключевые слова: *цифровая адаптация, цифровизация, цифровые технологии, фармацевтическая отрасль, Российская Федерация, инновационное развитие, тенденции цифровизации.*

Активное развитие фармацевтического рынка, появление новых продуктов ставит перед предприятиями новые запросы и требования. Для создания инновационной продукции, оперативных ответов на запросы рынка, а также формирования новых рынков, основанных на использовании информационных и коммуникационных технологий, и обеспечения лидерства на этих рынках за счет эффективного применения знаний, развития российской экосистемы цифровой экономики, в том числе в фармацевтической отрасли [1] требуется применение новых, инновационных технологий и решений во множестве направлений деятельности фармацевтических предприятий. Данная потребность привела к принятию ряда проектов, в числе которых Стратегия инновационного развития Российской Федерации на период до 2020 года, Стратегия развития информационного общества в Российской Федерации на 2017–2030 годы, целью которого является обеспечение национальных интересов в области цифровой экономики, которое, в том числе, может быть достигнуто как за счет «формирования новых рынков, основанных на использовании информационных и коммуникационных технологий, и обеспечения лидерства на этих рынках за счет эффективного применения знаний, развития российской экосистемы цифровой экономики», а также «укрепления российской экономики, в том числе тех её отраслей, в которых развитие бизнеса с использованием информационных и коммуникационных технологий предоставит конкурентные преимущества российским организациям, обеспечит эффективность производства и рост производительности труда» [2]. В довершение этого был утверждён в 2019 году «Паспорт национального проекта «Национальная программа «Цифровая экономика Российской Федерации».

Целью данной работы является анализ тенденций цифровой адаптации российских компаний в области производства, продвижения и реализации.

Для достижения поставленной цели требуется решение следующих задач:

- Установить направления цифровой адаптации фармацевтических предприятий;
- Проанализировать статистические данные по внедрению цифровых технологий на фармацевтических предприятиях;
- Выявить наиболее перспективные цифровые инструменты взаимодействия с потребителями.

Фармацевтическая отрасль рассматривается сегодня в качестве одной из наиболее перспективных площадок инновационного развития экономики РФ. В этой связи данную отрасль все более активно затрагивают процессы цифровизации. Этот факт обусловлен объективными обстоятельствами и поддерживается государством, заинтересованного в формировании среды, созданию условий для развития платформ и технологий, и эффективного взаимодействия субъектов рынков и отраслей экономики [3].

В фармацевтической промышленности процесс разработки нового продукта представляет собой не простой процесс модернизации старого, а существенный прорыв в отдельных направлениях лечения [4, с. 32], как правило, включающий в себя набор процедур: опытно-экспериментальных, научно-исследовательских, клинических, занимающих длительный период времени и характеризующихся большими затратами. С учётом указанных фактов, цифровизацию возможно рассматривать в качестве ключевого фактора обеспечения эффективной деятельности фармацевтических компаний во всех сферах деятельности.

Так, применение цифровых технологий в процессе синтеза новых лекарственных препаратов позволит перенести существенный объем процедур, связанных с разработкой, испытаниями, апробацией новых соединений лекарственных средств в область цифровых вычислений, позволяющей с большей скоростью и точностью моделировать физиологические процессы.

Кроме того, цифровизация технологического процесса позволит значительно повысить гибкость производства за счёт быстрой перенастройки, заключающейся в динамическом изменении характеристик производственного процесса. Данное обстоятельство обеспечивает повышение эффективности управления производственными процессами, что увеличивает конкурентоспособность компании и способствует увеличению прибыли.

Немаловажное значение имеет и потенциал применения цифровых технологий в контексте обеспечения информативной интеграции производственного цикла. Это позволяет легко отслеживать все стадии производства лекарственного средства, минимизировать возможные отрицательные внешние эффекты, оперативно реагировать на возникновение внештатных ситуаций на производстве.

В результате существенным образом сокращаются временные издержки и уменьшаются финансовые риски. Кроме того, реализация возможности цифрового моделирования естественной среды для проведения испытаний нового вещества, способного усилить эффективность благоприятного воздействия лекарственного средства на организм человека, снижает и капитальные затраты исследований.

Большую роль имеет применение цифровых технологий в повышении эффективность деятельности фармацевтических компаний и на этапе вывода лекарственного средства на рынок, обеспечения его реализации, за счёт создавать единые баз данных лекарственных средств, которые облегчают проведение глубокого и всестороннего анализа характеристик спроса потребителей.

Данные направления эффективного использования цифровых технологий в настоящее время разделяет руководство большинства фармацевтических компаний, о чем свидетельствуют результаты специального исследования, проведенного в 2018 г. международной консалтинговой компанией «Deloitte», основным направлением которого стало выяснение перечня передовых цифровых технологий, используемых российскими фармацевтическими компаниями в своей деятельности. Результаты исследования отражены в табл. 1.

Таблица 1 – Инновационные технологии в фармацевтических компаниях

Инновационные технологии в фармацевтических компаниях	Внедрены или в процессе внедрения, %	Планируют внедрять, %
Передовые системы учёта (CRM, SAP, и др.)	50	21
Облачные технологии	38	25
Полная автоматизация отдельного бизнес-процесса	25	38
Большие данные и машинное обучение	6	21
Роботизация бизнес-процессов	6	19
Предиктивный анализ	4	12
Блокчейн – распределённая зашифрованная база данных	4	4
Smart-производство	4	4
Видеоаналитика и машинное зрение	2	4

Из приведенных данных видно, что самым популярным технологическим решением в компаниях фармацевтической отрасли является внедрение передовых систем учёта: половина компаний (50%) уже их внедрила или внедряет, еще 21% предприятий планируют их внедрить в обозримом будущем. Также большое распространение имеют облачные технологии и полная автоматизация отдельного бизнес-процесса: их используют или планируют внедрить две из трех компаний фармацевтической отрасли. При этом недостаточно широко используются большие данные и машинное обучение, а также роботизация бизнес-процессов (по 6%), однако каждая пятая компания (19–21%) планирует их внедрить. Также определенную нишу на фармацевтическом рынке (16%) занимает предиктивный анализ. Технология блокчейн, smart-производство, а также видеоаналитика и машинное зрение являются наименее востребованными технологиями среди фармацевтических компаний – их внедрили или планируют внедрять не более 8% компаний

В том же исследовании было приведена статистика по разработке цифровой стратегии в фармацевтической отрасли, согласно которой виден тренд на активное внедрение и разработку стратегии цифровизации компаний. Приведенные данные показывают, что каждая четвертая фармацевтическая компания (25%) разработала и внедрила/внедряет стратегии развития компании с помощью цифровых технологий. Еще 46% компаний разрабатывают такую стратегию в качестве ключевого перспективного направления стратегии дальнейшего развития бизнеса [5].

Очевидно, что дальнейшее развитие процессов цифровизации существенным образом изменят структуру всех аспектов деятельности фармацевтических компаний. Ключевое влияние будет оказано на разработку новых лекарственных средств, использование датчиков и приложений, в которых помимо систематизирования информация о фармакологических свойствах конкретных лекарственных препаратов будут представлены измерения, оптимизирующие порядок применения лекарственных средств, особенности дозировки в зависимости от конкретной истории болезни и особенностей пациента. Данное обстоятельство позволит значительно усовершенствовать обслуживание пациентов с учётом их конкретных потребностей и особенностей организма, что станет значительным шагом к персонализированной медицине.

Но помимо применения цифровых технологий непосредственно в производственном процессе, отрасль нуждается в цифровых инструментах для взаимодействия с конечными потребителями, для информирования о продукции, о деятельности компании, и другого. Актуальные цифровые инструменты взаимодействия, а также степень их использования в отечественных и иностранных компаниях приведены в табл. 2.

Таблица 2 – Актуальные цифровые инструменты фармацевтического бизнеса

Актуальные цифровые инструменты	Доля в российских компаниях, %	Доля в иностранных компаниях с локализацией производства в РФ, %	Доля в иностранных компаниях без локализации производства в РФ, %
Информирование через час, оф. страницы в социальных сетях, др.	92	77	70
Информирование через форумы врачей и блоги	87	74	65

Актуальные цифровые инструменты	Доля в российских компаниях, %	Доля в иностранных компаниях с локализацией производства в РФ, %	Доля в иностранных компаниях без локализации производства в РФ, %
Использование медицинскими представителями современными методами визуализации данных	49	74	62
Использование SEO-комплекса мер	77	62	46
Онлайн-продажи безрецептурных препаратов	82	64	39
Информирование через приложения	69	59	48
Использование массивов данных для big-data анализа, контроля остатков и др.	77	59	42
Создание и использование реестров пациентов с определёнными заболеваниями	54	54	39
Онлайн-продажи рецептурных препаратов	67	54	23
Использование устройств и приложений для сбора уникальных данных о пациентах	59	51	28
Электронные рецепты	44	41	14
Телемедицина	31	28	20

Наиболее востребованным цифровым инструментом для взаимодействия с конечными потребителями для российских фармацевтических компаний является информирование о продукции и деятельности через официальные сайты компаний и страницы в интернете (92%), а также врачебных форумов и блогов (87%). Следующим по приоритетности является использование представителями фармацевтических компаний современных методов визуализации данных (62%). Анализируя приведённые данные, необходимо заметить, что в среднем российские предприятия и иностранные предприятия с локализацией производства в России более активно используют различные цифровые инструменты для взаимодействия с конечными потребителями, нежели компании без локализации производства в России, кроме современных методов визуализации данных, которые чаще применяют в иностранных компаниях без локализации производства в России (74%) против 62% и 49%.

Подводя итоги, можно заявить о высокой заинтересованности отечественных фармацевтических компаний в широком применении цифровых технологии как в производстве, среди которых наибольший приоритет отдаётся внедрению передовых систем учёта, облачным технология и автоматизации определённых процессов. Многие российский фармацевтические кампании имеют или разрабатывают стратегий своей цифровизации, и уже широко применяют цифровые технологии в области продвижения и реализации своих товаров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Biotechnology Market Growth Analysis Report, 2021-2028. [Internet]. URL: https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/biotechnology-market. (Accessed: 28.02.2022).

2. Указ Президента РФ «О Стратегии развития информационного общества в Российской Федерации на 2017–2030 годы» от 09.05.2017 № 203, ст. 2901 // Собрание законодательства РФ. 2017. N 20. С. 9080-9094

3. Паспорт национального проекта «Национальная программа «Цифровая экономика Российской Федерации» (утв. президиумом Совета при Президенте РФ по стратегическому развитию и национальным проектам, протокол от 04.06.2019 № 7

4. Пушкарев О.Н., Евстратов А.В. Некоторые особенности маркетинга лекарственных препаратов // Вестник экономики, права и социологии. 2018. N 1. С. 31–33.

5. Стратегия цифровизации как способ организации взаимодействия с конечными потребителями. Тенденции фармацевтического рынка России – 2018 / Исследовательский Центр компании «Делойт» в СНГ. [Электронный ресурс]. URL: https://www2.deloitte.com/content/dam/Deloitte/ru/Documents/life-sciences-health-care/russian/russian-pharmaceutical-market-trends-2018.pdf (Дата обращения: 28.02.2022).

SUMMARY

DIGITAL ADAPTATION OF RUSSIAN PHARMACEUTICAL ENTERPRISES: PRODUCTION – PROMOTION – REALIZATION

Ivanov Y.M., 1st year master student
Head: **Ugolnikov V.V.**, Candidate of Economic Sciences, Associate Professor.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: ivanov.yaroslav@pharminnotech.com

The rapid development of digital technologies, the growth of the pharmaceutical market, the emergence of new products gives rise to new requests and requirements for enterprises. One of the answers to these requests has been the digitalization of

pharmaceutical enterprises. The article considers trends in the digitalization of pharmaceutical companies and the use of relevant digital tools for interacting with consumers.

Keywords: *digitalization, digital technologies, pharmaceutical industry, Russian Federation, innovative development, digitalization trends.*

REFERENCES

1. Biotechnology Market Growth Analysis Report, 2021-2028. [Internet]. URL: https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/biotechnology-market. (Accessed: 28.02.2022).

2. Decree of the President of the Russian Federation «On the Strategy for the Development of the Information Society in the Russian Federation for 2017–2030» dated May 9, 2017 N. 203, art. 2901 // Collection of Legislation of the Russian Federation. 2017. N 20. (in Russian)

3. Passport of the national project "National Program «Digital Economy of the Russian Federation» (approved by the Presidium of the Council under the President of the Russian Federation for Strategic Development and National Projects, protocol dated 04.06.2019 N 7. (in Russian)

4. Pushkarev O.N., Evstratov A.V. Some features of drug marketing // Bulletin of Economics, Law and Sociology. 2018. N 1. P. 31–33. (in Russian)

5. Digitalization strategy as a way to organize interaction with end users. Russian Pharmaceutical Market Trends 2018 // Deloitte CIS Research Center. [Internet]. URL: https://www2.deloitte.com/content/dam/Deloitte/ru/Documents/life-sciences-health-care/russian/russian-pharmaceutical-market-trends-2018.pdf (Accessed: 28.02.2022). (in Russian)

УДК 615.281:614.27:616.98:578.834.1-036.21(470.43)

МАРКЕТИНГОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ В АПТЕЧНОЙ СЕТИ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

Измаева А.А., студ. 5 курса обучения
Научные руководители: **Петрухина И.К.,** докт. фарм. наук, заместитель директора Института фармации (ORCID: 0000-0001-6207-5575; ResearcherID: S-6142-2016)
Рязанова Т.К., канд. фарм. наук, доцент кафедры (ORCID: 0000-0002-4581-8610; ResearcherID: H-3398-2015)
Самарский государственный медицинский университет
443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89, Российская Федерация
E-mail: izmaevaanna@gmail.com

Проблема онкологии в медицине одна из наиболее значимых. Одними из основных методов лечения онкологических заболеваний является химиотерапия. В последнее время противоопухолевые препараты являются достойной альтернативой хирургических методов лечения и лучевой терапии. Современные противоопухолевые средства менее токсичны, чем их предшественники, обладают более высокой эффективностью. В рамках настоящего исследования изучен ассортимент противоопухолевых лекарственных средств на примере розничного сегмента регионального фармацевтического рынка. Определено, что ассортимент противоопухолевых лекарственных препаратов аптечной сети достаточно широк, имеет хорошую глубину для удовлетворения спроса покупателей. Большинство противоопухолевых лекарственных препаратов импортного производства, однако в последнее время виден рост доли отечественных производителей, что свидетельствует об усилении мощностей российского производства дженериковых препаратов.

Ключевые слова: *противоопухолевые лекарственные препараты, розничный сектор фармацевтического рынка, маркетинговый анализ, импортозамещение, Самарская область.*

Онкологические заболевания остаются одной из лидирующих причин смертности в мире. Онкологические заболевания стабильно занимают второе место после сердечно-сосудистых заболеваний в рейтинге причин смертности людей в развитых странах. Рост числа онкологических заболеваний связывают как с развитием цивилизации в целом, так и с ухудшением экологической обстановки, а также (частично) с развитием методов диагностики [1, 2].

Химиотерапия злокачественных новообразований – это один из современных высокотехнологичных методов лечения различных видов злокачественных новообразований посредством введения в организм человека специальных химических веществ или лекарственных препаратов – противоопухолевых (антинеопластических) химиотерапевтических агентов [3, 4]. Рынок противоопухолевых средств в настоящее время составляет порядка 91 млрд долл., т.е. более 9,3% от объема всего фармацевтического рынка [5].

Целью исследования являлось ретроспективное изучение ассортимента противоопухолевых лекарственных препаратов, представленных в аптечных организациях Самарской области, с использованием инструментов маркетингового анализа.

В задачи исследования входили: анализ номенклатуры лекарственных препаратов, анализ лекарственных препаратов по форме выпуска, производителям, анализ ценовых характеристик.

Материалы и методы: Объектом исследования являлся ассортимент лекарственных препаратов, представленных в региональной аптечной сети Самарской области, за 2018-2020 гг. При выполнении исследования использованы методы

сравнительного, ретроспективного, логического и контент-анализов. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программных средств MS Excel for Window.

Результаты и обсуждение:

В 2018 г. общее количество противоопухолевых лекарственных препаратов в исследованной региональной аптечной сети составляло 30 международных непатентованных наименований (МНН), 53 торговых наименования (ТН), 69 номенклатурных позиций, в 2019 г. – 30 МНН, 52 ТН, 73 номенклатурных позиций. В 2020 г. соответствующие значения составили 28 МНН, 45 ТН и 60 номенклатурных позиций.

Противоопухолевые препараты составляли от 0,19% (2020 г.) до 0,27% (2018 г.) от общего количества номенклатурных позиций аптечной сети. Несмотря на небольшую долю, ассортимент имеет большую глубину. В аптеке присутствуют практически все представители классификационных групп: алкилирующие агенты – производные хлорэтиламинам (хлорамбуцил), антиметаболиты – меркаптопурин, препараты растительного происхождения – винкристин, противоопухолевые антибиотики – доксорубицина гидрохлорид, синтетические препараты – оксалиплатин, гормональные и антигормональные противоопухолевые средства – анастрозол, летрозол, медроксипрогестерона ацетат, флутамид.

Среди номенклатурных позиций противоопухолевых лекарственных препаратов преобладают препараты в твердой лекарственной форме (таблетки, капсулы, лиофилизаты для приготовления суспензий/растворов и др.). Из числа препаратов в твердой лекарственной форме наиболее распространенными являются препараты в виде таблеток. В таблетках выпускаются анастрозол, бикалутамид, меркаптопурин, тамоксифен и др. На втором месте находятся жидкие лекарственные формы (растворы для инъекций/инфузий, концентраты для приготовления растворов, суспензий, растворы для приема внутрь и др.).

В 2019 г. по сравнению с 2018 г. количество твердых лекарственных форм увеличилось на 4%, а в 2020 г. по сравнению с 2019 г. на 9%. Среди номенклатурных позиций в жидкой лекарственной форме наблюдается снижение ассортимента: в 2019 г. по сравнению с 2018 г. количество позиций уменьшилось на 2%, в 2020 г. тенденция сохранилась, и ассортимент уменьшился на 12%.

Большинство номенклатурных позиций противоопухолевых лекарственных препаратов импортного производства. В 2019 г. доля импортных лекарственных препаратов снизилась на 3%, а в 2020 г. на 11%, что свидетельствует об усилении мощностей российского производства по производству дженериковых противоопухолевых препаратов.

Из таблицы 1 видно, что наиболее часто в рассматриваемой региональной аптечной сети обращались за противоопухолевыми препаратами, относящимися к ценовой категории 500-1000 рублей. В 2020 г. отмечено снижение спроса на 5%, что может быть связано со снижением доходов населения во время пандемии коронавирусной инфекции COVID-19. По данным Росстата доходы населения снизились на 3,5%. При этом заметен рост доли препаратов, относящихся к стоимостной категории 1000-2000 рублей. Подорожание может быть связано также с неблагоприятной эпидемиологической обстановкой и опасениями появления дефицита.

Таблица 1 – Анализ по ценовым характеристикам противоопухолевых лекарственных препаратов, представленных в региональной аптечной сети, в 2018-2020 гг.

Ценовая категория	Доля от общего количества реализованных упаковок, %		
	2018 г.	2019 г.	2020 г.
До 500 руб.	19	25	22
500-1000 руб.	26	27	28
1000-2000 руб.	22	23	28
2000-5000 руб.	19	19	18
5000 руб. и более	14	5	10

Согласно результатам анализа объемов реализации в натуральном выражении в разрезе торговых наименований выявлено, что лидирующие позиции занимал Тамоксифен Гексал, который составлял практически треть всей реализации противоопухолевых препаратов (таблица 2). В 2019 г. объем его реализации увеличился на 9%, однако в 2020 г. снизился на 3%, что может быть связано с появлением в аптечной сети новых лекарственных средств. Гидреа стабильно занимает второе место по реализации, однако в 2019 г. произошел спад доли препарата на 6%. В 2020 г. объем реализации восстановился – произошло увеличение на 6%. Третье место в 2018 г. занимал препарат Депо–Провера, однако в 2019 г. спрос на препарат снизился, третью позицию в ТОП-3 по объемам продаж в натуральном выражении занял Лейкеран.

Таблица 2 – ТОП-3 по объемам реализации в натуральном выражении противоопухолевых лекарственных препаратов, представленных в региональной аптечной сети, в 2018-2020 гг.

№ п/п	2018 г.		2019 г.		2020 г.	
	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %
1.	Тамоксифен Гексал	30,0	Тамоксифен Гексал	39,0	Тамоксифен Гексал	36,0
2.	Гидреа	23,0	Гидреа	17,0	Гидреа	23,0
3.	Депо-Провера	9,0	Лейкеран	6,0	Лейкеран	4,0

Абсолютным лидером по объемам реализации в денежном выражении является Лейкеран за счет относительно высокой розничной цены (таблица 3). В 2018 и 2019 гг. его доля стабильно составляла 19% от общего объема продаж в денежном выражении, но в 2020 г. произошел спад реализации на 3%. Это может быть связано с появлением новых препаратов в аптечной сети.

На втором месте по реализации в 2018 г. находились препараты Тамоксифен Гексал и Гидреа, имеющие примерно одинаковый объем реализации, но в 2019 г. их сменил препарат Тафинлар с долей реализации 12%. В 2020 г. второе место по объемам реализации в денежном выражении приходилось на препарат Бусерелин-депо – 14%.

На третьем месте по объему реализации в 2018 г. находился препарат Депо-Провера – 3%, в 2019 г. – 2 препарата со схожим объемом реализации 7%: Тамоксифен Гексал и Бусерелин-депо, в 2020 г. – Тамоксифен (7%) и Анастрозол (6%).

Таблица 3 – ТОП-3 по объемам реализации в денежном выражении противоопухолевых лекарственных препаратов, представленных в региональной аптечной сети, в 2018-2020 гг.

№ п/п	2018 г.		2019 г.		2020 г.	
	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %	Торговое наименование	Доля от объема реализации, %
1.	Лейкеран	19,0	Лейкеран	19,0	Лейкеран	16,0
2.	Тамоксифен Гексал	7,0	Таминфлар	12,0	Бусерелин-депо	14,0
3.	Гидреа	7,0	Тамоксифен Гексал	7,0	Тамоксифен	7,0
4.	Депо-Провера	3,0	Бусерелин-депо	7,0	Анастрозол	6,0

Заключение:

В ходе маркетингового исследования противоопухолевых лекарственных препаратов региональной аптечной сети в Самарской области за 2018-2020 гг. установлено, что:

• ассортимент противоопухолевых лекарственных препаратов аптечной сети достаточно широк, имеет хорошую глубину, что удовлетворяет спрос покупателей;

• наиболее востребованными являются твердые лекарственные формы – их доля составляет более 70%;

• большинство лекарственных препаратов выпускаются зарубежными компаниями, однако в последнее время виден рост доли отечественных производителей, что свидетельствует об усилении мощностей российского производства лекарственных средств;

• более высоким спросом пользуются препараты из ценовой категории 500-1000 рублей;

• на основе проведенного анализа составлен рейтинг (ТОР-3) наиболее востребованных препаратов рассматриваемой фармакотерапевтической группы. Наиболее продаваемыми номенклатурными позициями являются Тамоксифен Гексал, Гидреа, Лейкеран, Депо-Провера.

Маркетинговые исследования ассортимента аптечной сети важны для обеспечения устойчивого, конкурентоспособного функционирования и развития на рынке товаров и услуг с учетом состояния внутренней и внешней среды.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

06.56.21 Рыночная структура. Концентрация. Конкуренция. Предпринимательство

ЛИТЕРАТУРА

1. Soerjomataram I., Bray F. Planning for tomorrow: global cancer incidence and the role of prevention 2020–2070 // Nat Rev Clin Oncol. 2021. N 18. P. 663–672. https://doi.org/10.1038/s41571-021-00514-z.

2. Arem H., Loftfield E. Cancer Epidemiology: A Survey of Modifiable Risk Factors for Prevention and Survivorship // Am J Lifestyle Med. 2017. Vol. 12(3). P. 200-210. doi:10.1177/1559827617700600

3. Falzone L., Salomone S., Libra M. Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium // Front. Pharmacol. 2018. N 9. P. 1300. doi: 10.3389/fphar.2018.01300.

4. Assessment of the evolution of cancer treatment therapies / M. Arruebo [et al.] // Cancers (Basel). 2011. N 3. P. 3279–3330. doi: 10.3390/cancers3033279.

5. Современные противоопухолевые средства / А.В. Заборовский [и др.] // Фарматека. 2016. N 20.

SUMMARY

MARKETING RESEARCH OF ANTITUMOR MEDICINES REPRESENTED IN THE PHARMACY NETWORK OF THE SAMARA REGION

Izmaeva A.A., 5th year student
Scientific advisers: Petrukhina I.K., Doctor of Pharmacy, Deputy Director of the Institute of Pharmacy
(ORCID: 0000-0001-6207-5575; ResearcherID: S-6142-2016)
Ryazanova T.K., Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department
(ORCID: 0000-0002-4581-8610; ResearcherID: H-3398-2015)
Samara State Medical University
443099, Samara, ul. Chapaevskaya, 89, Russian Federation
E-mail: izmaevaanna@gmail.com

The problem of oncology in medicine is one of the most significant. Chemotherapy is one of the main methods of cancer treatment. Recently, anticancer drugs have become a worthy alternative to surgical methods of treatment and radiation therapy. Modern anticancer drugs are less toxic than their predecessors and have a higher efficiency. In the framework of this study, the range of anticancer drugs was studied using the example of the retail segment of the regional pharmaceutical market. It was determined that the range of antitumor drugs of the pharmacy network is quite wide, has a good depth to meet the demand of customers. Most anticancer drugs are imported, but recently there has been an increase in the share of domestic manufacturers, which indicates an increase in the capacity of Russian production of generic drugs.

Keywords: *anticancer drugs, retail sector of the pharmaceutical market, marketing analysis, import substitution, Samara region.*

REFERENCES

1. Soerjomataram I., Bray, F. Planning for tomorrow: global cancer incidence and the role of prevention 2020–2070 // Nat Rev Clin Oncol. 2021. N. 18. P. 663–672. https://doi.org/10.1038/s41571-021-00514-z.
2. Arem H., Loftfield E. Cancer Epidemiology: A Survey of Modifiable Risk Factors for Prevention and Survivorship // Am J Lifestyle Med. 2017. Vol. 12(3). P. 200-210. doi:10.1177/1559827617700600
3. Falzone L., Salomone S., Libra M. Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium // Front. Pharmacol. 2018. N 9. P. 1300. doi: 10.3389/fphar.2018.01300.
4. Assessment of the evolution of cancer treatment therapies / M. Arruebo [et al.] // Cancers (Basel). 2011. N 3. P. 3279–3330. doi: 10.3390/cancers3033279
5. Zaborovsky A.V., Mulyar A.G., Maev I.V. et al. Modern anticancer drugs // Farmateka. 2016. No. 20 (in Russian).

УДК 30:338.2

РАЗВИТИЕ КАДРОВОГО ПОТЕНЦИАЛА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ

Ильичева Е.С., магистрант 1 года обучения
Руководитель: **Симакова Е.К.**, канд. экон. наук, доцент кафедры экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ilicheva.ekaterina@pharminnotech.com

Целью данного исследования является выявление и анализ теоретических основ формирования кадрового потенциала биотехнологического предприятия В статье рассматривается оценка трактовки термина «кадровый потенциал» с точки зрения ученых, в ходе которой позиции ученых были поделены на четыре группы, а также разбор основных управленческих подходов к формированию кадрового потенциала. На основании анализа полученных результатов были отобраны наиболее подходящие и точные определения кадрового потенциала и трудового потенциала и выявлены два основных подхода к формированию кадрового потенциала.

Ключевые слова: *конкурентоспособность предприятия, кадровый потенциал, долгосрочный кадровый потенциал, трудовые ресурсы, маркетинг персонала, отбор кадров.*

На данном этапе развития экономики для любого предприятия важной целью является получение максимальной прибыли при наименьших затратах. Для достижения конкурентоспособности организации особое внимание уделяется управлению персонала [1], основными функциями которого являются стратегическое планирование (разработка кадровой политики, определение необходимой численности персонала), оперативная работа с персоналом (управление мотивацией, разработка системы стимулирования труда, формирование корпоративной культуры и др.), маркетинг трудовых ресурсов (анализ рынка труда, внутренних ресурсов, установление рабочих контактов), управление развитием персонала (создание определенных условий для адаптации, разработка программ обучений , переподготовок и повышения квали-

фикации и т.д). Биотехнологическая промышленность находится в сильной зависимости от человека в связи с модернизацией производства и внедрения инновационных технологий, а к умениям, знаниям и компетентности персонала предъявляют более высокие требования. Главным фактором увеличения эффективности предприятия является удачно сформированный кадровый потенциал [2], который позволит обеспечить организацию высококвалифицированными кадрами, способными выполнять поставленные задачи и принимать определенные решения в конкретных ситуациях.

Для того, чтобы четко определить теоретические основы формирования кадрового потенциала, необходимо обратиться к истокам самого термина «кадровый потенциал».

В настоящее время термин кадрового потенциала не имеет единого трактования и прежде чем углубиться в это более подробно, следует обратиться к структуре данного понятия (рис.). Физический элемент кадрового потенциала подразумевает физические возможности сотрудников, которые востребованы в процессе функционирования предприятия, интеллектуальный элемент определен как «коллективный интеллект», направленный на решение задач и достижение целей, социальный элемент включает в себя систему отношений и связей между работниками, технологический же составляет способности работников обеспечить технологическое развитие предприятия [3]. С точки зрения социально-демографических характеристик выделяют такие составляющие, как пол, возраст, семейное положение и т.д. С точки зрения кадровых показателей существует классификация работников в зависимости от участия в производственном процессе. Существует такое понятие как долгосрочный кадровый потенциал [4] – это совокупность высококвалифицированных работников, которые обладают компетентностями для решения поставленных целей и задач. Есть целевой и текущий кадровый потенциал. В состав текущего входят работники, которые выполняют основные операции производства. В состав целевого входят работники, выполняющие вспомогательные операции, которые направлены на рост и развитие конкурентоспособности предприятия. Их целью является выполнение нестандартных задач. Персонал – совокупность работников предприятия, которые объединены в специализированные службы или подразделения и занятых, в основном, различными видами умственной деятельности.

Виды структур кадрового потенциала	Элементы структуры
Структура потенциала	физические, интеллектуальные, социальные и технологические составляющие
Социально-демографическая структура	половозрастная структура, уровень образования, стаж работы, семейная структура, состояние здоровья и др.
Структура кадров	руководители, специалисты разного уровня и профиля, рабочие или непосредственные исполнители
Структура в зависимости от уровня управления	долгосрочный и текущий кадровый потенциал

Рисунок. Структура кадрового потенциала

В результате вышесказанного был проведен анализ данного понятия, в котором позиции ученых были разделены на 4 группы.

Таблица – Характеристика понятия «кадровый потенциал» с точки зрения Российских ученых и авторов

Авторы	Определения
1. Кадровый потенциал как знания, умения и способности персонала предприятия	
Е.М. Дандыкина	Важная составная часть экономического потенциала предприятия, по своей сути характеризует те знания, умения, способности, которые реализуются в Процессе трудовой деятельности работниками, формирующими кадровый состав предприятия, т. е. те, которыми работники объективно обладают как носители рабочей силы [5]
Д. О. Неверкевич	Знания, умения, способности, реализуемые в процессе трудовой деятельности, работниками, формирующими кадровый состав предприятия, а также те, которыми работники объективно обладают как носители рабочей силы, но пока еще не востребованные процессом производства либо профессионального обучения [6]
2. Как совокупность способностей и возможностей	
Г. Ш. Агарзаева, А. А. Рабцевич	Совокупность возможностей и способностей всех людей, которые решают определенные задачи и работают на одном предприятии [7]
3. Как часть трудового потенциала	
Г.И. Коноплёва	Кадровый потенциал предприятия – это обобщающая характеристика совокупных способностей и возможностей постоянных работников предприятия, имеющих определенную квалификацию, прошедших предварительную профессиональную подготовку и обладающих специальными знаниями, трудовыми навыками и опытом работы в определенной сфере деятельности эффективно выполнять функциональные обязанности и давать определенные экономические результаты в соответствии с текущими и перспективными целями предприятия [8]

Авторы	Определения
4. Как возможности персонала предприятия с точки зрения способности достигать поставленных целей	
Е. П. Третьякова	Кадровый потенциал предприятия – это обобщающая характеристика совокупных способностей и возможностей постоянных работников предприятия, имеющих определенную квалификацию, прошедших предварительную профессиональную подготовку и обладающих специальными знаниями, трудовыми навыками и опытом работы в определенной сфере деятельности эффективно выполнять функциональные обязанности и давать определенные экономические результаты в соответствии с текущими и перспективными целями предприятия [9]
С. В. Андреев	Кадровый потенциал предприятия – это важнейшая интегральная характеристика персонала, представляющая собой его максимальные возможности по достижению целей предприятия и выполнению поставленных перед ним задач [10]

Первоначально под кадровым потенциалом понималось фактическое наличие знаний, умений и навыков, позже было осознанно, что указанная трактовка не отражает сути понятия потенциала и был предложен подход, в основе которого лежит понимание данного понятия уже через совокупность способностей и возможностей [11]. На более современном этапе развития научной мысли под кадровым потенциалом начинают понимать возможность адаптации к меняющимся условиям. По нашему мнению, наиболее развернуто и точно был охарактеризован термин «кадровый потенциал» кандидатом экономических наук Коноплевой Г.И.

Формирование кадрового потенциала представляет собой приведение в соответствие способностей сотрудников и целей организации [12]. Задачей системы формирования и управления кадровым потенциалом является не только удовлетворение потребностей организации укомплектовании персонал, но и также удовлетворение профессиональных потребностей самих сотрудников

Учитывая цель, стоящую перед нами, важно отметить этапы, влияющие на процесс развития и использования кадрового потенциала, который напрямую влияет на его формирование [13]:

1. Планирование потребности в кадрах;
2. Маркетинг персонала

Сущность кадрового планирования заключается в создании условий для предоставления людям рабочих мест в нужный момент времени и в необходимом количестве в соответствии с их способностями, склонностями и требованиями бизнеса [14].

Маркетинг является прогрессивным методом управления персонала, пришедшим смену традиционному кадровому планированию. Целью маркетинга персонала является оптимальное использование человеческих ресурсов организации путем создания максимально благоприятных условий труда и коммуникаций, способствующих повышению их эффективности; развитию в каждом сотруднике приверженности, лояльности своей организации и стремления к достижению целей фирмы [15].

Маркетинг состоит из: набора персоналов и формирования вакансий, отбора персонала и адаптации. Набор персонала заключается в комплектовании предприятия в пределах необходимой потребности и создания резерва кандидатов на все должности и специальности. Основной целью отбора является получение работников, наиболее подходящих под стандарты качества работы, выполняемой предприятием. Сейчас существует 2 метода: традиционный и нетрадиционный [16]. Традиционными методами отбора персонала являются: анализ резюме кандидатов, анкетирование, телефонное интервью, психологическое и профессиональное тестирования, собеседование, проверка рекомендаций. Нетрадиционными методами отбора персонала являются: отбор по компетенциям, стрессовое интервью, Brainteaser-интервью (головоломка), бизнес-кейсы. Адаптация персонала – это процесс ознакомления сотрудника с целями, стратегией, работниками, а также деятельностью всей организации, и выработки соответствующего поведения в соответствии с требованиями компании.

Заключение

В ходе обзора литературных источников были выявлены теоретические основы формирования кадрового потенциала: кадровый потенциал предприятия – это обобщающая характеристика совокупных способностей и возможностей постоянных работников предприятия, имеющих определенную квалификацию, прошедших предварительную профессиональную подготовку и обладающих специальными знаниями, трудовыми навыками и опытом работы в определенной сфере деятельности эффективно выполнять функциональные обязанности и давать определенные экономические результаты в соответствии с текущими и перспективными целями предприятия; для эффективного формирования кадрового потенциала в организациях сотруднику, отвечающему за стратегическое планирование необходимо учитывать два подхода: кадровое планирование и маркетинг персонала. На данных критериях и строятся теоретические основы формирования кадрового потенциала.

Из всего вышесказанного, можно сделать вывод, что эффективность и конкурентоспособность предприятия во многом зависит от кадрового потенциала и правильно подобранной кадровой политики.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

06.00.00 Экономика и экономические науки

06.01.33 Терминология экономических наук

ЛИТЕРАТУРА

1. Скороходова О.Р. Кадровый потенциал: понятие, сущность, основные характеристики // Экономика и управление в XXI веке: тенденции развития. 2015. С. 68-71.

2. Дяковский П.Н. Сущность, элементы и характеристики кадрового потенциала организации // Теоретическая экономика. 2020. N 9. С. 108-115.

3. Гайдукова И.Б. Структура кадрового потенциала и управление его развитием // Российская наука и образование сегодня: проблемы и перспективы. 2015. N 2 (5). С. 160-162.

4. Стулова Е.А. Кадровый потенциал и пути его совершенствования // Наука и просвещение: международный центр научного сотрудничества. 2021. N 1. С. 120-124.

5. Дандыкина Е.М. Формирование кадрового потенциала инновационных компаний // Молодёжь и наука: Сборник материалов VII Всероссийской научно-технической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных, посвященной 50-тилетию первого полета человека в космос. Красноярск: Сибирский федеральный ун-т. [Электронный ресурс]. 2014. URL: https://elib.sfu-kras.ru/handle/2311/5280.

6. Неверкевич Д.О. Влияние современного состояния занятости на формирование кадрового потенциала организаций: дис. М., 2008. С. 23.

7. Агарзаева Г.Ш., Рабцевич А. А. Система развития кадрового потенциала в японских компаниях // Молодой ученый. 2015. N 5 (85). С. 227-229.

8. Коноплёва Г.И., Борщенко А.С. Понятие кадрового потенциала и стратегия его развития // Альманах современной науки и образования. 2014. N 2. С. 86-88.

9. Третьякова Е.П. Оценка трудового потенциала организации // Менеджмент в России и за рубежом. 2009. N 1. С. 136–143.

10. Андреев С.В. Кадровый потенциал и проблемы занятости в условиях перехода России к рыночным отношениям . Москва : Ин-т социологии, 1997. 360 с.

11. Александрова М.В. Терминологический анализ понятия «кадровый потенциал» и его адаптация к современным условиям функционирования промышленных предприятий // Молодой ученый. 2016. N 9 (113). С. 461-465.

12. Вафин, Э.Я. Кадровый потенциал организаций // Science Time. 2016. N 7(31). С. 39–43.

13. Гаврилова К.Е. Формирование кадрового потенциала современной организации // Молодой ученый. 2019. N 38(276). С. 98-100.

14. Вознюк С.А. Кадровое планирование и эффективность работы предприятия // Интеллектуальный потенциал XXI века: ступени познания. 2011. С. 1-5.

15. Старкова Н.В., Тиминова Е.В. Организация маркетинга персонала на зарубежных и российских предприятиях // Austrian Journal of Humanities and Social Sciences. 2014. С. 250-254.

16. Бурдюгова О.В., Коркешко О.Н., Прытков Р.М. Маркетинг персонала в организации: основные направления и функции // Инновационная наука. 2016. N 4. С. 64-67.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF THE HUMAN POTENTIAL OF A PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGICAL ENTERPRISE

Ilyicheva E.S., 1st year master student student
Head: **Simakova E.K.**, Associate Professor of the Faculty. EiU;
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: ilicheva.ekaterina@pharminnotech.com

The purpose of this study is to identify and analyze the theoretical foundations of the formation of the human potential of a biotechnological enterprise. The article examines the interpretation of the term «human potential» from the point of view of scientists, during which the positions of scientists were divided into four groups, as well as the analysis of the main management approaches to the formation of human potential. Based on the analysis of the results obtained, the most appropriate and accurate definitions of human resources and labor potential were selected and two main approaches to the formation of human resources were identified.

Keywords: *enterprise competitiveness, human resources, long-term human resources, human resources, personnel marketing, personnel selection.*

REFERENCES

1. Skorokhodova O.R. Personnel potential: concept, essence, main characteristics // Economics and management in the XXI century: development trends. 2015. P. 68-71. (in Russian)

2. Dyakovsky P.N. The essence, elements and characteristics of the personnel potential of the organization // Theoretical economics. 2020. N 9. P. 108-115. (in Russian)

3. Gaidukova I.B. The structure of personnel potential and management of its development // Russian science and education today: problems and prospects. 2015. N 2(5). P. 160-162. (in Russian)

4. Stulova E.A. Karpova T.P. Personnel potential and ways of its improvement // Science and Education : International Center for Scientific Cooperation. Penza. 2021. N 1. P. 120-124. (in Russian)

5. Dandykina E.M. Formation of personnel potential of innovative companies // Youth and science: Collection of materials of the VII All-Russian Scientific and Technical Conference of students, postgraduates and young scientists dedicated to the 50th anniversary of the first human spaceflight. [Internet]. Krasnoyarsk: Siberian Federal University. 2014. URL: https://elib.sfu-kras.ru/handle/2311/5280. (in Russian)

6. Neverkevich D.O. The influence of the current state of employment on the formation of the personnel potential of organizations: dis. Moscow, 2008. P. 23.(in Russian)

7. Agarzayeva G.Sh. The system of human resources development in Japanese companies // Young scientist. 2015. N 5(85). P. 227-229. (in Russian)

8. Konopleva G.I., Borshchenko A.S. The concept of personnel potential and its development strategy // Almanac of modern science and education. 2014. N 2. P. 86-88. (in Russian)

9. Tretyakova E.P. Evaluation of the labor potential of the organization // Management in Russia and abroad. 2009. N 1. P. 136-143. (in Russian)

10. Andreev S.V. Personnel potential and employment problems in the conditions of Russia's transition to market relations. Moscow : Institute of Sociology, 1997. 360 p. (in Russian)

11. Alexandrova M.V. Terminological analysis of the concept of «personnel potential» and its adaptation to modern conditions of functioning of industrial enterprises // Young scientist. 2016. N 9(113). P. 461-465. (in Russian)

12. Vafin E.Ya. Personnel potential of organizations // Science Time. 2016. N 7(31). P. 39-43. (in Russian)

13. Gavrilova K.E. Formation of the personnel potential of a modern organization // Young scientist. 2019. N 38(276). P. 98-100. (in Russian)

14. Voznyuk S.A. Personnel planning and efficiency of the enterprise // Intellectual potential of the XXI century: stages of cognition. 2011. P. 1-5. (in Russian)

15. Starkova N.V., Timinova E.V. Organization of personnel marketing at foreign and Russian enterprises // Austrian Journal of Humanities and Social Sciences. 2014. P. 250-254. (in Russian)

16. Burdyugov O.V., Korkeshko O.N., Prytkov R.M. Personnel marketing in the organization: main directions and functions // Innovative science. 2016. N 4. P. 64-67. (in Russian)

УДК 658.5.011

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ, ПРОИЗВОДЯЩЕГО ИННОВАЦИОННУЮ ПРОДУКЦИЮ

Имангулова А.Ф., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Угольников В.В.**, канд. экон. наук, доцент кафедры экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: adelya.imangulova@spcpu.ru

Проведен анализ показателей экономической эффективности предприятия, включающий в себя обзор результатов деятельности организации и оценку ключевых показателей, выявлены «критические» показатели компании, рассмотрен механизм ценообразования на инновационную продукцию, выведен удельный вес каждого из компонентов составе цены.

Ключевые слова: *экономическая эффективность, инновационная продукция, механизм ценообразования, критические показатели, показатели экономической эффективности, финансовая устойчивость фармацевтического предприятия, показатели финансовой устойчивости.*

Анализ показателей экономической эффективности предприятия является важнейшей задачей, поскольку полученные данные позволяют в кризисных ситуациях принимать точные организационно-управленческие решения, способствующие адаптации и нормализации экономики предприятия.

Эффективность включает в себя оценку полученных результатов осуществляемой деятельности, например: производство и реализация продукции, предоставление консалтинговых услуг. На практике при анализе эффективности осуществляется сравнение полученных результатов и затраченных ресурсов, необходимых для реализации того или иного проекта, с учетом влияния внутренних и внешних факторов в течение какого-либо промежутка времени [1].

Ввиду принятия стратегии «Фарма 2020» на территории республики Татарстан был создан фармацевтический кластер «ФармМедПолис РТ», главной задачей которого было развитие медицинской и фармацевтической промышленности. Основным направлением деятельности данной компании является сопровождение инвестиционных проектов на всех этапах реализации и производство медицинских изделий. Так же компания предоставляет услуги по регистрации медицинских и фармацевтических изделий, проведение доклинических и клинических исследований [2].

Цель исследования: проанализировать ключевые показатели экономической эффективности фармацевтического предприятия ООО «ФармМедПолис РТ» на примере производства инновационной продукции медицинского назначения.

Задачи исследования:

- сбор и обобщение информации по экономическим показателям;
- выявить ключевые показатели эффективности предприятия и дать им оценку;
- рассмотреть механизм ценообразования на инновационную продукцию, выявить удельный вес каждого компонента в цене;
- выявить «критические» показатели и показатели, имеющие положительную характеристику.

Объект исследования: хозяйственно-экономическая деятельность фармацевтического предприятия ООО «ФармМедПолис РТ» по производству инновационной продукции медицинского назначения.

Предмет исследования: показатели экономической эффективности фармацевтического предприятия, производящего инновационную продукцию медицинского назначения.

Материалы и методы исследования

Ценообразование на инновационный продукт реализуется на основе затратного метода. В качестве затрат выступают разделы «Материалы», «Фонд оплаты труда» и «Накладные производственные расходы», которые включают в себя амортизационные отчисления, арендные платежи, коммунальные и эксплуатационное обслуживание, ремонт, запчасти и комплектующие вспомогательные материалы и услуги сторонних лабораторий. На основе представленных данных проведен анализ вклада каждого из компонентов в себестоимость продукта.

Согласно данным, наибольший удельный вес при формировании цены на продукт имеют материалы и оплата дополнительных услуг. Так же, большой удельный вес имеют корпоративные затраты, составляющие 15% от общей суммы. В то время как фонд оплаты труда и накладные производственные расходы в меньшей мере отражаются на стоимости и составляют 4%. Так же стоит обратить внимание, что затраты на НИОКР при создании инновационной продукции и заработная плата непроизводственных работников не учитываются в процессе ценообразования.

Вклад каждого компонента затрат представлен на рисунке.

Рисунок. Удельные веса компонентов при расчете себестоимости

В таблице 1 приведены основные показатели финансовой деятельности ООО «ФармМедПолис РТ» в период с 31.12.2018 по 31.12.2020.

Таблица 1 – Основные показатели финансовой деятельности

Показатель	Значение показателя, *тыс. руб.*		Изменение показателя		Средне-годовая величина, *тыс. руб.*
	2019 г.	2020 г.	*тыс. руб.* (гр.3 – гр.2)	± % ((3-2) : 2)	
1	2	3	4	5	6
1. Выручка	9 880	285 056	+275 176	+28,9 раза	147 468
2. Расходы по обычным видам деятельности	20 980	262 182	+241 202	+12,5 раза	141 581
3. *Прибыль (убыток) от продаж* (1-2)	-11 100	22 874	+33 974	↑	5 887
4. Прочие доходы и расходы, кроме процентов к уплате	-251	-4 844	-4 593	↓	-2 548
5. *EBIT (прибыль до уплаты процентов и налогов)* (3+4)	-11 351	18 030	+29 381	↑	3 340
6. Проценты к уплате	2 334	7 968	+5 634	+3,4 раза	5 151
7. Налог на прибыль, изменение налоговых активов и прочее	-422	-1 690	-1 268	↓	-1 056
8. Чистая прибыль (убыток)	-14 107	8 372	+22 479	↑	-2 868
Справочно: Совокупный финансовый результат периода	-14 107	8 372	+22 479	↑	-2 868
Изменение за период нераспределенной прибыли (непокрытого убытка) по данным бухгалтерского баланса	-14 107	8 373	x	x	x

Исходя из данных таблицы, за анализируемый период произошло сильное повышение выручки с 9 880 тыс. руб. до 285 056 тыс. руб. (в 29 раз).

На 2020 год прибыль от продаж соответствовала 22874 тыс.руб. Так же, имело место сильное повышение финансовых результатов от продаж – на 33974 тыс.руб.. Однако чистая прибыль имела отрицательное значение (-2868 тыс.руб.), что может говорить о несоблюдении баланса расходов и доходов предприятия.

Коэффициент автономии, который на 31 декабря 2020 года составил 0,12, показывает высокий уровень зависимости от заемных средств (таблица 2). Причиной этого является недостаток собственного капитала в общей сумме капитала. Стоит отметить, что несмотря на критический характер данного показателя, наблюдалась положительная динамика, выраженная в росте коэффициента автономии на 6,19.

Аналогичным образом ведут себя и остальные показатели. Так, например, коэффициент обеспеченности собственными средствами за анализируемый период вырос на 26,2. Большой рост наблюдается и у коэффициента покрытия инвестиций – с -6,07 до 0,36 (на 6,43). Коэффициент обеспеченности материальных запасов на 31 декабря 2020 года составлял -0,86 при норме 0,5 и более, однако за весь анализируемый период наблюдался рост данного показателя на 33,97.

Таблица 2 – Основные показатели финансовой устойчивости организации

Показатель	Значение показателя			Изменение показателя (гр.4-гр.2)	Описание показателя и его нормативное значение
	31.12.2018	31.12.2019	31.12.2020		
1. Коэффициент автономии	-6,07	-2,87	0,12	+6,19	Отношение собственного капитала к общей сумме капитала. Нормальное значение для данной отрасли: 0,5 и более (оптимальное 0,6-0,7).
2. Коэффициент финансового левериджа	-1,16	-1,35	7,25	+8,41	Отношение заемного капитала к собственному. Нормальное значение для данной отрасли: не более 1 (оптимальное 0,43-0,67).
3. Коэффициент обеспеченности собственными оборотными средствами	-26,42	-3,16	-0,22	+26,2	Отношение собственных оборотных средств к оборотным активам. Нормальное значение: не менее 0,1.
4. Индекс постоянного актива	-0,12	-0,02	2,3	+2,42	Отношение стоимости внеоборотных активов к величине собственного капитала организации.
5. Коэффициент покрытия инвестиций	-6,07	-2,87	0,36	+6,43	Отношение собственного капитала и долгосрочных обязательств к общей сумме капитала. Нормальное значение: 0,75 и более.
6. Коэффициент маневренности собственного капитала	–	–	-1,3	-1,3	Отношение собственных оборотных средств к источникам собственных средств. Нормальное значение для данной отрасли: 0,15 и более.
7. Коэффициент мобильности имущества	0,26	0,93	0,72	+0,46	Отношение оборотных средств к стоимости всего имущества.
8. Коэффициент мобильности оборотных средств	0,01	0,97	0,64	+0,63	Отношение наиболее мобильной части оборотных средств
9. Коэффициент обеспеченности запасов	-34,83	-437,78	-0,86	+33,97	Отношение собственных оборотных средств к стоимости запасов. Нормальное значение: 0,5 и более.
10. Коэффициент краткосрочной задолженности	1	1	0,72	-0,28	Отношение краткосрочной задолженности к общей сумме задолженности.

Результаты и обсуждение

По итогам анализа экономической эффективности основные показатели финансового положения и результаты деятельности ООО «ФармМедПолис РТ» были сгруппированы по качественному признаку.

С очень хорошей стороны финансовое положение и результаты деятельности организации характеризуют такие показатели:

• коэффициент абсолютной ликвидности полностью соответствует нормативному значению;

• рост рентабельности продаж (+120,3 процентных пункта от рентабельности -112,3% за период с 01.01.2019 по 31.12.2019);

• за последний год получена прибыль от продаж (22 874 тыс. руб.), причем наблюдалась положительная динамика по сравнению с предшествующим годом (+33 974 тыс. руб.);

• величина чистой прибыли за 2020 год составила 8 372 тыс. руб. (+22 479 тыс. руб. по сравнению с предшествующим годом);

• положительная динамика прибыли до процентов к уплате и налогообложения (EBIT) на рубль выручки ФармМедПолис РТ ООО (+121,2 коп. к -114,9 коп. с рубля выручки за период с 01.01.2019 по 31.12.2019).

Среди всех полученных в ходе анализа показателей имеется один, имеющий значение на границе нормативного – не в полной мере соблюдается нормальное соотношение активов по степени ликвидности и обязательств по сроку погашения.

С негативной стороны финансовое положение и результаты деятельности организации характеризуют такие показатели:

• высокая зависимость организации от заемного капитала (собственный капитал составляет только 12%);

• чистые активы меньше уставного капитала, при этом за период имело место увеличение чистых активов;

• коэффициент общей ликвидности не соответствует нормативному значению;

• аналогично обстоят дела с коэффициентом промежуточной ликвидности;

• низкая рентабельность активов (5,3% за 2020 год);

• отрицательная динамика собственного капитала относительно общего изменения активов организации;

• величина собственных оборотных средств свидетельствует о неустойчивости финансового положения компании.

В ходе анализа были получены следующие критические показатели финансового положения организации:

• значение коэффициента обеспеченности собственными оборотными средствами, равное -0,22, не соответствует нормативному, находясь в области критических значений;

• коэффициент покрытия инвестиций значительно ниже нормы (доля собственного капитала и долгосрочных обязательств в общей сумме капитала организации составляет 36% (нормальное значение: не менее 75%).

Заключение

В ходе анализа экономических показателей путем сравнения затраченных ресурсов и полученных результатов были выявлены критические «точки» компании, требующие особого внимания при осуществлении планово-экономической деятельности предприятия, занимающегося реализацией инновационной продукции. Полученные результаты дают возможность принимать организационно-управленческие решения, способствующие стабилизации экономики предприятия, не только в кризисных ситуациях, но и в повседневной деятельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сазонов А.А., Колосов В.В., Внучков Ю.А. Методы оценки и анализа экономической эффективности инновационной деятельности предприятия // Вестник Московского государственного областного унивеститета. 2018. N 2. С. 180-187

2. Шарипова Р.А., Гилязова Г.А. О развитии биофармацевтического кластера Республики Татарстан // Электронный экономический вестник. 2018. N 4. С. 30-36

SUMMARY

ANALYSIS OF ECONOMIC PERFOMANCE INDICATORS OF A PHARMACEUTICAL ENTERPRISE PRODUCING INNOVATIVE PRODUCTS

Imangulova A.F. 2nd year masters
Head: **Ugolnikov V.V.**, Candidate of Economic Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: adelya.imangulova@spcpu.ru

The analysis of indicators of the economic efficiency of the enterprise, including the assessment of key indicators, was carried out, the «critical» indicators of the company were identified, and the pricing mechanism for innovative products was considered.

Keywords: *economic efficiency, innovative products, pricing mechanism, critical indicators, economic efficiency indicators, financial stability of a pharmaceutical company, financial stability indicators.*

REFERENCES

1. Sharipova R.A., Gilyazova G.A. On the development of the biopharmaceutical cluster of the Republic of Tatarstan // Electronic economic bulletin. 2018. N 4. P. 30-36. (in Russian)

2. Sazonov A.A., Kolosov V.V., Vnuchkov Yu.A. Methods for assessing and analyzing the economic efficiency of innovative activities of an enterprise// Bulletin of the Moscow State Regional University. 2018. N 2. P. 180-187. (in Russian)

УДК 61:615.1

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ СРЕДИ СТУДЕНТОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ УНИВЕРСИТЕТОВ РОССИИ И ЕВРОПЫ – СРАВНИТЕЛЬНО-СОПОСТАВИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ

Каменских А.А., студ. 2 курса
Руководитель: **Наумова Е.В**., старший преподаватель, НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anastasiya.kamenskih@spcpu.ru

Неправильное употребление лекарств и привычка к самолечению, в частности антибиотикам, становятся все более распространенной практикой даже среди студентов университетов. Был проведён сопоставительный анализ по использованию лекарственных средств среди студентов-фармацевтов разных стран. Полученные данные подтверждают заявления ВОЗ о рисках для здоровья, связанных с неправильным использованием лекарств, особенно о резистентности к антибиотикам, которая может возникнуть в результате неправильного использования этих препаратов.

Ключевые слова: *студенты-фармацевты, фармацевтические препараты, самолечение, антибиотики, опрос, безрецептурные лекарства.*

Всемирная организация здравоохранения утверждает, что «более половины всех лекарств неправильно прописываются, распространяются или продаются, и половина всех пациентов не принимают лекарства правильно» [1]. Проблема в том, что более 50% стран не проводят политику, направленную на поощрение рационального использования лекарств.

Самолечение определяется как покупка лекарств без рецепта для лечения самостоятельно диагностированных заболеваний или симптомов, продление использования фармацевтических препаратов сверх периода, указанного врачом, повторное использование старых рецептов для покупки лекарств или совместное использование лекарств среди родственников и друзей. Политические, экономические и культурные факторы способствовали неуклонному росту самолечения с годами, так что оно становится одной из основных проблем общественного здравоохранения» [2].

Наиболее распространенным и опасным примером такого поведения является нецелевое использование антибиотиков для лечения несерьезных инфекционных заболеваний, так как это способствует распространению устойчивых к антибиотикам возбудителей. За последние десять лет самолечение антибиотиками у молодых людей удвоилось из-за обращения к антибиотикам, когда они не требуются, или из-за несоблюдения инструкций по их применению. На самом деле, даже среди студентов университетов, готовящихся к медицинским профессиям, наблюдается высокий уровень самолечения антибиотиками для лечения болезней, которые проходят спонтанно» [3].

Таким образом, целью данного исследования стало получение данных о склонности к самолечению среди студентов фармацевтических вузов России и Европы.

Объектом исследования послужили студенты-фармацевты разных стран.

Была разработана анкета для получения анонимной информации от студентов-фармацевтов в Италии, Испании, Чехии, Румынии и России об использовании ими лекарств, их знаниях о них и их отношении к ним. Анкета состояла из пяти разделов: 1)вопросы, чтобы охарактеризовать выборку студентов-фармацевтов.

2) вопросы, чтобы понять, как студенты принимают определенные классы лекарств.

3) вопросы, чтобы определить людей, от которых студенты получают советы о медицине.

4) вопросы, чтобы узнать об употреблении, злоупотреблении и правильных привычках.

5) а также вопросы о предварительном ознакомлении с информационным листком, прилагаемым к упаковке препарата.

Глядя на результаты по странам, можно сделать несколько интересных сравнений.

Как видно в рис.1. в ответ на вопрос «Употребляли ли Вы лекарственные средства за последние 12 месяцев?» самый большой процент (94%) ответивших «Да» наблюдается среди российских студентов. Чуть меньший процент наблюдается в Испании, затем Румыния, Италия и Чехия. В среднем количество опрошенных, принимавших лекарственные препараты за последние 12 месяцев, оказалось 83%. Из этого можно сделать вывод о том, что употребление лекарственных средств является нормой для большинства студентов.

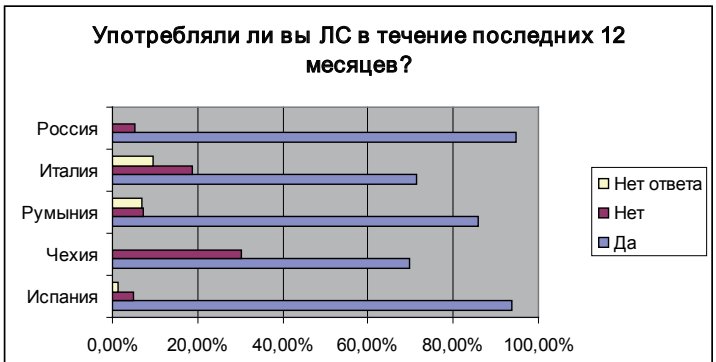


Рис.1. Ответы на вопрос "Употребляли ли вы ЛС в течение последних 12 месяцев?"

Самой распространенной категорией лекарств оказались анальгетики, жаропонижающие и антибиотики. Следует отметить, что использование успокоительных средств в европейских странах, по данным опроса, не превышает 30%, в то время как в России эта цифра достигает 57%. В Испании был самый высокий процент испытуемых, которые признались, что принимали антибиотики без рецепта: 35,7% студентов, в России же 24%. В ответ на вопрос «Кто консультирует вас по фармацевтическим продуктам?» 67,9% чешских студентов указали врачей или фармацевтов, а 32,1% – членов семьи, друзей или самолечение. Приблизительно такие же ответы дали жители других европейских стран, а в России процент молодёжи, занимающейся самолечением, оказался немного выше – 43%. Еще одним неправильным поведением, выявленным в результате этого исследования, было употребление алкоголя вместе с приемом лекарств, прежде всего в Чехии и Испании (рис. 2). Вследствие совместного употребления могут возникнуть вполне реальные опасности, включая тошноту и рвоту, головную боль, сонливость, обмороки или потерю координации, даже проблемы с сердцем и затрудненное дыхание. Алкоголь может сделать лекарство менее эффективным или бесполезным, или даже опасным или токсичным [4].

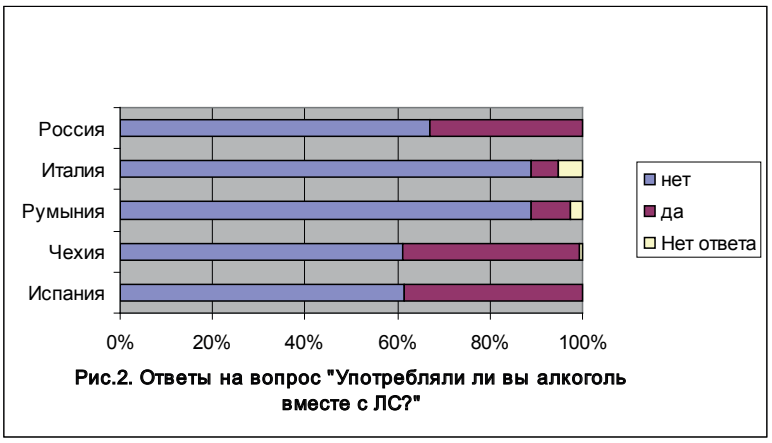


Рис.2. Ответы на вопрос "Употребляли ли вы алкоголь вместе с ЛС?"

К выбору: «Считаете ли вы, что употребление лекарств: в основном полезно, не сильно вредит здоровью?» Наибольшую тревогу вызвали данные по Испании, так как почти 60% студентов не знали, как ответить на вопрос, а 20% даже сказали нет. Что касается остальных стран, в среднем 61% студентов согласны, что лекарства приносят больше пользы, чем вреда.

Неправильное употребление лекарств и привычка к самолечению, в частности антибиотикам, становятся все более распространенной практикой даже среди студентов университетов, как отмечалось ранее. Это исследование было сосредоточено на четко определенной выборке студентов-фармацевтов, которые, казалось бы, будут особенно внимательны и чувствительны к этому вопросу. Однако поистине поразителен процент студентов, которые принимают антибиотики без консультации с врачом. Эта опасная привычка довольно распространена среди испанских и чешских студентов, но также присутствует среди итальянских, румынских и российских студентов, хотя и в меньшем проценте. Это может не быть опасным по своей сути, но может стать таковым, когда человек не знает, как следует использовать лекарство, например, когда антибиотики используются для лечения вирусных инфекций или гриппа. Наши результаты показали, что в пяти странах наиболее широко используемыми фармацевтическими препаратами являются анальгетики и антибиотики. Беспокойство вызывает процент субъектов, которые получают советы по использованию лекарств от членов семьи, а не от медицинских работников, и в частности от фармацевта[5].

Еще одной тревожной тенденцией среди людей этой возрастной группы является рост использования успокоительных[6]. Многие принимают их просто потому, что чувствуют себя немного подавленными или переживают разочарование в школе, в отношениях с друзьями или родственниками.

Одним из наиболее важных профилактических действий, которое следует предпринять, является информирование молодых людей о правильном использовании фармацевтических продуктов в надежде, что они затем будут правильно использовать эти препараты. Научить их читать информацию на упаковке было бы важной мерой, поскольку наши данные показывают, что почти половина опрошенных студентов этого не делает.

Кроме того, чтобы избежать использования остатков лекарств от предыдущей болезни или лекарств, переданных семьей или друзьями, врачи должны выписывать рецепты именно на то количество лекарства, которое необходимо пациенту. Точно так же фармацевтические фирмы должны производить упаковки лекарств таким образом, чтобы не превышались надлежащие дозы, или фармацевты должны готовить персонализированные упаковки с точным количеством доз, предписанных пациенту.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения. Мировая статистика здравоохранения. [Электронный ресурс]. URL: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2015/en/ (Дата обращения: 10.03.2022).

2. Self-Medication with Antibiotics, Attitude and Knowledge of Antibiotic Resistance among Community Residents and Undergraduate Students in Northwest Nigeria / O. Ajibola [et al.] // Diseases. 2018. Vol. 6(2). P. 32. doi: 10.3390/diseases6020032.

3. Knowledge, Attitude, and Practice with Respect to Antibiotic Use among Chinese Medical Students: A Multicentre Cross-Sectional Study / Y. Hu [et al.] // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2018. Vol. 15(6). P.165. doi.org/10.3390/ijerph15061165.

4. National Institute on Alcohol Abuse and Alcholism. Harmful Interactions mixing alcohol with medicines. [Internet]. URL: https://www.niaaa.nih.gov/publications/brochures-and-fact-sheets/harmful-interactions-mixing-alcohol-with-medicines (Accessed: 10.03.2022).

5. European university students of pharmacy: survey on the use of pharmaceutical drugs / S. Scuri [et al.] // Acta Biomed. 2019. N.90(1). P. 83–91. doi.org/10.23750/abm.v90i1.7572.

6. Use of self-medication among adolescents: a systematic review and meta-analysis / M.R. Gualano [et al.] // Eur J Public Health. 2015. Vol. 25(3). P. 444–500.

SUMMARY

THE USE OF PHARMACEUTICAL DRUGS AMONG PHARMACY STUDENTS IN EUROPE AND RUSSIA – A COMPARATIVE STUDY

Kamenskih A.A., 2nd year student
Scientific adviser: **Naumova E.V**., senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popova St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: anastasiya.kamenskih@spcpu.ru

Inappropriate use of drugs and the habit of self-medication, in particular that of antibiotics, are increasingly widespread practices even among university students. A comparative analysis was carried out on the use of medicines among pharmacy students from different countries. The findings confirm the WHO statements about the health risks of the incorrect use of medicines, especially resistance to antibiotics that can result from wrongheaded use of these drugs.

Keywords: *students of pharmacy, pharmaceuticals, self-medication, antibiotics, survey, over-the-counter drugs.*

REFERENCES

1. World Health Organization. World Health Statistics. 2015. [Internet]. URL:http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2015/en/ (Accessed: 03/10/2022). (in Russian).

2. Self-Medication with Antibiotics, Attitude and Knowledge of Antibiotic Resistance among Community Residents and Undergraduate Students in Northwest Nigeria / O. Ajibola [et al.] // Diseases. 2018. Vol. 6(2). P. 32. doi: 10.3390/diseases6020032.

3. Knowledge, Attitude, and Practice with Respect to Antibiotic Use among Chinese Medical Students: A Multicentre Cross-Sectional Study / Y. Hu [et al.] // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2018. Vol. 15(6). P.165. doi.org/10.3390/ijerph15061165.

4. National Institute on Alcohol Abuse and Alcholism. Harmful Interactions mixing alcohol with medicines. [Internet]. URL: https://www.niaaa.nih.gov/publications/brochures-and-fact-sheets/harmful-interactions-mixing-alcohol-with-medicines (Accessed: 10.03.2022).

5. European university students of pharmacy: survey on the use of pharmaceutical drugs / S. Scuri [et al.] // Acta Biomed. 2019. N.90(1). P. 83–91. doi.org/10.23750/abm.v90i1.7572.

6. Use of self-medication among adolescents: a systematic review and meta-analysis / M.R. Gualano [et al.] // Eur J Public Health. 2015. Vol. 25(3). P. 444–500.

УДК 658.5.011/615

СПЕЦИФИКА УПРАВЛЕНИЯ РИСКАМИ, ВОЗНИКАЮЩИМИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ РФЛП

Капутская И.А., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Коваленко А.В.**, канд. экон. наук, доцент кафедры экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: irma.kaputskaya@spcpu.ru

Идентифицированы риски, возникающие при производстве радиофармпрепаратов. Проведена оценка возможного ущерба при реализации рисков. Приведены рекомендации по снижению уровня рисков и управления ими.

Ключевые слова: *радиофармпрепарат, риски, онкологические заболевания, качество, GMP.*

С каждым годом увеличивается число людей, страдающих от онкологических заболеваний. По данным международного статистического агентства Cancer Research UK в 2020 году было зафиксировано около 17 млн выявлений онкологических заболеваний среди населения мира. При этом отмечается, что к 2030 году рост случаев подобных заболеваний вырастет на 60-65% [1]. Более чем в половине случаев выявления новообразований или уточнения диагноза использовались радиофармацевтические лекарственные препараты (РФЛП). В 30% выявленных заболеваний используют различные виды технологий ядерной медицины для лечения, включая лечение с использованием РФЛП. Производство данных препаратов в настоящее время становится все больше рутинным, однако требует учета большего количества факторов и особенностей РФЛП, например, радиоактивность. При этом необходимо модифицировать и подстраивать существующие подходы в области обеспечения качества производимых РФЛП с учетом их особенностей.

Целью настоящей работы являлся анализ принципов управления рисками при производстве РФЛП, а также разработка управленческих решений на примере производства препарата 18F-Фтордезоксиглюкоза в КГБУЗ «Краевой клинический центр онкологии» г. Хабаровска.

Материалы и методы

В период с сентября 2020 г. по декабрь 2021 г. в рамках предприятия КГБУЗ «Краевой клинический центр онкологии» были проведены мероприятия по сбору и анализу статистической информации, основанной на данных об отклонениях и сбоях в процессе производства РФЛП за период 2018-2021 гг.

Радиофармацевтические лекарственные препараты представляются собой лекарственный препарат, в составе которого содержится химическое соединение, меченное одним или несколькими радионуклидами. На сегодняшний день в ГРЛС числится 36 регистрационных удостоверений (РУ) на РФЛП, 12 из которых приходится на получивший распространение в последнее десятилетие препарат 18F-Фтордезоксюглюкоза. Тем не менее в рамках изготовления на местах ведется непрерывная разработка новых РФЛП.

По виду применения выделяют диагностические и терапевтические РФЛП.

Особняком стоят радионуклидные генераторы, регистрируемые в РФ как медицинские изделия, и требующие несколько иного подхода к управлению рисками, нежели лекарственные препараты. Поэтому в данной работе они упущены из рассмотрения.

Производство РФЛП, как и производство любых других лекарственных препаратов, предполагает проведение тщательного контроля качества препарата в соответствии с разработанными на предприятии стандартами и утвержденными стандартными операционными процедурами (СОП).

Помимо этого производство РФЛП сопряжено с обращением большого количества радиоактивных веществ. При этом препарат не может быть выпущен в гражданский оборот для его реализации в аптечной сети. Потребителем данного вида препаратов являются исключительно юридические лица, имеющие лицензию на право использования источников ионизирующего излучения и санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности применения тех или иных изотопов в организации.

Масштабы производства РФЛП малы в отношении объема серии по сравнению с обычным фармацевтическим предприятием, однако, из-за небольшого срока годности РФЛП требуется производство большого количества серий в течение года с соответствующим документальным оформлением серий.

Радиоактивность препарата накладывает также особые требования к технической организации производства, значительно сокращающей риски облучения персонала при выполнении работ. Все операции, выполняемые при производстве РФЛП, проводятся с использованием изолирующих технологий, которые обеспечивают не только защиту препарата от окружающей среды, но и защиту персонала и окружающей среды от радиационного воздействия препарата. Однако, любые срывы в процессе синтезирования или фасовки препарата не позволяют сиюминутного производства новой серии при использовании одного и того же оборудования и требуют выдерживания на распад в течение определенного времени. Поэтому особо важно к классическим методам оценки рисков на фармацевтическом производстве добавить методы оценки рисков отказа оборудования.

На первом этапе проводимого исследования были оценены основные особенности РФЛП, которые должны быть учтены для формирования системы управления рисками. Среди ключевых особенностей, которые могут оказать влияние на анализ рисков и формирование управленческих решений, выделены следующие:

1) лекарственная форма препарата;

Большинство РФЛП производятся в инъекционной форме, при этом проведение стерилизации препарата проводится с использованием стерилизующей фильтрации из-за влияния автоклавирования на стабильность препарата.

2) тип радионуклида в составе РФЛП: его период полураспада, вид излучения;

Срок годности РФЛП определяется с учетом периода полураспада изотопа в состав препарата, так, например, срок годности препарата 18F-Фтордезоксиглюкоза составляет 12 ч и не превышает 10 периодов полураспада изотопа фтора – 18.

3) радионуклидные примеси;

Техническая реализация получения необходимых изотопов такова, что при их наработке неминуемо образовываются посторонние изотопы с различными периодами полураспада, что может привести как к повышенным рискам облучения персонала, так и к загрязнению самого препарата паразитными изотопами.

4) особенности упаковки и маркировки препарата;

5) обеспечение стерильности препарата;

Фасовка инъекционных форм препарата проводится в асептических условиях с применением стерилизующих фильтров. При этом допускается выпуск препарата в оборот до получения подтверждения стерильности препарата.

Помимо выше указанных особенностей, необходимо учитывать и стандартные риски при производстве лекарственных средств, такие как микробиологическое загрязнение, перекрестная контаминация и тд.

На следующем этапе работы были изучены основные методы, используемые при анализе рисков, и выполнен непосредственно анализ рисков, на примере производства препарата 18F-Фтордезоксиглюкоза.

Основные методы анализа рисков, пользующиеся наибольшей популярностью среди фармпроизводителей [2]:

- FMEA – анализ видов и последствий отказов;
- HACCP – анализ опасности и критических контрольных точек;
- HAZOP – исследование опасности и работоспособности;
- FMECA – анализ видов, последствий и критичности отказов.

На основе приведенных выше особенностей производства радиофармпрепаратов при выполнении данной работы была подобрана следующая структура системы анализа рисков на производстве РФЛП:

1) выявление рисков на первоначальном этапе:

- мозговой штурм (исключение данного метода из структуры не позволит оценить в достаточной мере уязвимые места технической реализации производства, а также выявить риски с истоником «Персонал»);
- FTA (метод позволяет системно проследить источники возникновения рисков и выявить коренную причину реализации риска) [3];

Сводные данные данного этапа можно представить в наглядной форме в виде диаграммы Исикавы.

Дополнительно данные методы необходимо подкреплять статистической информацией о возникновении тех или иных сбоев при производстве, отклонений при контроле качества РФЛП и тд. На рисунке 1 приведен пример первичной статистической оценки возникновения сбоев при производстве, ставших причиной срыва производства серии.

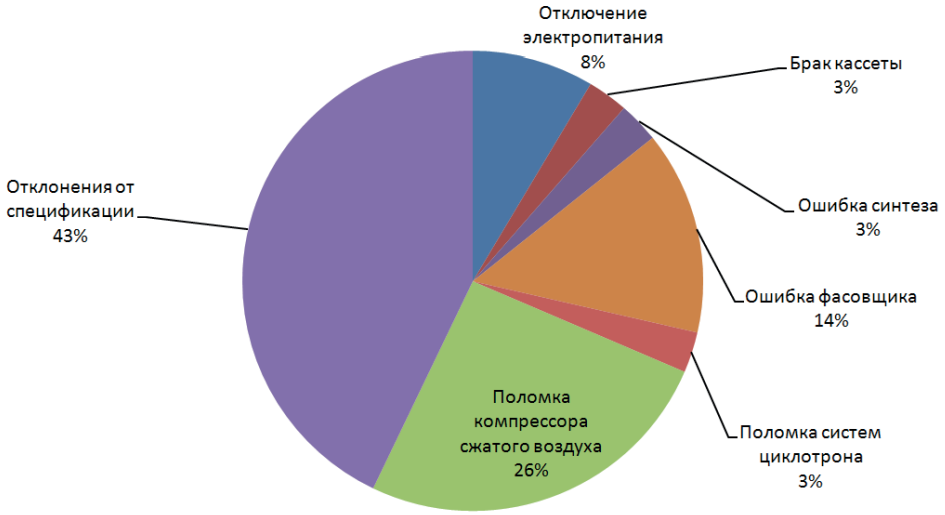


Рисунок 1. Диаграмма частот появления сбоев при производстве препарата 18F-Фтордезоксиглюкоза (2018 г.)

2) выявление рисков по критическим процессам:

- FMEA (позволит соотнести отклонения и процессы, а также выявить возможные причины и последствия реализации рисков и провести первичное распределение рисков по степени их критичности) [4];

- HACCP (позволит выделить критические точки для осуществления контроля и определить корректирующие действия для первичного управления рисками) [5];

- HAZOP (рекомендуется использовать для формирования статистики и обобщения полученных в результате применения других методов данных) [6];

Результатом внедрения процедуры выявления рисков по второму этапу стало снижение частоты возникновения рисков и выявление новых видов сбоев и источников рисков. На рисунке 2 приведена обновленная диаграмма рисков при производстве препарата 18F-Фтордезоксиглюкоза (2019 г.)

3) оценка рисков;

Полученные при выполнении двух первых этапов выявления рисков позволяют сформировать базу данных по всем видам рисков с указанием частоты их появления (ЧП), оценки вероятности появления (ВП), а также оценки тяжести последствий (Т) от появления данного вида риска.

4) ранжирование рисков

Для выполнения данного этапа рекомендуется разработать шкалу для отнесения рисков к значительным, управляемым и незначительным. Подобная классификация рисков сформирована при выполнении работы для создания окончательной структуры рисков, критических точек для контроля и разработки мер управления рисками.

Отдельным сигнализирующим методом рекомендуется ввод карт Шухарта, которые позволят своевременно выявлять реализацию того или иного риска как при производстве РФЛП, так и при выполнении процедур контроля качества.

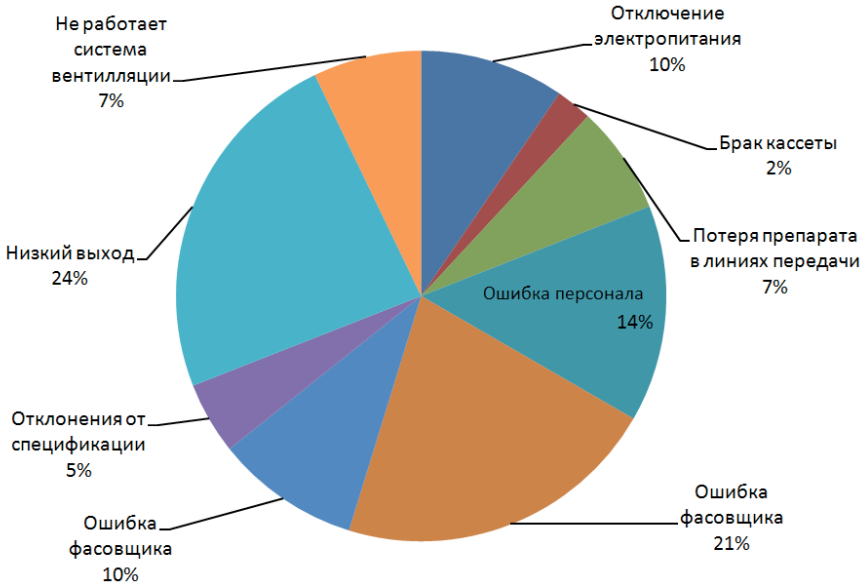


Рисунок 2. Диаграмма частот появления сбоев при производстве препарата 18F-Фтордезоксиглюкоза (2020 г.)

Проведенный анализ позволил создать в рамках действующего предприятия систему управления рисками, которая включает в себя следующие элементы:

1) документированные процедуры выполнения идентификации и анализа рисков, реализованные в виде Стандарта предприятия и соответствующих СОП;

2) разработанные протоколы идентификации рисков, анализа рисков по процессам синтеза, фасовки, контроля качества РФЛП, а также по процессам подготовки оборудования, помещений и персонала;

3) в результате выполнения процедур, регламентированных разработанными СОП, была выстроена карта рисков. В таблице приведены несколько элементов из разработанной карты.

Таблица – Карта рисков при производстве 18F-Фтордезоксиглюкоза

№	Процесс	Риск	Причина	ЧП	ВП	Т	Ранг риска	Норма/источник	CAPA
1	Подготовка исходного сырья	Нарушение стерильности	Нарушение герметичности упаковки	9	7	8	Упр	Стерильно/ Спецификация	Аудит поставщиков Входной контроль
2	Хранение исходного сырья	Несоответствие теплового режима и влажности	Сбой работы системы вентиляции	9	6	7	Упр	Условия хранения в соответствии с маркировкой производителя/ Спецификация	Мониторинг условий хранения
3	Контроль качества	Недостоверность данных	Нет валидации	2	4	7	Упр	Достоверность полученных данных/ Требования GMP	Валидация методик

4) внесены изменения в СОП, регламентирующие разработку и оценку эффективности корректирующих и предупреждающих мероприятий (CAPA);

5) создан реестр рисков, а также разработана процедура ведения и актуализации рисков по мере выполнения CAPA;

6) разработана процедура оценки эффективности системы управления рисками и CAPA в частности;

7) дополнен отчет об эффективности функционирования системы менеджмента качества (СМК).

Результаты и обсуждение

Разработанная система управления рисками прошла успешную процедуру внедрения в СМК и позволила своевременно выявлять и корректировать возникающие риски, а также сократить ущерб от реализации рисков на 3-4 млн рублей. Помимо этого были сокращены объемы работ по валидации и квалификации и соответственно время, затрачиваемое на их проведение. Повысилась надежность обеспечения стерильности процесса фасовки РФЛП.

Однако реализация и особенно внедрения системы управления рисками на любом предприятии сопряжена со значительными трудностями.

Основными сложностями при реализации процессов управления рисками стали

- документирование процедур в виду нехватки персонала, обладающего необходимыми знаниями;
- обучение персонала;
- проведение работ по управлению рисками было возложено на персонал в рамках дополнительной нагрузки, и не было оценено сотрудниками положительно;
- отсутствие дополнительного персонала, способного беспристрастно оценить риски. Рабочая группа по оценке рисков состояла только из персонала, работающего в рассматриваемых процессах.
- стоимостное выражение вносимых изменений в процесс по результатам разработки CAPA;
- вероятность излишней бюрократизации процесса.

РФЛП относятся к числу самых «проблемных» препаратов, т.к. их производство сопряжено со значительными трудностями и необходимостью соблюдений многих требований нормативных документов.

Заключение

Для производства высококачественных радиофармацевтических препаратов жизненно важно выявлять, анализировать, оценивать, устранять и предупреждать происшествия и сбои, возникающие на этапах инсталляции, испытания и эксплуатации оборудования для производства. В результате выполнения данной работы был выполнен анализ принципов управления рисками при производстве РФЛП, а также разработана структура системы управления рисками и принятия управленческих решений на примере производства препарата 18F-Фтордезоксиглюкоза.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.75.02 Общие проблемы

ЛИТЕРАТУРА

1. Cancer statistics. [Internet]. URL: https/www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/treatment#heading-Three . (Accessed: 01.03.2021).

2. Анализ отраслевой практики по управлению рисками для качества лекарственных средств на российских фармацевтических предприятиях / А.Б. Каширина [и др.] // Фармация и фармакология. 2020. Т. 8. N 5. С. 362-376. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-5-362-376

3. ICH Q9 «Управление рисками по качеству» (ICH Q9 – Risk Quality Management). – [Электронный ресурс] URL: http://www.ich.org

4. Ивашина М.М., Нацибаева Е.А., Попова Л.Ф. Рискориентированный подход как направление совершенствования системы менеджмента качества промышленных предприятий // Экономический журнал. 2018. N 2(50). С. 28–38.

5. Quality Risk Management: Putting GMP Controls First / K. O'Donnell [et al.] // PDA J Pharm Sci Technol. 2012. Vol. 66(3). P. 243–261. DOI: 10.5731/pdajpst.2012.00859.

6. Omar A.I., Moyassar I.A. Using Quality Risk Management in Pharmaceutical Industries: A Case Study // Quality Access to success. 2020. Vol. 21(178). P. 106–113.

SUMMARY

PECULIARITIES OF RISKS MANAGEMENT DURING THE PRODUCTION OF RADIOPHARMACEUTICALS

Kaputskaya I.A., 2nd year master student

Academic advise: **Kovalenko A.V.**, Candidate of Economical Sciences, senior lecturer

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation

E-mail: irma.kaputskaya@spcpu.ru

The risks arising during the production of RFLP are identified. An assessment of possible damage during the implementation of risks was carried out. Recommendations are given to reduce the level of risks and manage them.

Keywords: *Radiopharmaceutical, risks, oncological diseases, quality, GMP.*

REFERENCES

1. Cancer statistics. [Internet]. URL: https/www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/treatment#heading-Three. (Accessed: 01.03.2021).
2. Analiz otraslevoj praktiki po upravleniju riskami dlja kachestva lekarstvennyh sredstv na rossijskih farmacevticheskih predprijatijah / A.B. Kashirina [et al.] // Farmacija i farmakologija. 2020. Vol. 8(5). P. 362-376. (in Russian). DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-5-362-376
3. ICH Q9 «Управление рисками по качеству» (ICH Q9 – Risk Quality Management). – [Электронный ресурс] URL: http://www.ich.org
4. Ivashina M.M., Nacipaeva E.A., Popova L.F. Riskorientirovannyj podhod kak napravlenie sovershenstvovanija sistemy menedzhmenta kachestva promyshlennyh predprijatij // Jekonomicheskij zhurnal. 2018. N 2(50). C. 28–38. (in Russian).
5. Quality Risk Management: Putting GMP Controls First / K. O'Donnell [et al.] // PDA J Pharm Sci Technol. 2012. Vol. 66(3). P. 243–261. DOI: 10.5731/pdajpst.2012.00859.
6. Omar A.I., Moyassar I.A. Using Quality Risk Management in Pharmaceutical Industries: A Case Study // Quality Access to success. 2020. Vol. 21(178). P. 106–113.

УДК 331.108

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К КАТЕГОРИИ «ТАЛАНТ» В УПРАВЛЕНИИ ПЕРСОНАЛОМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ

Катилова К.А., магистрант 1 года обучения
Руководитель: **Сафронова Ж.С.,** канд. пед. наук, доцент кафедры экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
Email: katilova.kristina@pharminnotech.com

В статье рассмотрены различные вариации определения понятия «талант», определены основные подходы к управлению талантами. Проанализировано исследование среди сотрудников фармацевтической отрасли, выявившее актуальность привлечения талантливых сотрудников, а также особенности управления талантами на фармацевтическом предприятии.

Ключевые слова: *талант, управление талантами, профессиональные и социальные компетенции, управление персоналом, привлечение и развитие талантливого персонала.*

Гарантия безопасности в сфере лекарственного обеспечения населения, достижения передового уровня научно-технического и технологического развития фармацевтической промышленности, создание экспортно-ориентированного потенциала, наличие компетенций в исследованиях и разработках всецело зависят от качества трудовых ресурсов фармацевтической отрасли [1; 2; 3]. Так крупные фармацевтические компании, нацеленные занять лидирующие позиции на рынке, уделяют особое внимание сотрудникам. Происходит поиск новых направлений в управлении персоналом фармацевтических предприятий, инновационных практик, маркетинговых технологий в привлечении конкурентоспособных специалистов. Одной из таких технологий является управление талантами.

Практика показывает, что многие фармацевтические компании активно эксплуатируют новый тренд в управлении персоналом – это работа с талантами. Многие фармацевтические компании как Novartis Pharmaceuticals, Bayer, Sanofi, Pfizer, STADA, Teva нацелены на развитие талантов и получение высоких результатов деятельности путем самореализации сотрудников [4]. В частности, компания «Фармсинтез» заявляет, что «сотрудничает с талантливым, профессиональным и приверженным персоналом с высокой мотивацией», потому что подобные сотрудники являются мощным инструментом к осуществлению успешной деятельности компании [5]. Однако нигде не обозначено, каких сотрудников можно считать талантливыми, каковы пределы инициативы и др.

Целью статьи является рассмотрение теоретических подходов к категории «талант» в управлении персоналом фармацевтического предприятия. Задачи:

- определить понятие «талант» на основе анализа источников;
- определить основные подходы к управлению талантами;
- обосновать особенности управления талантами на фармацевтическом предприятии;

Для понимания и оперирования понятием «талант», следует определиться с его феноменологией и иметь четкое представление о данном явлении, а чтобы обосновать значимость и необходимость наличия талантливых сотрудников на современных фармацевтических предприятиях, необходимо, прежде всего, выяснить, что подразумевает под собой понятие «талант». Термин «талант» происходит от греческого слова «talanton» и означает «выдающиеся способности» [6]. Анализ литературы показал, что авторы не приводят однозначного определения данного понятия, также в большинстве статей рассматриваются вопросы управления талантами, а не терминология. В «Словаре по общественным наукам» «талант» – это человек, обладающий выдающимися способностями в той или иной области [7].

Ниже приведены определения таланта в трудах ученых различных направлений наук [8-12] (таблица).

Таблица – Определение понятия «талант»

Понятие	Определение	Автор
Талант – степень одаренности	высокая степень одаренности	А.А. Никитин
	высокое природное дарование, выдающаяся способность к деятельности в какой-либо области: научной, художественной, практической (политика, техника и пр.). Талант нуждается в упражнении, чтобы достигнуть определённой степени совершенства. От гения отличается меньшей степенью творческой оригинальности	Ф.А. Брокгауз, И.А. Ефрон
	есть одаренность. В данном случае талант воспринимается как природный дар, проявляющийся в сообразительности, выдающихся способностях и гениальности.	Р.А. Муртазин
Талант – профессионализм и компетентность	это человек, обладающий высоким профессионализмом и компетентностью, оценка которого производится по двум параметрам: – профессиональная компетентность – оценка профессиональных знаний и навыков и результатов труда; – компетенции, соответствующие уровню развития управленческих навыков (например, используются корпоративные компетенции) которые, в свою очередь, определяются стратегическими целями компании и выдают требования к личностным характеристикам и мотивации каждого сотрудника.	Ю.Г Одегов
Талант – сплав одаренности, способностей и опыта	способности и одаренность, которые могут быть развиты по мере приобретения опыта и навыков; определенные знания и ценные навыки, которые необходимы любой организации.	В.В. Луцкина
Талант –сотрудник, обладающий необходимыми для организации качествами	достигает цели и задачи, которые стоят перед ним; имеет научный и творческий потенциал и применяет его на практике; имеет высокую производительность труда; является лидером среди коллег; мобилен, чувствует особенности организационной культуры; сопоставляет свои личные интересы с интересами организации; нацелен на личностный и профессиональный рост в рамках данной организации.	Ю.Н. Захарова
Талант – уровень интеллектуально-волевых способностей	обладает высоким уровнем мышления, обучаемости и настойчивости	А. Эриксон

Теоретический анализ литературы показывает, что подходы к определению «талант» достаточно разнообразные. В большинстве случаев под «талантом» понимается человек с врожденными способностями, определяющими его профессионализм. Ю.Г. Одегов дополняет данное определение и выделяет еще одну важную составляющую: по его мнению, талант определяется также соответствующими компетенциями, то есть личными характеристиками. Очевидно то, что талантливые сотрудники, должны являться ключом к успешной деятельности любой компании, в том числе фармацевтической. Талантливые сотрудники способны выполнять поставленные задачи, показывать высокие результаты; владеть профессиональной и социальной компетенциями, нацелены на постоянное развитие, имеют высокую мотивацию к профессиональному и личностному росту и демонстрируют стремление к качественной работе.

Вышеизложенное подчеркивает необходимость более детального рассмотрения вопроса о деятельности компании с целью привлечения талантов. Следует отметить, что на данный момент активно проводятся исследования эффективности использования талантов в фармацевтической сфере и это является актуальным трендом в управлении персоналом.

Известная отраслевая сеть для сотрудников фармацевтических компаний Pharm-Med.ru провела исследование «Талантливые сотрудники для фармацевтической компании» [13]. В ходе данного исследования было выявлено, что действительно существует интерес к данному направлению в управлении персоналом, об этом свидетельствуют следующие результаты. Половина опрошенных считает проблему привлечения талантов существенной, но не приоритетной, а треть считает проблему насущной, одной из наиболее важных, первостепенных (рис. 1).

Рисунок 1. Актуальность проблемы привлечения талантливых сотрудников

Около 20% опрошенных считают, что компании, в которых они работают, развивают корпоративную культуру, что способствует развитию талантливых сотрудников. 17% респондентов заявляют, что их компании выявляют данную категорию из сотрудников компании и направляют силы на дальнейшее развитие их потенциала. Таким образом, результаты опроса представлены на рисунке 2.

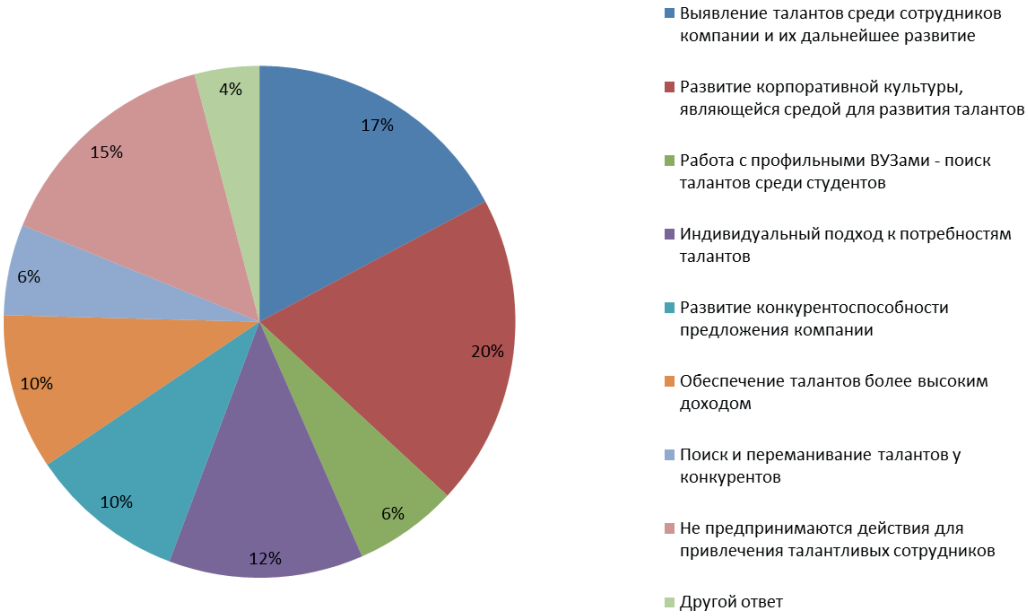


Рисунок 2. Действия компании для привлечения талантливых сотрудников

Результаты проведенного анализа позволяют сделать следующие выводы, представляющие интерес для нашего исследования:

1. Большинство респондентов считают, что фармацевтические компании, с которыми они сотрудничают, направлены на работу с талантами и предпринимают те или иные действия для их привлечения.

2. Наиболее популярным способом привлечения талантов является создание благоприятной корпоративной культуры и развитие собственных сотрудников.

3. Привлечение фармацевтическими компаниями новых талантливых сотрудников со стороны в качестве решения проблемы отсутствия талантов пользуется меньшей актуальностью, судя по оценке опрошенных.

При рассмотрении подходов к работе с персоналом, важно отметить, что существует два подхода к проблеме талантливого персонала.

Первый подход направлен на разделение имеющегося персонала на талантливых и неталантливых сотрудников, и дальнейшее применение методов управления и развития относительно первой группы. Его достоинства связаны с пониманием сотрудниками специфики компании, сокращением времени адаптации, целенаправленным формированием лояльности и приверженности. Однако есть определённые недостатки – отсутствие новых людей с нетрадиционными для компании взглядами, влияние коллег на принятие решений, необходимость вложения материальных средств в развитие сотрудников и, безусловно, риск, что после всех затрат на развитие таланта, такой сотрудник может уйти из компании.

Второй подход направлен на привлечение уже сформировавшихся талантов. Очевидно, основными достоинствами будет готовность работников приступать к решению сложных нестандартных задач, применение новых идей, иннова-

ций. Из недостатков можно выделить незнание специфики компании, возможные сложности адаптации в коллективе, риски негативного влияния нововведений на результативность деятельности компании, пренебрежение к имеющимся нормам, традициям, установкам и желание быстрых глобальных преобразований внутри компании [14].

В результате исследования теоретических подходов к понятию «талант» можно заключить, что одной из задач управления персоналом на современном этапе является выявление талантов сотрудников и создание условий для реализации их способностей, навыков и компетенций в деятельности.

Современные компании готовы выделять достаточное количество ресурсов для поиска талантов и дальнейшего их развития, так как от талантов ожидается высокая результативность деятельности, раскрытие инновационного потенциала, высокой обучаемости, наличие профессионального и социального опыта, гибкость в принятии решений, умение налаживать эффективные коммуникации и пр. Иными словами, создание условий для привлечения и развития талантов является актуальной маркетинговой стратегией для компании.[15]

Чем яснее компании представляют себе, что такое талант и какие качества работника требуются для компании не только на данный момент, но и на перспективу, тем более эффективно можно организовать поиск, привлечение и развитие талантливого персонала. Абстрактные понятия являются неприемлемыми и показывают скорее несостоятельность управляющей системы в работе с персоналом, отражают погоню за трендами на рынке труда, без осмысления всех преимуществ использования таланта в фармацевтической компании.

Структура таланта будет уникальной и актуальной для каждой отдельной компании, а это значит, что нужно четко представлять себе векторы развития компании, риски и экономическую эффективность развития талантов, взаимосвязь развития компании и направлений развития талантливого персонала.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

82.00.00 Организация и управление

82.17.25 Управление персоналом

ЛИТЕРАТУРА

1. От «Фармы-2020» к «Фарме-2030»: проблемы, задачи, перспективы // ЛекОбоз. [Электронный ресурс]. URL: https://lekoboz.ru/farmrynok/ot-farmy-2020-k-farme-2030-problemy-zadachi-perspektivy. (Дата обращения 04.03.2022)

2. Указ о национальных целях развития России до 2030 года // Президент России. [Электронный ресурс]. URL: http://www.kremlin.ru/events/president/news/63728 . (Дата обращения 3.03.2022).

3. О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года : указ Президента Российской Федерации от 7 мая 2018 г. №204, Ст. 2817// Собрание законодательства. 2018. N 20.

4. Работодатель мечты 2021: фармацевтической отрасли России // MEDPRED. [Электронный ресурс]. URL: https://medpred.ru/articles/sotrudniki-farmkompaniy-vibrali-luchshih-rabotodateley-farmatsevticheskoy-otrasli/ . (Дата обращения 27.02.2022)

5. Фармсинтез Кадровая // Фармсинтез. [Электронный ресурс] URL: https://pharmasyntez.com/career/policy/ . (Дата обращения 28.02.2022).

6. Варфоломеева И.В. Как удержать талантливых специалистов. Часть 1 // cabinet. [Электронный ресурс]. URL: https://sdo-regional.ru/prof-post/kak-uderzhat-talantlivykh-spetsialistov . (Дата обращения 04.11.2021)

7. Словарь по общественным наукам // Глоссарий.ру. [Электронный ресурс] URL: http://www.glossary.ru/ . (Дата обращения 05.11.2021)

8. Никитин А.А. О современных подходах к постижению феномена одаренности // Мир психологии. 2011. N 1(65). С. 127–137

9. Энциклопедический словарь Брокгауза и Ефрона // GUFO.ME. [Электронный ресурс] URL: https://gufo.me/dict/brockhaus . (Дата обращения 05.11.2021)

10. Муртазин Р., Луцкина В. Фокус - на таланты // iTeam. [Электронный ресурс] URL: https://blog.iteam.ru/fokus-na-talanty/ . (Дата обращения 02.11.2021)

11. Одегов Ю.Г. Управление талантами – реальность современного менеджмента // Вестник Омского университет. Серия «Экономика». 2015. N 1 С. 92 – 99.

12. Захарова Ю.Н. Особенности реализации корпоративной ответственности в управлении талантливыми сотрудниками организации // Российский научный мир. 2013. N 1. С. 131–137.

13. Лифанова Е. Талантливые сотрудники для фармацевтической компании // КАУС. [Электронный ресурс]. URL: https://www.kaus-group.ru/knowledge/300-articles/category/market/material/500/. (Дата обращения 03.03.2022)

14. Н. Райш Управление талантами (Talent Management) для успешной работы с HiPo-сотрудниками // Корпоративный менеджмент. [Электронный ресурс]. URL: https://www.cfin.ru/management/people/motivation/Talent_Management.shtml (Дата обращения 03.11.2021)

15. Журавлева Т.А., Семенова Е.М. Теоретические основы организации и проведения маркетинга персонала на современных предприятиях // Инновации и инвестиции. 2017 N 4 С. 78-81.

SUMMARY

THEORETICAL APPROACHES TO THE CATEGORY OF «TALENT» IN THE HUMAN RESOURCE MANAGEMENT OF A PHARMACEUTICAL COMPANY.

Katilova K.A., mag. 1 year of study
Academic advise: Safronova Zh.S., Candidate of Pedagogical Sciences, Associate Professor
Saint Petersburg State University of Chemistry and Pharmacy
197376, St. Petersburg, Professor Popov str., 14, Russian Federation
E-mail: katilova.kristina@pharminnotech.com

The article discusses various variations of the definition of «talent», defines the main approaches to talent management. A study among employees of the pharmaceutical industry was analyzed, which revealed the relevance of attracting talented employees, as well as the peculiarities of talent management at a pharmaceutical company.

Keywords: *talent, talent management, professional and social competencies, human resource management, attraction and development of talented personnel.*

REFERENCES

1. From «Pharma-2020» to «Pharma-2030»: problems, tasks, prospects [Internet] / LekOboz. URL: https://lekoboz.ru/farmrynok/ot-farmy-2020-k-farme-2030-problemy-zadachi-perspektivy (Accessed: 04.03.2022). (in Russian)
2. Decree on the National Development Goals of Russia until 2030 // President of Russia. [Internet]. URL: http://www.kremlin.ru/events/president/news/63728 (Accessed 03.03.2022). (in Russian)
3. On national goals and strategic objectives of the development of the Russian Federation for the period up to 2024 : Decree of the President of the Russian Federation No. 204 of May 7, 2018 : St. 2817 // Collection of Legislation. 2018. N 20. (in Russian)
4. Dream Employer 2022 pharmaceutical companies // MEDPRED. [Internet]. URL: https://medpred.ru/articles/sotrudniki-farmkompaniy-vibrali-luchshih-rabotodateley-farmatsevticheskoy-otrasli / (Accessed 27.02.2022). (in Russian)
5. Pharmsintez Personnel policy [Internet] // Pharmsintez. URL: https://pharmasyntez.com/career/policy/ (Accessed 28.02.2022). (in Russian)
6. Varfolomeeva I.V. How to retain talented specialists. Part 1 // cabinet. [Internet]. URL: https://sdo-regional.ru/prof-post/kak-uderzhat-talantlivykh-spetsialistov (Accessed 04.11.2021). (in Russian)
7. Dictionary of Social Sciences // Glossary.ru. [Internet]. URL: http://www.glossary.ru (Accessed 05.11.2021). (in Russian)
8. Nikitin A.A. On modern approaches to understanding the phenomenon of giftedness // The world of psychology. 2011. N 1(65). P. 127-137. (in Russian)
9. Brockhaus and Efron Encyclopedic Dictionary // GUFO.ME. [Electronic resource]. URL: https://gufo.me/dict/brockhaus (Accessed: 05.11.2021). (in Russian)
10. Murtazin R., Lutskina V. Focus – on talents // iTeam. [Internet] URL: https://blog.iteam.ru/fokus-na-talanty (Accessed 02.11.2021). (in Russian)
11. Odegov Yu.G. Talent management – the reality of modern management // Bulletin of Omsk University. Series «Economics». 2015. N 1. P. 92-99. (in Russian)
12. Zakharova, Yu.N. Features of corporate responsibility implementation in the management of talented employees of the organization // The Russian scientific world. 2013. N 1. P. 131-137. (in Russian)
13. Lifanova E. Talented employees for a pharmaceutical company // KAUS. [Internet] URL: https://www.kaus-group.ru/knowledge/300-articles/category/market/material/500/ (Accessed: 03.03.2022). (in Russian)
14. N. Raish Talent Management for successful work with HiPo employees //Corporate management [Internet]. URL: https://www.cfin.ru/management/people/motivation/Talent_Management.shtml (Accessed: 03.11.2021). (in Russian)
15. Zhuravleva T.A., Semenova E.M. Theoretical foundations of the organization and conduct of personnel marketing at modern enterprises // Innovation and investment. 2017. N 4. P. 78-81. (in Russian)

УДК 331.1

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОРГАНИЗАЦИИ КОМАНДНОЙ РАБОТЫ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ОТРАСЛИ

Каширина Л.С., магистрант 1 года обучения
Научный руководитель: **Орлов А.С.**, канд. фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой экономики и управления
(ORCID: 0000-0002-1467-6234)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: kashirina.larisa@pharminnotech.com

В данной статье представлено описание современных подходов к организации командной работы на предприятиях фармацевтической отрасли и выявлены факторы, влияющие на эффективность взаимодействия сотрудников. Под-

тверждена взаимосвязь экономических показателей деятельности фармацевтического предприятия и успешности организации командной работы.

Ключевые слова: *командная работа, фармацевтические предприятия, командооброзование, рабочая команда, принципы и подходы к формированию команд, эффективность командной работы.*

В настоящее время перед российской фармацевтической промышленностью стоят такие задачи как увеличение доли отечественных лекарственных препаратов на рынке, приоритетное производство по перечню жизненно необходимых и важных лекарственных препаратов, разработка и организация производства лекарственных средств для лечения социально значимых заболеваний, расширение производственной номенклатуры активных фармацевтических субстанций, повышение объема экспорта лекарственных средств [1]. Для решения поставленных задач требуется повышение конкурентоспособности российских фармацевтических производителей, которое невозможно обеспечить без эффективной организации работы с персоналом. Необходимо уделять внимание вопросам кооперации сотрудников в рабочие группы, поскольку именно при работе в команде повышается концентрация внимания сотрудников, что положительно сказывается на их продуктивности. Процесс организации рабочих команд и взаимодействия с ними достаточно сложный, и далеко не все фармацевтические компании уделяют должное внимание организации командной работы.

Основная цель данной работы заключалась в изучении современных подходов к организации командной работы, оценке возможности их применения на предприятиях фармацевтической отрасли, а также в установлении зависимости между эффективностью деятельности предприятия и эффективностью организации на нем командной работы.

Для этого требовалось решить следующие задачи:

• проанализировать и систематизировать источники, посвященные кадровому менеджменту, для определения основ совершенствования командной работы и рассмотреть особенности этого вида кадровой работы на предприятиях фармацевтической отрасли;

• провести анкетирование сотрудников пяти различных фармацевтических предприятий, определить эффективность организации командной работы и ее взаимосвязь с экономическими показателями деятельности этих предприятий.

Рабочая команда – это малочисленная взаимозависимая группа людей со взаимодополняющими навыками, настроенная на достижение единой цели, использующая единый метод работы, участники которой осознают свою принадлежность к группе и отвечают перед организацией за конкретный результат [2]. Процесс формирования эффективных рабочих команд можно охарактеризовать как достаточно долгий и трудоемкий, так как он требует индивидуального подхода и комплексной проработки. Межличностные отношения, формирующиеся между участниками команды, зависят от множества факторов (социологических, социально – экономических, психологических, психофизических), среди которых выделить ключевые не представляется возможным и поэтому процесс командообразования с трудом поддается систематизации и четкому структурированию.

Первым этапом создания рабочей команды является выбор подхода к ее формированию с учетом анализа преимуществ и недостатков. В настоящее время различают четыре подхода к формированию команд: целеполагающий, межличностный (интерперсональный), ролевой, проблемно-ориентированный.

Целеполагающий подход направлен на приобретение участниками навыка ориентирования в выборе и реализации общей цели, на рационализацию путей достижения общих целей, на формирование четкого представления цели и задачи у каждого отдельного участника. В качестве недостатка подхода выделяют возможность появления внутрикомандной конкуренции и, как следствие, конфликтов, что в свое время потребует дополнительных ресурсов на восстановление нормального рабочего процесса.

Интерперсональный подход основывается на усилении внутрикомандных коммуникаций, поддержки и межличностного доверия с целью увеличения эффективности существования команды. При выборе такого подхода существует возможность охватить большее количество людей по сравнению с остальными подходами в более сжатые сроки при меньших затратах, но при этом больших вложений потребует организация командных тренингов с целью поддержания хорошей психологической атмосферы в коллективе. В качестве недостатка можно выделить риск формирования излишне непринужденных отношений внутри рабочей команды.

Ролевой подход позволяет свести к минимуму вероятность возникновения конфликтов между сотрудниками из-за четкого разделения ролей. Он основывается на проведении открытых дискуссий относительно деления ролей и, при необходимости, перераспределения ролей. Основным недостатком данного подхода является трудоемкость распределения функций между людьми, основываясь на их типологии, так как в зависимости от ситуации каждый человек проявляет свои разные качества, а стратегия частого изменения ролей от ситуации к ситуации приведет к нестабильности команды в целом. Также подобный подход затормаживает развитие команды, так как каждый член сосредоточен в большей степени только на своей части задания.

В основе проблемно-ориентированного подхода находится такой способ управления рабочей командой как фасилитация, заключающийся в том, что лидер сочетает в себе функции и руководителя, и непосредственного участника группового взаимодействия. Такой подход подразумевает на первом этапе организацию запланированных встреч для обсуждения и решения командных проблем, а на последующих этапах уже достижения основной цели команды. Основным достоинством такого подхода является системный подход к решению проблем и, как следствие, сведение к минимуму возможного сопротивления переменам со стороны участников команды, так как все они принимают участие в принятии

решений. Подобная методика может не иметь положительного результата в том случае, когда участники будут считать себя только исполнителями, а всю ответственность за работу возьмет на себя руководитель, те не стоит забывать про коллективную ответственность [3].

При рассмотрении описанных подходов к формированию рабочих команд непосредственно на предприятиях фармацевтической отрасли следует учитывать, что при организации их работы существует четкое разделение труда, работа осуществляется на основании должностных инструкций, за каждым работником жестко закреплены функции, результаты трудовой деятельности чаще всего измеряются количественными показателями, следовательно, интерперсональный и проблемно-ориентированный подходы подходят в меньшей степени, нежели ролевой и целеполагающий.

Существует шесть основных принципов успешного формирования команд.

• Коллективное исполнение работы. Участники команды выполняют работу, которая определяется заданием команды, а не заданием начальства, то есть в соответствии с данным принципом первоначальная задача формулируется руководством для команды и распределяется внутри нее самостоятельно.

• Автономное самоуправление команды. Рабочая команда осуществляет свою деятельность самостоятельно (под руководством внутреннего лидера), а не административного начальства организации.

• Коллективная ответственность. Рабочая команда выступает в роли единого организма при оценке результатов ее деятельности. Это означает, что все обязанности, поощрения и наказания относятся ко всей группе в целом, а не к отдельному участнику, то есть структура группы, существующее распределение ролей и вклад отдельных членов в общий результат не имеет значения.

• Стимулирование и мотивация трудовой деятельности сотрудников. Психологический климат в коллективе оказывает огромное влияние на результативность деятельности команды. В качестве видов стимулирования труда сотрудников выделяют возможность карьерного роста, повышение заработной платы, мотивирующие совещания, премии, участие в принятии стратегических решений, скидки на продукцию компании, организация культурных мероприятий, внеочередные оплачиваемые отгулы, объявление похвалы, билеты на культурные мероприятия и другое. Причем зачастую эмоциональная составляющая оказывается более мотивирующей, чем материальная.

• Добровольность вхождения в рабочую команду. В состав команды может включаться только такой кандидат, который сам изъявил желание и готовность выступить частью команды, осознавая и понимая все особенности ее деятельности, добровольно соглашаясь следовать распорядку внутри команды.

• Повышенная исполнительская дисциплина. Каждый член команды принимает существующий уклад внутрикомандных отношений, соглашается на ее правила и неукоснительно следует им [2].

Следует отметить, что даже соблюдение всех вышеперечисленных принципов при формировании команды не может гарантировать эффективность ее функционирования. Это связано с тем, что на эффективность командной работы оказывает влияние большое число разнообразных внешних и внутренних факторов. В настоящее время существует несколько различных модели эффективности организации командной работы, каждая из которых имеет свои преимущества и недостатки. Некоторые модели рассматривают структуру команды в целом и сторонние методы воздействия на продуктивность деятельности команды, а другие обращают большее внимание на индивидуальный вклад каждого участника в отдельности. При рассмотрении основных моделей (модели GRPI, модели Д. Катценбаха и Д. Смита, модели 7T и модели Хэкмана) возможно выделить внутренние и внешние факторы, влияющие на эффективность работы. К внутренним факторам можно отнести размер группы, сплоченность, состав, конфликтность, понимание роли, групповое единомыслие, профессиональные знания и навыки. К внешним факторам относят стиль руководства, квалификация и подготовка руководителя, существующая система мотивации труда, наличие ресурсов и необходимой информации, особенности организационной структуры, сложившаяся практика управления [4].

Работа команды может считаться эффективной, если в ходе нее все участники команды имеют возможность удовлетворить личные интересы, все взаимодействия между членами рабочей команды приводят к решению той или иной задачи, а совокупность принятых решений приводит к достижению поставленной цели. Помимо этого об эффективности командной работы можно судить и по тому, что происходит после достижения цели. Так, команда не может считаться эффективной, если после выполнения задания, ее члены имеют противоречивые взгляды и разочарованы в своей организации на столько, что намерены искать другую работу. Поэтому в качестве дополнительных показателей можно рассматривать степень готовности сотрудников к выполнению новых задач и наличие желания продолжать совместную работу.

Существует прямая зависимость между эффективностью организации командной работы и результатами финансовой деятельности организации.

При анализе экономической деятельности предприятия рассматриваются показатели рентабельности, которые отражают эффективность производственной деятельности и эффективность использования ресурсов предприятия.

К первой группе показателей рентабельности можно отнести рентабельность продаж, отражающую долю прибыли от реализации в общей выручке; норму чистой прибыли, характеризующую долю чистой прибыли в общей выручке; рентабельность реализованной продукции, показывающую эффективность реализации продукции. Ко второй группе показателей относятся рентабельность активов, демонстрирующая эффективность использования оборотных и внеоборотных активов предприятия; рентабельность собственного капитала, определяющая эффективность использования предприятием собственного капитала; рентабельность инвестиционного капитала, указывающая отдачу на сумму средств, вложенных в бизнес; рентабельность заемного капитала, отмечающую эффективность использования предприятием заемных средств [5].

Перечисленные показатели оценивались для пяти крупнейших фармацевтических предприятий Санкт-Петербурга, производящих как активные фармацевтические субстанции, так и лекарственные препараты, на основании бухгалтерской отчетности и отчетах о финансовых результатах за 2020 год. Значения выбранных показателей эффективности приведены в Таблице. На этих же предприятиях проводилось добровольное анкетирование сотрудников по авторской методике [6], по результатам которого была рассчитана средняя оценка эффективности организации командной работы. При анкетировании затрагивались такие вопросы, как уровень межличностных взаимоотношений между участниками; готовность нести как коллективную, так и индивидуальную ответственность; уровень организации работы в соответствии с установленными внутрикомандными нормами; характер взаимодействия членов команды с окружающей средой и возможность рационального использования ресурсов. Результаты расчета средней оценки эффективности организации командной работы также представлены в Таблице.

Таблица – Результаты анализа финансовой деятельности фармацевтических предприятий и эффективности организации командной работы на них

Показатель	Название организации				
	Компания 1	Компания 2	Компания 3	Компания 4	Компания 5
Выручка, тыс.руб.	2010325	13979629	938133	4711057	1 656 629
Прибыль от продаж, тыс.руб.	265782	2988270	77741	1762136	633 056
Прибыль до налогообложения., тыс.руб.	111313	2066840	199	888280	494 930
Чистая прибыль, тыс.руб.	72634	1730992	9829	694463	414 731
Себестоимость продаж, тыс.руб.	(1 292 521)	(4 088 411)	(670 440)	(1 140 300)	(1 005 131)
Внеоборотные активы, тыс.руб.	2225007	5851954	1679685	4586117	4 328 220
Оборотные активы, тыс.руб.	2049540	7395239	2001963	5509425	2 722 717
Итого активов, тыс.руб.	4274547	13247193	3681648	10095542	7 050 937
Капитал и резерв, тыс.руб.	1911386	6799980	263026	3602905	1 117 458
Долгосрочные обязательства, тыс.руб.	1933423	3562291	1412703	3103904	3 087 002
Краткосрочные обязательства, тыс.руб.	429738	2884922	2005919	3388733	2 846 477
Итого пассивов, тыс.руб.	4274547	13247193	3681648	10095542	7 050 937
Анализ финансовых показателей					
Рентабельность продаж,%	13,2	21,4	8,3	37,4	38,2
Норма чистой прибыли,%	3,6	12,4	1,0	14,7	25,0
Рентабельность реализованной продукции,%	20,6	73,1	11,6	154,5	63,0
Рентабельность активов,%	1,7	13,1	0,3	6,9	5,9
Рентабельность собственного капитала,%	3,8	25,5	3,7	19,3	37,1
Рентабельность инвестиционного капитала,%	1,9	16,7	0,6	10,4	9,9
Рентабельность заемного капитала,%	3,1	26,8	0,3	10,7	7,0
Оценка эффективности организации командной работы					
Количественная оценка (балл/чел.)	165	183	159	213	185

Как видно из представленной таблицы, существует прямая зависимость между установленной эффективностью организации командной работы и значениями финансовых показателей деятельности фармацевтических предприятий. Компании 1 и 3, сотрудники которых оценили уровень организации командной работы как средний, уступают Компаниям 2,4,5 так же и в показателях рентабельности. При интерпретации результатов следует отметить, что ни на одном из предприятий не достигнута высокая эффективность организации командной работы. Необходимо также отметить, что наиболее уязвимыми, по мнению сотрудников предприятий, является фактор несоблюдения установленных правил общения (отсутствует культура общения посредством электронной почты и сообщений), а также фактор максимизации эффективности (со стороны участников по отношению друг к другу отсутствует желание помочь в рационализации рабочего процесса партнера по команде). Компания 4, имеющая значительное преимущество по показателю рентабельности реализованной продукции, в меньшей степени испытывает затруднения по фактору соблюдения правил общения внутри команды, в котором у других участников анкетирования возникают наибольшие трудности.

Таким образом, на основании результатов данного исследования можно сделать вывод о наличии прямой зависимости между эффективностью организации командной работы и показателями экономической эффективности деятельности фармацевтических предприятий. Вместе с тем на многих отечественных фармацевтических предприятиях организация командной работы находится на первоначальном этапе формирования. Кроме того, из-за специфических особенностей в организации работы фармацевтической отрасли (жесткого регламентирования всех производственных операций, большой наукоемкости отрасли, непрерывности производственных процессов, недостатка квалифицированных кадров и непрерывного повышения требований к продукции) общепринятые подходы и принципы организации

командной работы не всегда подходят, что усложняет и замедляет процесс грамотной организации взаимодействий внутри коллектива. Несмотря на все трудности, фармацевтические предприятия стремятся к совершенствованию своих систем кадрового менеджмента с целью поддержания конкурентоспособности как на внутреннем фармацевтическом рынке, так и на международном.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность
61.01.79 Кадры

ЛИТЕРАТУРА

1. Постановление Правительства Российской Федерации от 29 декабря 2021 г. №2544 «О внесении изменений в государственную программу Российской Федерации «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» [Электронный ресурс]. URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/403236439/ (Дата обращения: 26.02.2022)

2. Коваленко А.В. Создание эффективной команды. Томск: Томский политехнический университет, 2009.

3. Wendell F., Bell C. Organization development : behavioral science interventions for organization improvement. N.J.: Prentice Hall, 2001.

4. Бессонов А.А. Определение сущности понятия управленческой команды в трудах зарубежных ученых // Научно-практический журнал «Акмеология»: специальный выпуск. 2014. N 1-2. С. 36-37.

5. Гребенников А.А. Определяем экономическую эффективность предприятия за год // Профессиональное издательство 2020. N 12.

6. Stack L. Faster Together: Accelerating Your Team's Productivity. San Francisco: Berrett-Koehler Publishers, 2018.

SUMMARY

MODERN APPROACHES TO THE ORGANIZATION OF TEAM WORK IT THE COMPANIES OF THE PHARMACEUTICAL INDUSTRY. INFLUENCE OF THE LEVEL OF ORGANIZATION OF TEAM WORK ON THE EFFICIENCY OF THE COMPANY WORK

Kashirina L.S., 1st master student
Academic advise: **Orlov A.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Associate Professor, chairholder of Economics and Management
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: kashirina.larisa@pharminnotech.com

This paper attempted to analyze modern approaches to the organization of teamwork in the companies of the pharmaceutical industry and spot the factors, which can influence the effectiveness of teamwork. The addiction between the economic indexes of a pharmaceutical company's work and the success of the organization of teamwork was confirmed.

Keywords: *team work, team building, working team, approaches to team formation, principles of team formation, team work efficiency, financial index.*

REFERENCES

1. Postanovlenie Pravitel'stva Rossijskoj Federacii ot 29 dekabrja 2021 g. №2544 «O vnesenii izmenenij v gosudarstvennuju programmu Rossijskoj Federacii «Razvitie farmacevticheskoj i medicinskoj promyshlennosti» // Garant. [Internet]. URL: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/403236439/ (Accessed: 26.02.2022). (in Russian)

2. Kovalenko A.V. Sozdanie jeffektivnoj komandy. Tomsk: Tomskij politehnicheskij universitet, 2009. (in Russian)

3. Wendell F., Bell C. Organization development : behavioral science interventions for organization improvement. N.J.: Prentice Hall, 2001.

4. Bessonov A.A. Opredelenie sushhnosti ponjatija upravlencheskoj komandy v trudah zarubezhnyh uchenyh // Nauchno-prakticheskij zhurnal «Akmeologija»: special'nyj vypusk. 2014 N 1-2. P. 36-37. (in Russian)

5. Grebennikov A.A. Opredeljaem jekonomicheskuju jeffektivnost' predprijatija za god // Planovo-jekonomicheskij otdel. 2020. N 12. (in Russian)

6. Stack L. Faster Together: Accelerating Your Team's Productivity. San Francisco: Berrett-Koehler Publishers, 2018.

УДК 61:615.1

АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ РЕСУРСНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИЕЙ ЭНТЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Кирпикова К.Е., аспирант 2 года обучения
Руководитель: **Ильинова Ю.Г.,** к. фарм. наук, доцент кафедры медицинского и фармацевтического товароведения
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14., лит. А, Российская Федерация
E-mail: ksenija.kirpikova@pharminnotech.com

Проведен анализ объемов государственных закупок пищевых продуктов энтерального питания медицинскими организациями Российской Федерации за период с 2019 по 2021 год. Установлены критерии, оказывающие влияние на объемы потребления данной продукции в различных федеральных округах.

Ключевые слова: *энтеральное питание, нутритивная поддержка, специализированная пищевая продукция.*

В комплексе лечебных мероприятий полноценное питание пациентов играет одну из важнейших ролей. Нарушения питания в известной мере снижают эффективность принимаемого лечения и оказываемых лечебных мероприятий, увеличивая срок пребывания пациентов в медицинских организациях и способствуя развитию осложнений [1]. Так, по данным ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи» недоеданием и истощением страдает 20% пациентов, поступающих на стационарное лечение, у более 50% наблюдаются изменения иммунного статуса, а у 90% – признаки гипо- и авитаминоза [2].

Актуальной задачей оказания медицинской помощи является повышение эффективности и совершенствование организации клинического питания больных с различными заболеваниями в комплексе проведения лечебных мероприятий. Данная задача может быть решена путем оказания нутритивной поддержки пациентам, находящимся в группе риска развития нарушений питания или уже страдающим мальнутрицией.

Вид нутритивной поддержки (далее – НП) определяется лечащим врачом для каждого больного при его поступлении в медицинскую организацию. Все виды НП, используемые в медицинских организациях (рис. 1), дополняют, а в случае необходимости – могут полностью или частично заменять друг друга. Выбор вида НП основывается на отнесении пациента к группе риска развития мальнутриции [2].

Рисунок 1. Возможные виды нутритивной поддержки, оказываемые пациенту в медицинских организациях

В медицинских организациях лечебное питание пациентов может быть организовано несколькими способами, позволяющими персонифицировать как химический состав, так и калорийность назначаемой диеты. Лечебное питание пациентов строится на назначении им рационов из числа стандартных диет, которые отличаются как по энергетической ценности и содержанию основных питательных веществ, так и по технологии приготовления отдельных блюд и среднесуточному набору продуктов. Персонификация стандартных диет достигается путем подбора для конкретного пациента блюд лечебного питания, имеющихся в картотеке медицинской организации или увеличения/уменьшения в рационе количества готовых буфетных продуктов (хлеб, масло и пр.). В случае необходимости коррекции компонентного состава, в блюда лечебного питания в ходе их приготовления могут быть добавлены дополнительные ингредиенты из числа специализированных пищевых продуктов, например, специализированные смеси Дисо «Нутринор», «Нутримун» и другие. За организацию данного способа НП отвечает врач-диетолог, который также несет ответственность за обеспечение всех отделений и блоков медицинской организации блюдами лечебного питания. В случае, если пациент способен самостоятельно принимать пищу, выбор лечебного питания является превалирующим перед другими видами нутритивной поддержки.

По данным Росстата, за 2020 год 73 573 тыс. человек был впервые или повторно установлен диагноз, при котором рекомендовано назначение энтерального питания в качестве нутритивной поддержки [3]. Применение энтерального питания как вида нутритивной поддержки определено Приложением №5 к Приказу №330 [4]. Ответственность за его реализацию лежит на бригаде нутритивной поддержки (далее – БНП), в состав которой входят специалисты, прошедшие специальную подготовку по энтеральному питанию (гастроэнтерологи, хирурги, анестезиологи-реаниматологи, терапевты, фтизиатры). Основной задачей БНП является анализ клинической и экономической эффективности энтерального питания больных, находящихся на стационарном лечении в медицинской организации. Также к задачам бригады

относится консультирование и проведение занятий с врачами иных профилей по вопросам энтерального питания. Совместно с лечащим врачом члены БНП контролируют эффективность энтерального питания посредством мониторинга показателей состояния больного.

Парентеральное питание реализуется за счет назначения пациенту инфузионных растворов, относящихся к группе лекарственных средств.

Для обеспечения приготовления пищеблоками блюд лечебного питания, медицинские организации планируют закупку необходимых продукты питания из расчета коечного фонда и среднесуточного набора продуктов на пациента. В то же время, в связи со спецификой назначения и индивидуальными объемами потребления в каждом конкретном случае, определение потребности в продуктах энтерального питания может быть осуществлено только с применением методов экспертной оценки. Продукты энтерального питания относятся к обширной группе специализированной пищевой продукции, и, при определении потребности в них, оценке подлежат объемы закупок предыдущих лет и текущие условия, которые могут стать фактором, влияющим на объем назначения энтерального питания [5].

На территории Российской Федерации функционируют более 5 000 медицинских организаций, которые находятся как в федеральном, так и в региональном (муниципальном) подчинении и оказывают стационарную помощь. Цель настоящего исследования – совершенствование подходов к ресурсному обеспечению медицинских организаций пищевыми продуктами энтерального питания (далее – ПЭП). Одной из задач, позволяющих достичь указанной цели, является определение текущего состояния ресурсного обеспечения товарами данной группы путем первичного анализа объемов закупок ПЭП медицинскими организациями.

Материалы и методы

Информационной базой исследования послужила общедоступная информация контрактной системы в сфере закупок товаров для государственных и муниципальных нужд, размещенная в единой информационной системе в сфере закупок в информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» – www.zakupki.gov.ru [6].

Обработку массива данных проводили методами агрегирования, систематизации и обобщения данных, сравнения и интерпретации информации, а также математико-статистическими методами с использованием пакета программ Microsoft Office.

Результаты и обсуждение

Объем закупок ПЭП медицинскими организациями Российской Федерации за период с 2019 по 2021 год в денежном выражении составил 3 052 397 866,43 рублей. Рисунок 2 демонстрирует неравномерность потребления ПЭП медицинскими организациями, находящимися в различных федеральных округах Российской Федерации.

Лидирующую позицию по объему потребления продукции данного вида занимает Центральный федеральный округ (далее – ЦФО), на который за исследуемый период пришлось порядка 23% всех закупленных ПЭП. Второе место с небольшой разницей занимают Северо-Западный (15,42%) и Сибирский (15,15%) федеральные округа (далее – СЗФО, СФО соответственно). На третьем месте по объему закупок располагается Приволжский федеральный округ (далее – ПФО). В то же время наименьший объем закупленных ПЭП пришелся на Северо-Кавказский федеральный округ (7%, далее – СКФО).

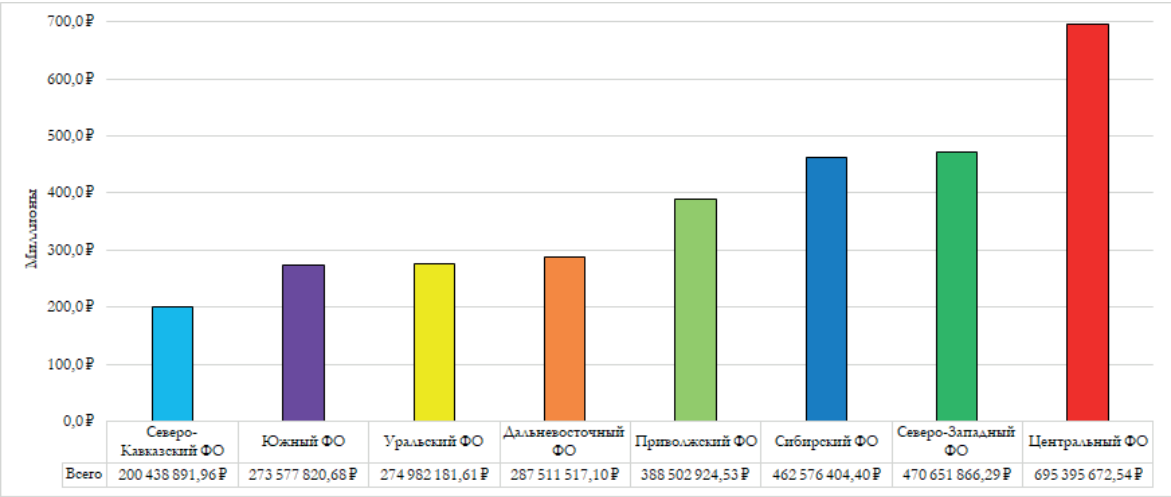


Рисунок 2. Объемы потребления продуктов энтерального питания медицинскими организациями федеральных округов России в 2019-2021 годах, млн. руб

При анализе структуры закупок округов-лидеров (рис. 3) было установлено, что в 2019 и 2020 году медицинскими организациями ЦФО объемы закупок ПЭП были на порядок выше, чем в СЗФО, СФО и ПФО. Однако в 2021 году объем закупленных продуктов энтерального питания был сопоставим с таковым для трех других рассматриваемых округов.

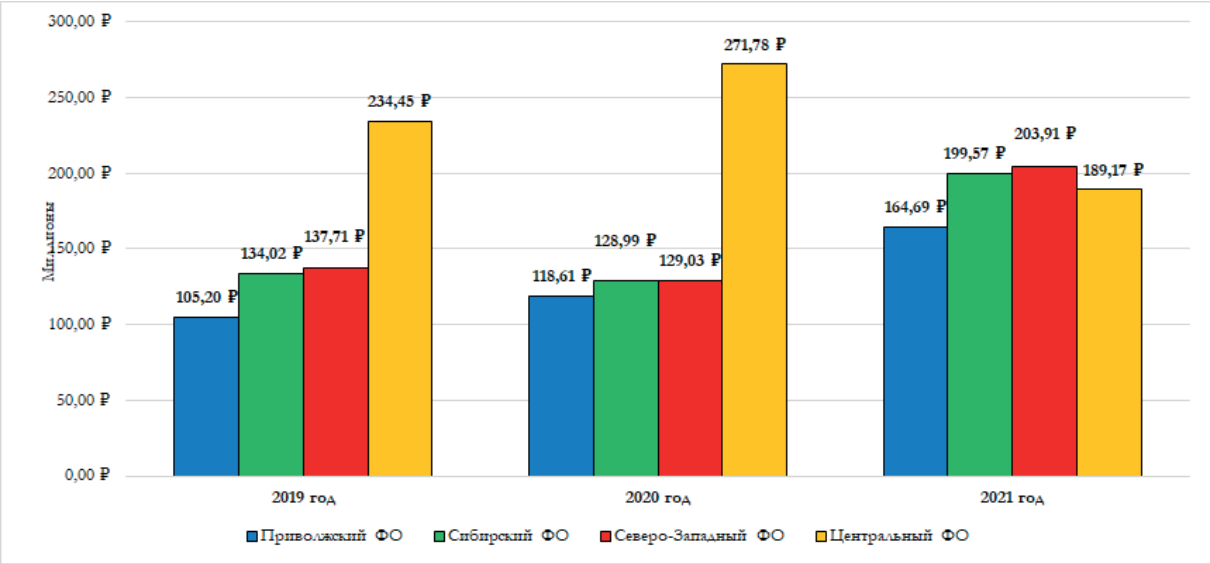


Рисунок 3. Объемы потребления продуктов энтерального питания медицинскими организациями некоторых федеральных округов России в 2019-2021 года, млн. руб

В попытке определить факторы, определяющие значительную разницу объемов закупки продуктов энтерального питания в различных федеральных округах, авторами была выдвинута гипотеза о зависимости объемов закупки от численности населению, проживающего на территории федерального округа и количества медицинских организаций, оказывающих стационарную помощь на территории федерального округа. В процессе исследования гипотеза была уточнена. Поскольку энтеральное питание в качестве нутритивной поддержки назначается большинству пациентов с онкологическими заболеваниями, дополнительно был выбран критерий количества медицинских организаций онкологического профиля.

На основании отчетов Минздрава России о Ресурсах и деятельности медицинских организаций здравоохранения, а также определенных на первом этапе исследования объемов закупок ПЭП было проведено ранжирование значений каждого отдельного критерия, результаты которого представлены в таблице.

Таблица – Критерии и результаты ранжирования

ФО / Показатель	Население, тыс. чел.	Количество МО, оказывающих стационарную помощь		Количество МО онкологического профиля, оказывающих стационарную помощь		Объем закупок ПЭП
		ВСЕГО	Из них находящихся в федеральном подчинении	ВСЕГО	Из них находящихся в федеральном подчинении	
ЦФО	1	1	1	1	1	1
СЗФО	5	4	2	4	2	2
ПФО	2	2	3	2	3	4
СФО	3	3	3	3	4	3
УФО	6	7	6	5	-	6
ЮФО	4	5	4	2	4	7
ДФО	8	6	7	6	-	5
СКФО	7	8	5	7	-	8

Представленные данные частично опровергают первоначальную гипотезу авторов и свидетельствуют об отсутствии зависимости объемов закупаемых продуктов энтерального питания от количества населения, проживающего в федеральном округе. Число медицинских организаций, оказывающих стационарную помощь на территории федерального округа, в целом влияет на объемы закупок, но исключительно за счет количества медицинских организаций, находящихся в федеральном подчинении и оказывающих стационарную помощь онкологическим больным.

При этом стоит отметить особенности СФО, для которого отмечаются большие объемы закупок ПЭП, чем для ПФО, несмотря на меньшее количество медицинских организаций онкологического профиля, находящихся в федеральном подчинении на территории СФО. Такая особенность объясняется территориальным расположением СФО, находящимся между УФО и ДФО, на территории которых отсутствуют медицинские организации онкологического профиля. Находящиеся в федеральном подчинении. В то же время, по состоянию на 01.01.2021 года, Сахалинская область (относится к ДФО) занимает третье место по числу новых выявленных случаев онкологии среди регионов России [3]. Таким образом, в случае невозможности оказания специализированной помощи пациентам на территории региона, возникает необходимость их направления в соседние округа по федеральным квотам, что необходимо учитывать при планировании ресурсного обеспечения медицинских организаций, оказывающих помощь пациентам поступающих на лечение из близлежащих регионов.

Заключение

В ходе исследования было установлено текущее состояние ресурсного обеспечения пищевыми продуктами энтерального питания медицинских организаций Российской Федерации, что является первым шагом на пути достижения цели совершенствования подходов к ресурсному обеспечению медицинских организаций товарами данной группы.

Представленные результаты анализа в целом демонстрируют неравномерное распределение объемов закупаемых пищевых продуктов энтерального питания среди медицинских организаций федеральных округов Российской Федерации. Это может свидетельствовать о различных подходах к управлению ресурсным обеспечением продуктами энтерального питания. В первую очередь разница в подходах связана с профилем пациентов, которым оказывается нутритивная поддержка в виде энтерального питания. Второй фактор – наличие в медицинской организации квот для оказания специализированной медицинской помощи.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00. Медицина и здравоохранение

76.75.175. Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Nutritional support and parenteral nutrition in cancer patients: an expert consensus report / J.A. Virizuela // Clinical and Translational Oncology. 2018. Vol. 20(5). P. 619-629. doi: 10.1007/s12094-017-1757-4.

2. Организация лечебного питания в лечебно-профилактических учреждениях 3 февраля 2005 года : методические рекомендации // Консорциум Кодекс. [Электронный ресурс]. URL: https://docs.cntd.ru/document/499029491

3. Федеральная служба государственной статистики. [Электронный ресурс]. URL: https://rosstat.gov.ru/folder/13721.

4. Приказ Минздрава РФ от 05.08.2003 № 330 «О мерах по совершенствованию лечебного питания в лечебно-профилактических учреждениях Российской Федерации».

5. Пищевые продукты энтерального питания на российском рынке // «Молодая фармация – потенциал будущего», XI всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием (11 ; 2021; Санкт-Петербург). Сборник материалов конференции = Proceeding of the conference «Молодая фармация – потенциал будущего», 15 марта – 23 апреля 2021г.: в. 2 т. Т.2. – Санкт-Петербург : Изд-во СПХФУ, 2021 . – 450, [22] с. : ил.

6. Единая информационная система в сфере закупок [Электронный ресурс]. URL: https://zakupki.gov.ru/epz/main/public/home.html.

SUMMARY

ANALYSIS OF THE STATE OF RESOURCE PROVISION OF MEDICAL ORGANIZATIONS OF THE RUSSIAN FEDERATION WITH SPECIALIZED FOOD PRODUCTS OF ENTERAL NUTRITION

Kirpikova K.E., 2-year postgraduate student
Supervisor: **Ilinova Yu.G.,** Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Associate Professor of the Department of Medical and Pharmaceutical Commodity Science
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: ksenija.kirpikova@pharminnotech.com

The analysis of the volume of public procurement of enteral nutrition products by medical organizations of the Russian Federation for the period from 2019 to 2021 was carried out. The criteria influencing the volume of consumption of these products in various federal districts have been established.

Keywords: *enteral nutrition, nutritional support, specialized food products.*

REFERENCES

1. Nutritional support and parenteral nutrition in cancer patients: an expert consensus report / J.A. Virizuela // Clinical and Translational Oncology. 2018. Vol. 20(5). P. 619-629. doi: 10.1007/s12094-017-1757-4.

2. Organizacija lechebnogo pitanija v lechebno-profilakticheskih uchrezhdenijah. Metodicheskie rekomendacii Minzdravsocrazvitija Rossii ot 03.02.2005 // Konsortsium Kodeks. [Internet]. URL: https://docs.cntd.ru/document/499029491. (in Russian).

3. Federal State Statistics Service. [Electronic resource]. URL: https://rosstat.gov.ru/folder/13721 (in Russian).

4. Prikaz Minzdrava RF ot 05.08.2003 № 330 «O merah po sovershenstvovaniju lechebnogo pitanija v lechebno-profilakticheskih uchrezhdenijah Rossijskoj Federacii». (in Russian).

5. Pishhevye produkty jenteral'nogo pitanija na rossijskom rynke. «Molodaja farmacija – potencial budushhego», XI vserossijskaja nauchnaja konferencija studentov i aspirantov s mezhdunarodnym uchastiem (11 ; 2021; Sankt-Peterburg). Sbornik materialov konferencii = Proceeding of the conference «Molodaja farmacija – potencial budushhego», 15 marta – 23 aprelja 2021g.: v. 2 t. T.2. – Sankt-Peterburg : Izd-vo SPHFU, 2021 . – 450, [22] s. : il (in Russian).

6. Edinaja informacionnaja sistema v sfere zakupok. [Internet]. URL: https://zakupki.gov.ru/epz/main/public/home.html. (in Russian).

УДК 61:618.1

АНАЛИЗ РОССИЙСКОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА АНТИСЕПТИЧЕСКИХ И ПРОТИВОМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Кнутарева А.С., магистрант 1 года обучения
Научный руководитель: **Орлов А.С.**, канд. фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой экономики и управления
(ORCID: 0000-0002-1467-6234)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
Email: knutareva.aleksandra@pharminnotech.com

В данной статье представлены результаты анализа российского рынка противомикробных и антисептических гинекологических препаратов. Показано, что объем продаж за период 2012-2021 гг. увеличился в денежном выражении, но при этом сократился в натуральном. На рынке преобладают дженериковые препараты с ценой от 100 до 500 рублей и препараты, не относящиеся к Перечню ЖНВЛП. Выявлены наиболее распространенные препараты группы противомикробных и антисептиков, а также компании, являющиеся лидерами продаж в этом сегменте рынка. Сегмент фармацевтического рынка гинекологических противомикробных и антисептических препаратов характеризуется увеличением доли отечественных лекарств, является быстроразвивающимся и весьма перспективным для отечественных фармацевтических производителей.

Ключевые слова: *гинекологические заболевания, российский фармацевтический рынок, антисептики и противомикробные лекарственные препараты, анализ рынка, объемы продаж, импортозамещение.*

Гинекологические заболевания являются группой заболеваний половой системы женщин и представляют собой важную социально-значимую и масштабную проблему на пути к поддержанию репродуктивной функции. В настоящее время во всем мире насчитывается 1533 миллиарда женщин, страдающих различными видами гинекологических заболеваний (около 39,6% всех женщин) [5]. В соответствии с официальными данными Федеральной службы государственной статистики Российской Федерации с каждым годом в России увеличивается число гинекологических больных, при этом отмечается «омоложение» воспалительных и злокачественных заболеваний, что, безусловно, негативно сказывается на репродуктивной функции женщин фертильного возраста. За период 2010-2019 гг. в нашей стране количество злокачественных заболеваний женской половой системы увеличилось на 22,17%, диагноз «бесплодие» по частоте установления возрос на 24,4%, расстройство менструального цикла наблюдалось на 8,2 % чаще [4]. Частота развития воспалительных заболеваний женских половых органов у девушек 15-17 лет возросла в 2 раза [2]. Такая негативная тенденция распространяется на все виды гинекологических заболеваний. Наибольшее число болезней и смертей в результате гинекологических заболеваний приходится на возрастную группу от 25 до 39 лет.

Все гинекологические заболевания условно подразделяют на 3 группы: воспалительные, гормональные и заболевания гиперпластического, дистрофического и опухолевого характера. К воспалительным заболеваниям относят вульвовагинит, вульвит, вагинит, эндоцервицит, эндометрит [1]. К заболеваниям гормонального типа относят нейроэндокринные синдромы, среди которых предменструальный синдром (ПМС), менопаузальный синдром (КС), синдром поликистозных яичников (СПКЯ), синдром резистентных яичников, адреногенитальный синдром и другие. Данные заболевания сопровождаются клиническим симптомокомплексом психоэмоциональных, вегетативно-сосудистых и обменно-эндокринных нарушений. Заболевания гиперпластического, дистрофического и опухолевого характера включают в себя доброкачественные опухоли и предраковые заболевания женских половых органов, к этой категории заболеваний относятся кисты, опухоли и опухолевидные образования яичников, миома матки и другие. К данной группе заболеваний также относятся гиперпластические процессы эндометрия, эндометриоз и злокачественные опухоли женских половых органов.

Согласно международной анатомо-терапевтическо-химической классификации лекарственных средств, лекарственные препараты для лечения гинекологических заболеваний относятся к группе препаратов G – препараты для лечения заболеваний мочеполовой системы и половые гормоны. Гинекологические препараты включают в себя 3 группы: G01 – антисептики и противомикробные препараты, G02 – прочие препараты для лечения гинекологических заболеваний, G03 – половые гормоны и модуляторы половой системы [3].

Наибольший вклад в статистику гинекологической заболеваемости вносят воспалительные заболевания, являясь самыми распространенными. Более 60% женщин, обращающихся за медицинской помощью, страдают воспалительными гинекологическими заболеваниями и около 50 % из них нуждаются в стационарном лечении. В медикаментозной терапии гинекологических воспалительных заболеваний наиболее часто используются препараты группы G01 – антисептики и противомикробные препараты. Поэтому наиболее актуальным является анализ продаж именно этой подгруппы гинекологических препаратов, которая включает в себя подгруппу G01A – антисептики и противомикробные препараты для лечения гинекологических заболеваний (исключая комбинации с кортикостероидами) и G01B – антисептики и противомикробные препараты для лечения гинекологических заболеваний в комбинации с кортикостероидами.

Целью данного исследования является анализ российского фармацевтического рынка препаратов группы G01.

В соответствии с поставленной целью были сформулированы следующие задачи исследования:

1. Анализ динамики объемов продаж гинекологических препаратов группы G01;

2. Характеристика данного сегмента российского фармацевтического рынка с точки зрения процесса импортозамещения, изменения соотношения долей оригинальных и дженериковых препаратов, а также долей препаратов Перечня ЖНВЛП;

3. Анализ структуры продаж на рынке препаратов группы G01 по различным ценовым категориям;

4. Выявление наиболее востребованных лекарственных препаратов для лечения воспалительных гинекологических заболеваний;

5. Определение фармацевтических компаний, лидирующих по объемам продаж.

Исследование базировалось на данных аудита розничных продаж и госпитальных закупок, а также аудита льготного лекарственного обеспечения в сегменте российского фармацевтического рынка, включающем препараты для лечения гинекологических заболеваний, в 2012-2021 гг., предоставленных исследовательской компанией DSM Group.

В результате проведенного исследования было установлено, что объем продаж гинекологических препаратов группы G01 в 2021 году в денежном выражении составил 12111,4 млн. руб., в натуральном выражении – 31,2 млн. упаковок. При этом на долю препаратов подгруппы G01A приходится 84,3%, а на долю препаратов подгруппы G01B – 15,7%. Таким образом, препараты группы G01A – антисептики и противомикробные препараты для лечения гинекологических заболеваний (исключая комбинации с кортикостероидами), являются наиболее востребованными в медикаментозной практике лечения воспалительных гинекологических заболеваний. Важно также отметить, что в подгруппу препаратов G01B (антисептики и противомикробные препараты в комбинации с кортикостероидами), входят только три лекарственных препарата – французский Тержинан и два российских препарата – Эльжина и Таржифорт. Анализируя показатели объемов продаж за 2020 г. и 2021 г., можно наблюдать неоднозначную динамику: объем продаж гинекологических препаратов группы G01 в денежном выражении увеличился в 1,04 раза, однако в натуральном выражении показатель продаж снизился на 2%.

В результате сравнительного анализа объемов продаж в 2012 г. и 2021 г. следует отметить, что объемы реализации препаратов группы G01 в денежном выражении увеличились в 1,7 раза, а в натуральном выражении снизились на 15,9%. Доля препаратов G01A незначительно увеличилась (с 82,66% до 84,30%), а доля препаратов G01B, соответственно, уменьшилась (с 17,34% до 15,70%). За период 2012-2019 гг. продажи препаратов данного сегмента возросли в денежном выражении в 2,12 раза, а в натуральном выражении – на 24,3%. Однако за последние 2 года данные показатели резко упали, в 2021 году объемы продаж снизились на 19,5% по сравнению с 2019 годом в денежном выражении и на 36,3% в натуральном выражении. Такая динамика является следствием не только эпидемиологической ситуации и роста уровня цен на лекарственные препараты, но также изменением структуры потребления, в результате которого спрос сместился в сторону более дорогостоящих лекарственных средств.

Анализируя продажи лекарственных препаратов группы G01 за 2021 год в различных ценовых категориях, можно отметить, что в ценовом диапазоне до 100 рублей находились 12 препаратов с объемами продаж 790,7 млн. руб. в денежном выражении и 6,4 млн. упаковок – в натуральном выражении. В ценовом диапазоне 100-500 рублей находились 40 препаратов, суммарный объем продаж которых за 2021 год составил 12111,4 млн. руб. в денежном выражении и 31,2 млн. упаковок – в натуральном. В диапазон более 500 рублей входили 24 препарата, а их объем продаж составил 10140,2 млн. руб. и 27 млн. упаковок. Таким образом, наибольшими объемами продаж характеризуются препараты в ценовом диапазоне 100-500 рублей (51,5% от общего количества продаж в денежном выражении и 48% – в натуральном). Рассматривая данные показатели в динамике за период 2012-2021 гг., нужно отметить, что количество препаратов в ценовом сегменте до 100 рублей с каждым годом уменьшалось, в 2012 году их доля составляла 37,2%, что на 21,4% больше, чем в 2021 году. При этом значительно увеличивалась доля лекарственных средств в ценовом диапазоне более 500 рублей (от 2,9% до 31,6% за 10 лет). Такая динамика связана с ростом цен на импортные лекарства и на субстанции, из которых в большей степени производятся российские препараты, вследствие такого роста произошел переход препаратов из низких и средних ценовых категорий в более высокие. Данная тенденция повышения цен, а также эпидемиологическая ситуация и режим самоизоляции объясняют рост объема продаж в стоимостном выражении на фоне резкого спада в натуральном.

В настоящее время российский фармацевтический рынок гинекологических препаратов группы G01 насыщен дженериками, доля которых в 2021 году в общем объеме препаратов данной группы составила 55,7% в денежном выражении, в натуральном выражении – 66,9%. Наблюдается тенденция обогащения рынка дженериковыми препаратами, по сравнению с 2020 годом количество дженериков в рассматриваемой группе препаратов увеличилось в натуральном выражении на 0,03%, в денежном выражении – на 5%.

К положительным тенденциям российского фармацевтического рынка гинекологических препаратов группы G01 можно отнести насыщение рынка отечественными лекарственными средствами. В течение 2012-2021 гг. доля отечественных лекарств возросла в денежном выражении с 18,63% до 28,11%, в натуральном выражении – с 25,34% до 41,35% (с 31 до 44 препаратов). Однако рынок по-прежнему характеризуется высокой степенью импортозависимости.

В 2021 году количество препаратов, входящих в Перечень ЖНВЛП, составило 23 единицы (30,3% от общего количества препаратов группы G01), объем продаж в денежном выражении составил 2386,6 млн. руб., в натуральном выражении – 11,2 млн. упаковок. В 2012 году в Перечень ЖНВЛП входило 18 препаратов, их доля составляла 26,1%.

Ведущими гинекологическими препаратами группы G01 по объему продаж в натуральном выражении в 2021 году являлись: Тержинан (производитель – Laboratoires Bouchara-Recordati, Франция) – 4,2 млн. упаковок, Фуразолидона та-

блетки (Авексима, Россия) – 2,9 млн. упаковок, Пимафуцин (Лео Фарма А/С, Дания) – 1,9 млн. упаковок, Полижинакс (Laboratoire Innotech International, Франция) – 1,8 млн. упаковок и Клотримазол (Esparma, Германия) – 1,6 млн. упаковок. Наибольшими продажами в денежном выражении в 2021 году обладали: Тержинан, Полижинакс, Лактожиналь (Besins Healthcare, Бельгия) , Пимафуцин и Макмирор (Poli Industria Chimica Spa, Италия). Кроме того, Франция является лидирующей страной по продажам гинекологических препаратов группы G01, производя два препарата, входящих в рейтинг пяти наиболее распространенных препаратов данной группы – Тержинан и Полижинакс. Оригинальный противомикробный комбинированный препарат Тержинан (Франция), принадлежащий подгруппе препаратов G01B на протяжении 10 лет сохраняет первое место в рейтинге продаж гинекологических препаратов группы G01. Российский оригинальный препарат данной подгруппы – Эльжина, появившийся на рынке в 2016 году, за 6 лет показал положительный прирост объема продаж, поскольку в 2016 году объем продаж в денежном выражении составлял 25,5 млн.руб, в натуральном выражении – 79,9 тыс. упаковок, в 2021 году данные показатели составили 303,9 млн. руб. и 588,8 тыс. упаковок соответственно. Таким образом, прирост объема продаж за 6 лет в натуральном выражении составил 636,5%, что свидетельствует о высокой конкурентоспособности препарата Эльжина и возможности дальнейшего увеличения доли рынка данного отечественного лекарственного средства.

За 2021 год лидирующими компаниями по объемам продаж в денежном выражении стали: Laboratoires Bouchara-Recordati, Нижфарм и Poli Industria Chimica Spa, их объемы продаж составили 1971 млн.руб., 1369,5 млн.руб. и 1125,5 млн.руб. соответственно. В натуральном выражении наибольший объем продаж за 2021 год имели Laboratoires Bouchara-Recordati, Авексима и Нижфарм (4,2 млн., 3,2 млн. и 2,8 млн. упаковок соответственно).

Противовоспалительные гинекологические препараты выполняют важную роль в лечении гинекологических заболеваний. По результатам исследования установлено, что объемы продаж препаратов группы G01 увеличились, за исключением двух последних лет, что связано с негативным влиянием распространением коронавирусной инфекции COVID-19, а также существенным ростом цен на лекарственные препараты и изменением структуры потребительского спроса. Наибольшими объемами продаж в сегменте препаратов группы G01 характеризуются лекарства в ценовом диапазоне 100-500 рублей (51,5% от общего количества продаж в денежном выражении и 48% – в натуральном). Количество препаратов в ценовой категории более 500 рублей увеличивается с каждым годом, а препаратов с ценой до 100 рублей становится на рынке все меньше.

Отмечается положительная динамика роста доли отечественных препаратов в течение 2012-2021 гг. как в денежном, так и в натуральном выражении, что свидетельствует о высокой перспективности российского фармацевтического рынка гинекологических препаратов. Незначительно увеличивается количество дженериков и препаратов, входящих в Перечень ЖНВЛП. Выявлены наиболее распространенные препараты группы G01, среди которых Тержинан, Фуразолидон, Пимафуцин, Гексикон, Полижинакс и Клотримазол. Лидирующими компаниями по объемам продаж в денежном выражении стали Laboratoires Bouchara-Recordati, Нижфарм и Poli Industria Chimica Spa. В натуральном выражении наибольший объем продаж за 2021 год имели Laboratoires Bouchara-Recordati, Авексима и Нижфарм. Однако для получения более полной информации о тенденциях, характерных для российского рынка противомикробных и антисептических гинекологических препаратов, требуется провести дополнительное исследование, касающееся ценовой динамики, конкурентной ситуации и структурных изменений на рынке, что будет являться задачей последующих исследований.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.01.11 Современное состояние и перспективы развития

76.01.14 Коммерческие вопросы, маркетинг, конъюнктура, реклама в медицине и здравоохранении

76.01.73 Медицинская статистика

ЛИТЕРАТУРА

1. Международная классификация болезней 11 пересмотра // МКБ-1. [Электронный ресурс]. URL: https://icd11.ru/zhenskoi-polovoi-sistemy-mkb11/ (Дата обращения: 02.02.2022).

2. Огарева Н.П. Гинекологические заболевания как медико-социальная проблема // Наукосфера. 2020. N 12(1) С. 58.

3. Справочник лекарственных средств Видаль. [Электронный ресурс]. URL: https://www.vidal.ru/drugs/atc .(Дата обращения: 15.11.2021).

4. Федеральная служба государственной статистики. [Электронный ресурс]. URL: https://petrostat.gks.ru/ (Дата обращения: 14.10.2021).

5. Institute for Health Metrics and Evaluation // IHME. [Internet]. URL: https://www.healthdata.org/results/gbd_summaries/2019/gynecological-diseases-level-3-cause (Accessed: 14.10.2021).

SUMMARY

ANALYSIS OF RUSSIAN PHARMACEUTICAL MARKET OF ANTISEPTIC AND ANTIMICROBIC MEDICINES FOR THE TREATMENT OF GYNECOLOGICAL DISEASES

Knutareva A.S., student of the First Master's degree course
Academic advise: **Orlov A.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Associate Professor, chairholder of Economics and Management.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: knutareva.aleksandra@pharminnotech.com

This article presents analysis and results of Russian pharmaceutical market of antiseptic and antimicrobials gynecological medicines. It is shown that the volume of trade increased in monetary terms between 2012 and 2021, but it decreased in real terms. The market is dominated by generics with the prices from 100 to 500 rubles and medicines, not a part of the List of Essential Medicines. Identified of the most common medicines of the group of antiseptic and antimicrobials, as well as identified the companies leading in sales in this segment of the market. Segment of the pharmaceutical market of the antiseptic and antimicrobials gynecological medicines characterized by increasing of domestic medicines, it is a rapidly-growing and high potential for domestic pharmaceutical producers.

Keywords: *gynecological diseases, Russian pharmaceutical market, antiseptic and antimicrobials medicines, market analysis, sales, import substitution.*

REFERENCES

1. International Classification of Diseases // ICD-11. [Internet]. URL: https://icd11.ru/zhenskoi-polovoi-sistemy-mkb11/ (Accessed: 02.02.2022). (in Russian)
2. Ogareva N.P. Gynecological diseases as a medical and social problem // Naukosfera. 2020. N 12(1). P. 58. (in Russian)
3. Drug Reference Vidal [Internet]. URL: https://www.vidal.ru/drugs/atc (Accessed: 15.11.2021). (in Russian)
4. Federal State Statistical Service [Internet]. URL: https://petrostat.gks.ru/ (Accessed: 14.10.2021). (in Russian)
5. Institute for Health Metrics and Evaluation // IHME. [Internet]. URL: https://www.healthdata.org/results/gbd_summaries/2019/gynecological-diseases-level-3-cause (Accessed: 14.10.2021).

УДК 339.13.017

АНАЛИЗ ПРОДАЖ ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА РОССИЙСКОМ РЫНКЕ

Кожевникова В.А., студ. 4 курса
Научный руководитель: **Орлов А.С.**, канд. фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой экономики и управления
(ORCID: 0000-0002-1467-6234)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: vera.kozhevnikova@spcpu.ru

В статье изложены основные результаты анализа продаж гемостатических лекарственных препаратов на российском фармацевтическом рынке. Изучена структура исследуемой подгруппы в разрезе отечественных и импортных препаратов, оригинальных препаратов и дженериков, препаратов, входящих и не входящих в перечень ЖНВЛП, относящихся в различным лекарственным формам. Установлено, что данный сегмент фармацевтического рынка характеризуется активным процессом импортозмещения, что создает благоприятные перспективы для отечественных фармацевтических производителей.

Ключевые слова: *российский фармацевтический рынок, гемостатические препараты, кровотечения, импортозамещение.*

Кровотечения являются достаточно частым и опасным явлением, с которым приходится сталкиваться медицинским работникам в своей практике. Для остановки кровотечений применяют разнообразные гемостатические средства. Наиболее востребованы данные препараты для использования в госпитальном сегменте рынка. Их применяют от самого начала операции вплоть до ее завершения. Кроме того, лечение определенных травм, например, проникающих ранений, требует применения гемостатических лекарственных средств для облегчения работы хирурга. Гемостатики применяются для предотвращения или контроля капиллярных, паренхиматозных и венозных кровотечений. В розничном сегменте также появляются новые гемостатические препараты, которые являются средством первой необходимости. Так же следует обратить внимание, что данные препараты входят в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП) для лечения гемофилии. В последние годы для российского рынка гемостатических препаратов

были характерны значительные структурные изменения, в связи с чем весьма актуальной представляется исследование динамики продаж данной группы лекарственных препаратов.

Цель исследования состояла в изучении динамики изменения продаж гемостатических лекарственных средств на российском фармацевтическом рынке.

В соответствии с международной анатомо-терапевтическо-химической классификацией лекарственных средств гемостатики представлены в подгруппе «B02 Гемостатические препараты», относящейся к основной группе «B – Кроветворение и кровь».

Исследование базировалось на данных аудита розничных продаж и госпитальных закупок, а также аудита льготного лекарственного обеспечения в сегменте российского фармацевтического рынка, включающем гемостатические препараты, в 2012-2020 гг., предоставленных исследовательской компанией DSM Group.

Подгруппа «B02 Гемостатические препараты» представлена 28 действующими веществами по МНН, 97 торговыми наименованиями и 2 подгруппами: «B02A – Ингибиторы фибринолиза» и «B02B – Витамин К и другие гемостатики». Наибольшее количество торговых наименований (ТН) оказалось в подгруппе «B02B – Витамин К и другие гемостатики» (65%). Это может быть связано с тем, что в ней большее количество МНН в сравнении с «B02A – Ингибиторы фибринолиза», в которой торговых наименований соответственно 35%. В результате исследования было определено, что подгруппа «B02A – Ингибиторы фибринолиза» представлена 40 фирмами-производителями (ФП российские и ФП иностранные); подгруппа «B02B – Витамин К и другие гемостатики» представлена 91 ФП (ФП российские и ФП иностранные).

В 2020 году объемы продаж гемостатических препаратов составили 81,4 млрд. руб. в денежном эквиваленте, что в 2,85 раз больше чем в 2012 году. В объемном же соотношении увеличение продаж составило 156% с 26,3 млн. упаковок до 41 млн. упаковок.

Определено, что в течение последних 8 лет (с 2012 по 2020 год) наблюдается устойчивая тенденция к увеличению доли отечественных препаратов, как в денежном, так и в натуральном выражении (таблица 1).

Таблица 1 – Динамика изменения долевого соотношения между отечественными и импортными гемостатическими препаратами в России в 2012-2020 гг.

	Год								
	2012	**2013**	**2014**	**2015**	**2016**	**2017**	**2018**	**2019**	**2020**
Динамика продаж в денежном эквиваленте (%)									
Отечественные	23,2	25,4	27,5	28,2	29,9	30,2	31,8	26,6	28,5
Импортные	76,8	74,6	72,5	71,8	70,1	69,8	68,2	73,4	71,5
Динамика продаж в объемном эквиваленте (%)									
Отечественные	65,8	68,0	66,6	70,6	78,0	78,8	84,5	84,6	85,2
Импортные	34,2	32,0	33,4	29,4	22,0	21,2	15,5	15,4	14,8

За последние годы наблюдается тенденция к снижению доли препаратов, входящих в перечень ЖНВЛП, в денежном эквиваленте с 96,8% до 90%, при этом объемы продаж в натуральном эквиваленте стабильно составляют около 70% (таблица 2).

Таблица 2 – Динамика изменения долевого соотношения между гемостатическими препаратами, включенными в Перечень ЖНВЛП и не включенными в него, в России в 2012-2020 гг.

	Год								
	2012	**2013**	**2014**	**2015**	**2016**	**2017**	**2018**	**2019**	**2020**
Динамика продаж в денежном эквиваленте (%)									
ЖНВЛП	96,8	96,5	95,9	94,2	95,2	95,2	93,5	92,4	90,0
Не ЖНВЛП	3,2	3,5	4,1	5,8	4,8	4,8	6,5	7,6	10,0
Динамика продаж в объемном эквиваленте (%)									
ЖНВЛП	71,2	70,3	68,4	69,1	67,4	69,8	75,2	74,3	73,4
Не ЖНВЛП	28,8	29,7	31,6	30,9	32,6	30,2	24,8	25,7	26,6

Доля оригинальных препаратов в денежном выражении за последние 8 лет увеличилась с 3,1% до 14,5%, при этом в объемном выражении доля уменьшилась в 2 раза (с 8,4% до 4,5%) (таблица 3).

Таблица 3 – Динамика изменения долевого соотношения между оригинальными и дженериковыми гемостатическими препаратами в России в 2012-2020 гг.

	Год								
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Динамика продаж в денежном эквиваленте (%)									
Оригинальный препарат	3,1	3,0	3,7	3,8	5,5	8,4	13,0	13,1	14,5
Дженерик	96,9	97,0	96,3	96,2	94,5	91,6	87,0	86,9	85,5
Динамика продаж в объемном эквиваленте (%)									
Оригинальный препарат	8,4	8,0	9,2	7,7	6,9	5,2	4,4	4,6	4,5
Дженерик	91,6	92,0	90,8	92,3	93,1	94,8	95,6	95,4	95,5

Как среди импортных, так и среди отечественных компаний, присутствуют те, которые производят и оригинальные препараты и дженериковые. Одной из лидирующих зарубежных компаний в данной группе можно назвать Octapharma AG. Среди отечественных компаний-производителей наиболее широко представлена на рынке и оригинальных препаратов, и дженериков Генериум АО (таблица 4).

Таблица 4 – Компании-производители, лидирующие по объемам продаж оригинальных и дженериковых гемостатических препаратов в России в 2020 г.

		Объем продаж в денежном эквиваленте (%)		Объем продаж в объемном эквиваленте (%)	
Компания-производитель	Оригинальные препараты	Octapharma AG	5,4	LEK D.D.	2,9
		Kamada LTD	3,0	Octapharma AG	0,7
		F. Hoffman-La Roche LTD	2,1	Takeda Pharmaceutical Company LTD	0,4
		Takeda Pharmaceutical Company LTD	1,4	Генериум АО	0,3
		Генериум АО	1,0	Novo Nordinsk	0,2
	Дженерики	Baxter International INC	24,3	Нижфарм ОАО	31,5
		Генериум АО	16,6	Брынцалов-А	7,0
		Octapharma AG	11,4	Гротекс ООО	6,3
		Amgen INC	7,8	Генериум АО	6,0
		Нижфарм ОАО	7,4	Octapharma AG	3,8

Среди отечественных производителей на рынке лидируют такие компании как Генериум АО, Нижфарм ОАО, Экофармплюс АО, Гротекс ООО, Сотекс Фармфирма ЗАО. Среди иностранных производителей наибольшими продажами гемостатических препаратов характеризуются Baxter International INC (США), Octapharma AG (США), Amgen INC (США), CSL Behring GMBH (Германия), Glaxosmithkline trading (Великобритания). Сводные результаты анализа представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Компании-производители, лидирующие по объемам продаж отечественных и импортных гемостатических препаратов в России в 2020 г.

		Объем продаж в денежном эквиваленте (%)		Объем продаж в объемном эквиваленте (%)	
Компания-производитель	Импортные	Baxter International INC	24,3	Octapharma AG	4,5
		Octapharma AG	16,8	Baxter International INC	3,2
		Amgen INC	7,8	LEK D.D.	2,9
		CSL Behring GMBH	5,3	CSL Behring GMBH	0,1
		Glaxosmithkline trading	4,9	Gedeon Richter	0,1
	Отечественные	Генериум АО	17,6	Нижфарм ОАО	31,5
		Нижфарм ОАО	7,4	Брынцалов-А	7,0
		Экофармплюс АО	0,4	Гротекс ООО	6,3
		Гротекс ООО	0,4	Генериум АО	6,3
		Сотекс Фармфирма ЗАО	0,3	Фармстандарт АО	3,3

Объемы продаж 5 крупнейших иностранных производителей составляют более 80% от общего объема продаж всех импортных препаратов рассматриваемой группы. При этом две компании являются безусловными лидерами – это Baxter International INC (США), Octapharma AG (США), доля охвата рынка которых на порядок выше чем у остальных компаний.

У российских производителей наблюдается та же закономерность. Объемы продаж 5 крупнейших российских производителей составляют более 90% от общего объема продаж всех отечественных препаратов рассматриваемой группы.

При этом только одна компания является безусловными лидером – это Генериум АО, доля охвата рынка которого составляет 18% от общего объема продаж группы.

При анализе продаж гемостатических препаратов по странам-производителям было установлено, что по объему продаж в натуральном выражении наибольший удельный вес на российском рынке занимает Россия, а по объему продаж в денежном выражении лидируют США, Россия и Швейцария (таблица 6).

Таблица 6 – Страны, лидирующие по объему продаж гемостаитических препаратов, в России в 2020 г.

Лидеры продаж в денежном эквиваленте			Лидеры продаж в объемном эквиваленте		
Страна-производитель	Количество фирм-производителей	Удельный вес	Страна-производитель	Количество фирм-производителей	Удельный вес
США	4	0,33	Россия	69	0,81
Россия	69	0,28	Швейцария	4	0,05
Швейцария	4	0,19	США	4	0,04
Германия	1	0,05	Словения	1	0,03
Великобритания	1	0,05	Германия	1	0,01
Израиль	2	0,03	Венгрия	1	0,01
Италия	1	0,02	Япония	1	0,01
Япония	1	0,01	Италия	1	0,01
Венгрия	1	0,01	Индия	1	0,01

Наибольшая доля рынка гемостатических препаратов, как в денежном, так и в объемном эквиваленте, представлена компаниям 3 стран: России, США и Швейцарии. При этом в денежном эквиваленте удельный вес продаж – сопоставим, а по объему продаж в объемном эквиваленте безусловным лидером является Россия. Можно предположить, что данный факт указывает на позитивную роль политики импортозамещения.

Подгруппа «B02A – Ингибиторы фибринолиза» представлена 8 странами-производителями (СП): Россия, Израиль, Украина, Беларусь, Чешская республика, Индия, Венгрия, Пакистан.

Подгруппа «B02B – Витамин К и другие гемостатики» 11 странами-производителями (СП): Россия, Германия, Япония, Швейцария, США, Украина, Беларусь, Великобритания, Словения, Дания.

Общий ассортимент лекарственных средств группы гемостатиков можно систематизировать в 6 фармакотерапевтических групп (ФТГ). Сводные результаты анализа продаж по фармакотерапевтическим группам представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Анализ распределения продаж гемостатических препаратов по различным фармакотерапевтическим группам в 2020 г.

Фармакотерапевтическая группа	Объем продаж млрд. руб	Объем продаж млн. упак
Аминокислоты (B02AA)	4,8	14,8
Ингибиторы протеинолиза (B02AB)	3,6	1,7
Витамин К (B02BA)	0,2	2,9
Местные гемостатики (B02BC)	4,7	7,9
Факторы свертывания крови (B02BD)	55,1	6,5
Прочие системные гемостатики (B02BX)	13,1	7,1

Результаты анализа номенклатуры ассортимента фармацевтического рынка гемостатических лекарственных средств представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Анализ распределения продаж гемостатических препаратов по различным лекарственным формам в 2020 г.

Форма выпуска	Объем продаж в денежном эквиваленте	Форма выпуска	Объем продаж в объемном эквиваленте
Лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения	0,50	Суппозитории ректальные	0,17
Лиофилизат для приготовления раствора для инфузий	0,17	Таблетки покрытые пленочной оболочкой	0,15
Таблетки покрытые пленочной оболочкой	0,08	Раствор для инфузий	0,14
Порошок для приготовления раствора для подкожного введения	0,08	Лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения	0,14
Раствор для инфузий	0,04	Раствор для внутривенного и внутримышечного введения	0,11

Форма выпуска	Объем продаж в денежном эквиваленте	Форма выпуска	Объем продаж в объемном эквиваленте
Суппозитории ректальные	0,04	Раствор для внутривенного введения	0,10
Раствор для внутривенного введения	0,03	Таблетки	0,07
Раствор для подкожного введения	0,02	Раствор для внутримышечного введения	0,03
Губка	0,02	Губка	0,03
Раствор для внутривенного и внутримышечного введения	0,006	Экстракт для приема внутрь (жидкий)	0,03

Таким образом, проведенный контент-анализ номенклатуры ассортимента фармацевтического рынка гемостатических лекарственных средств Российской Федерации, представленный группой «B02 Гемостатические препараты» показал, что в нее входит 28 действующих веществ под МНН и 97 торговых наименований. Группа «B02 Гемостатические препараты» представлена 2 подгруппами: «B02A – Ингибиторы фибринолиза» и «B02B – Витамин К и другие гемостатики». Анализ подгрупп показал, что наибольшее количество МНН содержит подгруппа «B02B – Витамин К и другие гемостатики». Доля отечественных фирм-производителей на рынке гемостатических препаратов составляет 81% по объемам продаж в объемном выражении и 28% – в денежном выражении. Наибольший удельный вес по продажам в денежном выражении занимает форма выпуска – лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения (50%), и суппозитории ректальные – в объемном выражении (17%). В структуре ассортимента наибольший удельный вес в денежном эквиваленте имеют препараты ФТГ Факторы свертывания крови (B02BD) – 67,7%, а в объемном эквиваленте – Аминокислоты (B02AA) – 36%.

Анализ группы «B02 Гемостатические препараты» представляет интерес, как для компаний-производителей, так и для компаний-дистрибьютеров. Для государства данный сегмент рынка значим в связи со включением препаратов этой групп в сегмент лекарственных средств, на которые распространяются государственные и региональные льготы, а также в перечень ЖНВЛП. Для более полного понимания экономических процессов, происходящих на фармацевтическом рынке препаратов группы «B02 Гемостатические препараты», безусловно, требуется проведение более глубокого исследования, включающего ценовой, структурный, конкурентный анализ, которые планируется выполнить в ближайшей перспективе.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

06.00.00 Экономика и экономические науки
06.35.35 Экономический анализ

ЛИТЕРАТУРА

1. Баландина Л. Обзор рынка тендерных закупок гемостатических средств по итогам 2019 года // Headway. [Электронный ресурс]. URL: https://www.hwcompany.ru/blog/expert/obzor_rinka_gemostati4eskikh_sredstv (Дата обращения: 27.02.2022).

2. Березин О. Тренды фармацевтического рынка – 2020 [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www2.deloitte.com/content/dam/Deloitte/ru/Documents/life-sciences-health-care/russian/russian-pharmaceutical-market-trends-2020.pdf (дата обращения 27.02.2022)

3. Смирнова Л.А., Максименя Г.Г. Средства, влияющие на гемостаз: часть 1. // Фармакологические методы остановки кровотечения. Рецепт. 2002. N 3. С. 97-104.

4. Bick R.L., Murano G. Physiology of Hemostasis // Clinics in Laboratory Medicine. 1994. Vol. 14(4): P. 677–707.

5. DSM Group [Электронный ресурс]. URL: https://dsm.ru/ (Дата обращения: 27.02.2022).

SUMMARY

ANALYSIS OF SALES OF HEMOSTATIC DRUGS IN THE RUSSIAN MARKET

Kozhevnikova V.A., 4th year student.
Academic advise: **Orlov A.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Associate Professor, chairholder of Economics and Management.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: vera.kozhevnikova@spcpu.ru

The article presents the main results of the analysis of sales of hemostatic drugs in the Russian pharmaceutical market. The structure of the studied subgroup was studied in the context of domestic and imported drugs, original drugs and generics, drugs included and not included in the list of Vital and Essential Drugs, related to various dosage forms. It has been established that this segment of the pharmaceutical market is characterized by an active process of import substitution, which creates favorable prospects for domestic pharmaceutical manufacturers.

Keywords: *Russian pharmaceutical market, hemostatic drugs, bleeding, import substitution.*

REFERENCES

1. Balandina L. Overview of the tender procurement market for haemostatic products in 2019 // Headway. [Internet]. URL: https://www.hwcompany.ru/blog/expert/obzor_rinka_gemostati4eskikh_sredstv (Accessed: 27.02.2022). (in Russian)
2. Berezin O. Pharmaceutical market trends 2020 [Internet]. URL: https://www2.deloitte.com/content/dam/Deloitte/ru/Documents/life-sciences-health-care/russian/russian-pharmaceutical-market-trends-2020.pdf (date of the request: 27.02.2022) [in Russian]
3. Smirnova L.A., Maksimenya G.G. Agents affecting hemostasis: part 1 // Pharmacological methods of stopping bleeding. Recipe. 2002. N 3. P. 97-104. (in Russian)
4. Bick R.L., Murano G. Physiology of Hemostasis // Clinics in Laboratory Medicine. 1994. Vol. 14(4). P. 677–707.
5. DSM Group [Internet]. URL: https://dsm.ru/ (Accessed: 27.02.2022). (in Russian)

УДК 616-006

МАРКЕТИНГОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЫНКА ТАРГЕТНЫХ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЛЕГКИХ

Криницына В.Е., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Коваленко А.В.**, канд. экон. наук, доцент кафедры экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: valeriya.krinitsyna@pharminnotech.com

В статье анализируется статистика заболеваемости раком лёгких, представлены инновационные «адресные» препараты, которые используются для терапии данного вида раковых заболеваний. Также рассмотрены проблемы финансирования для данного вида препаратов, выявлены ограничения, касаемые мульти-индикационного ценообразования.

Ключевые слова: *лечение рака лёгких, таргетные препараты, персонализированное лечение, финансирование, жизненноважные лекарственные препараты, эффективность лечения.*

Рак легких является одним из самых распространенных видов рака во всем мире. Ежегодно он уносит больше жизней, чем рак толстой кишки, предстательной железы, молочной железы и яичников, вместе взятые. Этим подкрепляется актуальность данного исследования.

Целью работы является проведение анализа рынка онкологических таргетных препаратов при лечении рака лёгких.

Ключевыми задачами исследования являются:

1. Представить ключевые виды таргетных препаратов для лечения рака лёгких.
2. Подтвердить или опровергнуть клиническую эффективность применения таргетных препаратов при терапии рака.
3. Раскрыть экономическую составляющую стоимости таргетных препаратов.

Серьезность прогноза дальнейшей жизни при диагностированном раке легкого очевидна. Обычно для оценки прогноза опухоли используют пятилетнюю выживаемость. Это зависит от вида опухоли, стадии заболевания и наличия (распространенности) метастазов.

На ранних стадиях заболевания (немелкоклеточный рак легкого в первой стадии) 5-летняя выживаемость при раке легкого наблюдается примерно у 60% больных; при II стадии – около 40% больных, при III стадии – около 15%. На более поздних стадиях заболевания шансы на достижение 5-летней выживаемости стремятся к нулю.

Мелкоклеточный рак легкого – самый «злой» из известных видов опухолей легкого, в зависимости от распространенности дающий от 1 до 5% пятилетней выживаемости. При этом он наиболее чувствителен как к химиотерапии, так и к лучевой терапии, поэтому раннее начало лечения значительно улучшает прогноз при мелкоклеточном раке легкого 1-3 стадий.

Успешное лечение немелкоклеточного рака легкого зависит от способности обеспечить адекватную хирургическую поддержку. Своевременное применение современных схем полихимиотерапии в сочетании с таргетными препаратами увеличивает продолжительность жизни на 6-8 месяцев, а у 20-25% больных – более чем на год [1].

Современная медицина при обосновании лечения онкологии легких исходит из строго научного обоснования применения определенных протоколов. Основанием для выбора лечащего врача являются морфологические особенности опухоли, ее распространенность, наличие или отсутствие метастазов, общее состояние больного.

В последнее время наиболее перспективными для лечения немелкоклеточного рака считаются таргетные препараты. Препараты этой серии, Иресса и Тарцева, используются в качестве терапии второй или третьей линии при определенных типах рака легких, которые экспрессируют специфический тип рецептора, EGFR [2,15].Чтобы бесконтрольно размножаться, выживать и защищаться от иммунной системы, раковые клетки используют некоторые молекулярно-генетические механизмы. Знание о них помогает создавать специальные таргетные препараты. По сравнению с химиотерапевтическими препаратами они более целенаправленны, блокируя только определенные вещества, содержащиеся в раковых клетках.

При раке легкого применяют ряд нижеперечисленных таргетных препаратов:

• блокаторы ангиогенеза (роста новых сосудов в злокачественной опухоли): Авастин, Цирамза.

• блокаторы EGFR (белка-рецептора, который в норме активирует деление клеток, а в раковых клетках становится слишком активным и способствует их бесконтрольному размножению): Тарцева, Гилотриф, Иресса.

• блокаторы ALK (мутантного белка, который обычно возникает у некурящих людей и тех, которые курят понемногу): КСАЛКОРИ, Зыкадия, Алеценса, Алунбриг.

• блокаторы BRAF (мутантный белок, который заставляет клетки бесконтрольно размножаться): Тафинлар, Мекинист [3,14].

Острая необходимость разработки новых препаратов с одновременным развитием знаний о молекулярных законах онкогенеза привела к открытию препаратов, влияющих на процессы, участвующие в опухолевом росте, такие как ангиогенез и рецепторы эпидермального фактора роста.

Выбор препаратов для лечения зависит от наличия мутаций. При наличии мутации предпочтительно начинать с таргетных препаратов, специфичных для каждой из этих мутаций [4]. В таблице представлен список препаратов, применяемых непосредственно для терапии рака легких.

Таблица – Препараты, применяемые при терапии рака легких

№	Препарат	Статус препарата	Страна производитель
1	Бевацизумаб (Авастин®)	Зарегистрирован в Российской Федерации. Препарат входит в перечень ЖНВЛП	F.Hoffmann-La Roche, Ltd. (Швейцария)
2	Кризотиниб (Ксалкори®)	Зарегистрирован в Российской Федерации. Препарат вошёл в перечень ЖНВЛП в 2018 году	PFIZER MANUFACTURING DEUTSCHLAND, GmbH (Германия)
3	Эрлотиниб (Тарцева®)	Зарегистрирован в Российской Федерации. Препарат входит в перечень ЖНВЛП	F.Hoffmann-La Roche, Ltd. (Швейцария)
4	Гефитиниб (Иресса®)	Зарегистрирован в Российской Федерации. Препарат входит в перечень ЖНВЛП	ASTRAZENECA UK, Limited (Великобритания)
5	Афатиниб (Гиотриф®)	Зарегистрирован в Российской Федерации. Препарат вошёл в перечень ЖНВЛП в 2018 году	BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA, GmbH & Co.KG (Германия)
6	Церитиниб (Zykadia®, Зикадиа)	Препарат не зарегистрирован в Российской Федерации	Novartis Pharma Stein, AG (Швейцария)
7	Рамуцирумаб (Cyramza®, Цирамза)	Препарат не зарегистрирован в Российской Федерации	ELI LILLY VOSTOK, S.A. (Швейцария)
8	Ниволумаб (Опдиво®)	Зарегистрирован в Российской Федерации. Препарат вошёл в перечень ЖНВЛП в 2018 году	Les Laboratoires Servier Industrie (Франция) **или** СЕРВЬЕ РУС, ООО (Россия)
9	Пембролизумаб (Китруда®)	Зарегистрирован в Российской Федерации. Препарат вошёл в перечень ЖНВЛП в 2018 году	МСД ФАРМАСЬЮТИКАЛС, ООО (Россия)
10	Осимертиниб (Tagrisso®, Тагриссо)	Препарат не зарегистрирован в Российской Федерации	ASTRAZENECA, AB (Швеция)
11	Нецитумумаб (Portrazza®, Портразза)	Препарат не зарегистрирован в Российской Федерации	Eli Lilly (США)
12	Алектиниб (Alecensa®, Алеценза®)	Препарат не зарегистрирован в Российской Федерации	EXCELLA, GmbH & Co.KG (Германия)
13	Атезолизумаб (Tecentriq®, Тецентрик)	Препарат не зарегистрирован в Российской Федерации	F.Hoffmann-La Roche, Ltd. (Швейцария)
14	Бригатиниб (Alunbrig®, Алунбриг)	Препарат не зарегистрирован в Российской Федерации	Takeda (Австрия)
15	Нинтеданиб (Варгатеф®)	Зарегистрирован в Российской Федерации. Препарат вошёл в перечень ЖНВЛП в 2018 году	CATALENT GERMANY EBERBACH, GmbH (Германия)

Из данных таблицы видно, что лишь 8 препаратов из 15 зарегистрированы в Российской Федерации и входят в список ЖНВЛП. Также примечательно, что лишь 1 препарат «Ниволумаб (Опдиво®)», применяемый для терапии рака легких, производится на территории РФ. Можно сделать вывод, что при терапии рака легких, пациенты проходят лечение в основном зарубежными препаратами.

Рассмотрим клиническую эффективность препаратов для лечения рака лёгких:

1. Авастин – гуманизированное моноклональное антитело, которое связывает VEGF, при этом нейтрализуя его. Исследование монотерапии Авастином при НМРЛ продемонстрировало улучшение выживаемости без прогрессирования заболевания и общей выживаемости. Учёные провели исследование 3 фазы Е-4559. В данном исследовании 878 пациентов с НМРЛ, которые не проходили химиотерапию ранее, были распределены на две группы:

1) Пациенты принимали Таксол 200 мг/м^2 и Карбоплатин AUC-6 совместно с Авастином в дозировке 15 мк/кг.

2) Вторая группа пациентов принимала препараты по такой же схеме, но без Авастина [5,6].

Исследование показало, что добавление Авастина в данную схему лечения привело к увеличению выживаемости с 10 месяцев до 12,3 месяцев. При аденокарциноме выживаемость увеличилась с 10 до 14,2 месяцев, то есть $p = 0{,}003$. Помимо этого, с использованием Авастина, увеличился показатель выживаемости без прогрессирования с 4,5 месяцев до

6,2 месяцев, при этом p < 0,001. Частота объективного эффекта увеличилась с 15% до 35%, а двухлетняя выживаемость повысилась с 15% до 23%. Исследования показали, что у 120 пациентов при добавлении к схеме Алимта + Таксотер – Авастин, увеличивается число объективных эффектов с 39% до 52,6%. Медиана выживаемости без прогрессирования увеличивается с 3 месяцев до 4,8 месяцев.

Исходя из проведенных иследований, Авастин был рекомендован для лечения пациентов первой линии IIIB–IV стадий НМРЛ в комплексе с комбинированной химиотерапией: Гемзар + Цисплатин или Таксол + Карбоплатин.

2. Тарцева считается наиболее активным ингибитором EGFR. Его экспрессия сосуществует с высоким риском развития метастазов, резистентностью к химиотерапии, понижением безрецидивной и общей выживаемости. Механизм действия данного препарата заключается в прямом ингибировании тирозинкиназного рецептора EGFR, а также подавлении пролиферации клеток, которые зависят от EGFR. Этим и блокируется клеточный цикл в фазе G1. В случае с НМРЛ Тарцева изучалась в монотерапии в роли второй линии терапии по сравнению с Алимтой и Таксотером.

Исследования показали, что Тарцева наделена аналогичной активностью с двумя данными препаратами.

Проводимые исследования (TRIBUTE и TALENT) показали, что Тарцеву применяли в сочетании с Таксолом и Карбоплатином, а также с Цисплатином и Гемзаром. В результате исследований не выявлено увеличения эффективности и общей выживаемости в сравнении с одной химиотерапией. Однако увеличение выживаемости было выявлено в исследовании BR.21. В данном исследовании 731 пациент принимал Тарцеву в дозировке 150 мг ежедневно или плацебо. В данном случае, медиана выживаемости без прогрессирования, а также медиана общей выживаемости, по статистике были бОльшими с применением Тарцевы. В исследовании TRUST было отражено, что при приёме Тарцевы в дозировке 150 мг в день до прогрессирования у 2724 пациентов с НМРЛ в качестве второй линии терапии. Объективный эффект был достигнут у 14% больных, ремиссия у 54%.

Разнообразные исследования констатировали хорошую переносимость и умеренную токсичность данного препарата.

3. Иресса является ингибитором тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора EGFR. Иресса не оказывает влияния на тирозинкиназы других рецепторов. Терапевтический эффект Ирессы во второй и третьей линиях лечения был показан в исследованиях IDEAL-1 и IDEAL-2 с улучшениями у 19% пациентов во второй линии и 8-13% – в третьей линии терапии [7].

Сравнивая активность Навельбина и Ирессы в исследовании INVITE, 99 пациентов, принимающих Ирессу в дозировке 250 мг или Навельбин в дозировке 30 мг/м^2 в первый и восьмой дни, продемонстрировали аналогичную эффективность данных медикаментов. Однако стоит отметить, что при терапии Ирессой частота побочных эффектов была значительно ниже, чем при терапии Навельбином. Этот факт позволил рекомендовать Ирессу пожилым больным.

На конгрессе в Сеуле были предоставлены сведения о терапии 1466 пациентов с НМРЛ. Данные сведения отражали, что выживаемость больных, принимающих Ирессу, ничуть не уступает выживаемости больных, лечившихся Таксотером внутривенно. Помимо того, частота побочных явлений в группе Ирессы была заметно ниже, а качество жизни – заметно выше. Резюмируя, установлено, что применение Ирессы показано больным IIIB и IV стадий НМРЛ в качестве препарата второй линии лечения, а также для пожилых и соматически ослабленных – в первой линии. Такие же результаты были получены другими исследователями.

Рассматривая экономическую сторону вопроса, очевидно, что здесь имеются свои нюансы. Индивидуальные комбинации препаратов для таргетной и иммунной терапии рака повышают эффективность и безопасность медикаментозного лечения. Однако таргетная медикаментозная терапия имеет и недостатки. Обратной стороной успеха является так называемая «финансовая токсичность», поскольку целевые препараты очень дорогие. В стоимость входят средства на разработку лекарств и мелкосерийное производство, так как контингент пациентов, нуждающихся в этих препаратах, очень мал.

В мире наблюдается подорожание лекарств от онкологии. Средняя годовая стоимость лечения рака в мире составляет 100 миллиардов долларов. Цена большинства противоопухолевых препаратов на рынке США в 2009-2014 годах составила более 100 000 долларов США на одного пациента в год [8, 10].

Подводя общий итог, можно констатировать тот факт, что некоторые таргетные препараты в РФ включены в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов. Однако, стоимость курса лечения такими препаратами для одного пациента достигает нескольких миллионов рублей. И часто пациенты вынуждены оплачивать лечение самостоятельно.

Во всем мире для принятия решения о финансировании используется оценка технологий здравоохранения (далее – ОТЗ). Это междисциплинарный процесс, в ходе которого систематически оцениваются клинические, экономические и социальные последствия использования лекарственных средств и медицинских изделий [12].

ОТЗ оказывает влияние на:

1. формирование ограничительных перечней списков в стране;
2. разработку клинических рекомендаций;
3. возмещение стоимости лекарственных средств, медицинских изделий и других медицинских технологий;
4. ценообразование на медицинские технологии;
5. внедрение и определение места инноваций и дорогостоящих технологий.

Что касается перечня ЖНВЛП по результатам ОТЗ, то существует ряд вопросов, которые можно было бы решить на более высоком уровне информатизации (использование данных реальной клинической практики для анализа «влияния на бюджет», показания 2010 г., индикаторное ценообразование, инновационные лекарственные средства, поставка, внедрение моделей и др.). Ситуация усугубляется недостаточным развитием информатизации и отсутствием нормативно-правовой базы. Последнее не позволяет использовать инновационные методы ценообразования и компенсации [13].

Сейчас применение лекарственных препаратов в России контролируется Федеральным законом № 61-ФЗ от 12.04.2010 года «Об обращении лекарственных средств» (ред. от 3.07. 2016 г. с изм. и доп. вступ. в силу с 15.07.2016 г.)

Согласно Статье № 4 (п. 55 введен Федеральным законом от 22.12. 2014 № 429-ФЗ), «комплексная оценка лекарственного препарата – оценка зарегистрированного лекарственного препарата, включающая в себя анализ информации о сравнительной клинической эффективности и безопасности лекарственного препарата, оценку экономических последствий его применения, изучение дополнительных последствий применения лекарственного препарата в целях принятия решений о возможности включения лекарственного препарата в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, нормативные правовые акты и иные документы, определяющие порядок оказания медицинской помощи, или исключения его из указанных перечня, актов и документов» [9, 11].

Таким образом, в РФ, если препарат включается в ограничительный список, затраты на него возмещаются по всем показателям. Но нужно понимать, что это особенно актуально для таргетных препаратов. Известно, что у препарата может быть разная эффективность при различных заболеваниях. Но пока нет системы, которая позволяла бы осуществить мониторинг реального потребления.

В результате проведенных исследований:

1. Представлены ключевые виды таргетных препаратов для лечения рака лёгких.
2. Подтверждена несомненная клиническая эффективность применения таргетных препаратов при терапии рака.
3. Раскрыта экономическая составляющая стоимости таргетных препаратов.

В ходе исследования представлено 15 таргетных препаратов, применяемых для лечения рака лёгких. Выявлено, что лишь 8 из них зарегистрированы на территории РФ. Однако, лишь один препарат «Ниволумаб (Опдиво®)» производится в России. Подводя итог, можно сделать вывод о том, что сегодня в онкологии существует потенциал к оптимизации, который касается таргетной терапии. Согласно исследованиям, таргетные препараты уже доказали свою клиническую эффективность, однако стоимость на таргетные препараты до сих пор остаётся непосильной для подавляющего большинства пациентов. Говоря о персонализированном лечении, нужно отметить, что РФ не сможет обеспечить его доступность, если не пересмотрит подходы к финансированию и не будет использовать новые модели персонализированного финансирования в части диагностики, комплексного геномного профилирования (КГП). Это является огромной проблемой во всем мире, которая до сих пор не нашла своего решения. Общий тренд таков, что персонализация онкологии с клинической точки зрения ведет к тому, что нужно персонализировать и финансирование.

В зависимости от того, насколько всеобъемлюще возможно собрать и проанализировать данные, возможно и поэтапное внедрение новых моделей финансового обеспечения. Самое простое, что необходимо уже сейчас, – заключать соглашения о разделении рисков. Далее вводить мульти-индикационный прайсинг, и в итоге прийти к персонализированному возмещению.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. химическая промышленность

61.01.11 Современное состояние и перспективы развития

ЛИТЕРАТУРА

1. Таргетная терапия местно-распространенного немелкоклеточного рака легкого с EGFR-мутацией / Ю.А. Рагулин [и др.] // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2016. Т. 5 N 2. P. 48-53.

2. Какие таргетные и иммунные препараты применяются для лечения конкретных видов рака // Netoncology. [Электронный ресурс]. URL: https://netoncology.ru/old/patient/targetnyye-i-immunnyye-preparaty-dlya-lecheniya-raka/ (Дата обращения: 27.02.2022).

3. Практические рекомендации по лекарственному лечению немелкоклеточного рака легкого / В.А. Горбунова [и др.] // Злокачественные опухоли. 2017. Т 7. № 3s2. С. 28-42.

4. Персонализированная онкология: как финансировать лечение наиболее эффективно // Росконгресс. [Электронный ресурс]. URL: https://roscongress.org/materials/personalizirovannaya-onkologiya-kak-finansirovat-lechenie-naibolee-effektivno/ (Дата обращения: 26.02.2022).

5. Руссо А., Рольфо К. Таргетная терапия солидных опухолей. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2018.

6. Переводчикова Н.И., Феденко А.А. Особенности методики клинических испытаний таргетных препаратов // Российский биотерапевтический журнал. 2009. Т. 8. N 2. С. 75-77.

7. Владимирова Л.Ю., Абрамова Н.А., Сторожакова А.Э. Таргетная терапия анти – EGFR моноклональными антителами в лечении колоректального рака // Злокачественные опухоли. 2016. N 4s1. С. 87-91.

8. В.А. Горбунова Эффективная фармакотерапия //Онкология, Гематология и Радиология. 2020. N 3. С. 8-11.

9. Корман Д.Б. Основы противоопухолевой терапии. М.: Практическая медицина, 2006. 512 с.

10. Особенности ведения онкологических пациентов во время пандемии коронавирусной инфекции COVID-19 / М.И. Секачева [и др.] // Сеченовский вестник. 2020. Т. 11 N 2. С. 62-73.

11. Широкова И. Рынок онкологических препаратов: точки роста и перспективы развития // Ремедиум. 2014. N 6. С. 24-30.

12. Шинкарев С.А., Ратнов С.А., Черных А.В. Современные варианты лечения немелкоклеточного рака легкого // Клиническая медицина. 2013. N 4. С. 38-48.

13. Гарин А.М., Базин И.С. Заболеваемость, смертность, отдаленные результаты и последствия лечения онкологических больных в разных странах мира // Российский онкологический журнал. Т. 21. N 1–2. 2016. С. 11-17.

14. Романов Б.К., Дмитриева Н.Б., Зацепилова Т.А. Противоопухолевые препараты // Российский медицинский журнал. Т. 24. N 3. 2018. С. 146-150.

15. Кадагидзе З.Г. Цитокины // Практическая онкология. 2003. Т. 4. N 3. С. 131-139.

SUMMARY

MARKETING RESEARCH OF THE MARKET OF TARGETED DRUGS USED FOR THE TREATMENT OF LUNG CANCER

Krinitsyna V.E., master's student of 2 years of study
Academic advise: **Kovalenko A.V.**, Candidate of Economic Sciences,
Associate Professor of the Department of Economics and Management
St. Petersburg State Chemistry and Pharmacy University
197376, St. Petersburg, Prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: valeriya.krinitsyna@pharminnotech.com

The article analyzes the statistics of lung cancer incidence, presents innovative «targeted» drugs that are used for the treatment of this type of cancer. The problems of financing for this type of drugs are also considered, limitations concerning multi-indication pricing are revealed.

Keywords: *lung cancer treatment, targeted drugs, personalized treatment, financing, vital medicines, treatment effectiveness.*

REFERENCES

1. Targeted therapy of locally advanced non-small cell lung cancer with EGFR mutation / Yu.A. Ragulin [et al.] // Oncology. Journal named after P.A. Herzen. 2016. Vol. 5(2). P. 48-53. (in Russian)
2. Which targeted and immune drugs are used to treat specific types of cancer // [Internet]. URL: https://netoncology.ru/old/patient/targetnyye-i-immunnyye-preparaty-dlya-lecheniya-raka / (Accessed: 02.27.2022). (in Russian)
3. Practical recommendations for the medical treatment of non-small cell lung cancer/ V.A. Gorbunova [et al.] // Malignant tumors. 2017. T 7. № 3s2. P. 28-42. (in Russian)
4. Personalized oncology: how to finance treatment most effectively // Roscongress. [Internet]. URL: https://roscongress.org/materials/personalizirovannaya-onkologiya-kak-finansirovat-lechenie-naibolee-effektivno/ (Accessed: 02.26.2022). (in Russian)
5. Rousseau A., Rolfo K. Targeted therapy of solid tumors. Moscow: GEOTAR-Media. 2018. (in Russian)
6. Perevodchikova N.I., Fedenko A.A. Features of the methodology of clinical trials of targeted agents // Russian biotherapeutic journal . 2009. Vol. 8(2). P. 75-77. (in Russian)
7. Vladimirova L.Y., Abramova N.A., Storozhakova A.E. Targeted therapy with anti – EGFR monoclonal antibodies in the treatment of colorectal cancer // Cancer. 2016. N 4s1 P. 87-91. (in Russian)
8. V.A. Gorbunov Effective pharmacotherapy // Oncology, Hematology and Radiology. 2020. N 3. P. 8-11. (in Russian)
9. Korman D.B. Fundamentals of antitumor therapy. Moscow: Practical medicine, 2006. 512 p. (in Russian)
10. Features of management of oncological patients during the COVID-19 coronavirus pandemic / M.I. Sekacheva [et al.] // Sechenovsky Vestnik. 2020. Vol. 11(2). P. 62-73. (in Russian).
11. Shirokova I. The market of oncological drugs: growth points and development prospects // Remedium 2014. N 1. P. 24-30. (in Russian).
12. Shinkarev S.A., Ratnov S.A., Chernykh A.V. Current treatment options for non-small cell lung cancer // Clinical medicine. 2013. N 4. P. 38-48. (in Russian).
13. Garin A.M., Bazin I.S. Morbidity, mortality, long-term results and consequences of treatment of cancer patients in different countries of the world // Russian journal of oncology. 2016. Vol. 21(1–2). 2016. P. 11-17. (in Russian).
14. Romanov B.K., Dmitrieva N.B., Zatsepilova T.A. Antitumor drugs // Russian medical journal. Vol. 24(3). 2018. P. 146-150. (in Russian).
15. Kadagidze Z.G. Cytokines // Practical Oncology. 2003. Vol. 4. N 3. P.131-139. (in Russian).

УДК 66.04; 616-021; 616-099; 504.4.054

ОЦЕНКА НЕГАТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СТОЧНЫХ ВОД, ОБРАЗУЮЩИЕСЯ В ПРОЦЕССЕ СИНТЕЗА ГОРМОНОВ ПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ, НА ОКРУЖАЮЩУЮ СРЕДУ

Кряжевских А.А., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Склярова Н.А.,** к.т.н., доцент кафедры промышленной экологии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А, Российская Федерация
E-mail anastasiya.parfionova@spcpu.ru

Активное развитие фармацевтической отрасли и биоорганической химии способствует образованию и накоплению в окружающей среде фармацевтических отходов. В связи с чем, в статье проводиться анализ возможного негативного

воздействия сточных вод, образующиеся в процессе синтеза гормонов пептидной природы, на окружающую среду. Результаты исследования показали, что в процессе синтеза образуется около 75-90% жидких и твердых отходов от исходного сырья (N, N- диметилформамид, трифторуксусная кислота, дихлорметан, гормон пептидной природы – тирозин-тирозин), поступающих в сточные воды. Такое загрязнения окружающей среды приводит к возникновению ряда биологических рисков как для человека, так и для животных.

Ключевые слова: *экологические воздействие, загрязнение компонентов природной среды, негативное влияние на окружающую среду, обращение с отходами, гормоны пептидной природы, сточные воды.*

На сегодняшний день фарминдустрия находится в первых рядах бизнеса, оборот которого составляет более 35 млрд в год, который с каждым годом вырастает, особенно в условиях пандемии COVID-19. Так, по данным Минпромторга в России на конец 2021 года был отмечен рост не только объема производства, но и рынка лекарственных средств на 31% и 24%, соответственно, по отношению к 2019 году (рис. 1).

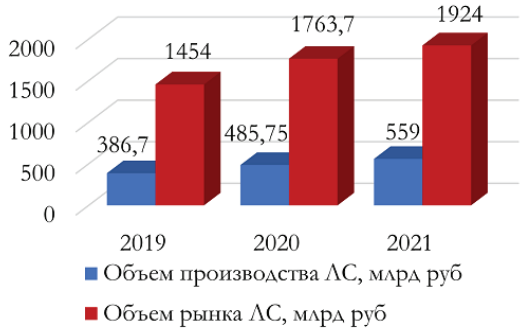


Рисунок 1. Показатели развития фармацевтической отрасли

Такой стремительный рост фармацевтической отрасли создает не только потенциальную возможность поддержания стабильного развития системы здравоохранения и доступ населения к современным лекарственным препаратам, но и способствует образованию и накоплению в окружающей среде фармацевтических отходов. В связи с чем, стремительное потребление лекарственных средств населением не могло не сказаться на состоянии окружающей среды.

Основными источниками попадания лекарственных препаратов и их метаболитов в питьевую воду происходит в результате потребляемых населением фармацевтических препаратов, удаляемых через канализационные стоки фармацевтических и медицинских организаций, так как лекарства не всегда адсорбируются или разрушаются полностью в организме человека. Кроме того, фармацевтические отходы могут быть обнаружены и на свалках, которые утилизируются вместе с химическими отходами, что в конечном итоге образует сточные воды, проходящие через недостаточно эффективные системы очистки [1].

Увеличение фармацевтических веществ в окружающей среде начало привлекать внимание ученых лишь с 80-х годов XX в., после обнаружения лекарственных препаратов в сточных водах в районе очистительного сооружения «Big Blue River» в США [2]. В дальнейшем с появлением более новых методов химического анализа уровень обнаружения подобных загрязняющих веществ увеличивался и в 1999 г. сотрудниками Агентства по охране окружающей среды было обследовано порядка 140 водных объектов на всей территории США и в 80% из них были обнаружены остатки обезболивающих средств, антибиотиков, гормональных лекарств и препаратов для лечения артериальной гипертензии [3].

В настоящее время не разработаны такие очистные сооружения, которые могут удалять метаболиты лекарств или других нерегулируемых загрязнителей, таких как средства личной гигиены. Химические реакции метаболитов в водной экосистеме до сих пор полностью не изучены. Необходимо учитывать, что лекарства первоначально разрабатывают с высокой биологической активностью, и, как правило, они имеют высокую устойчивость в окружающей среде, и поскольку во многих случаях они не поддаются биологическому разложению, даже низкая концентрация лекарств и их метаболитов может аккумулироваться в организме людей, животных и рыб, что может привести к большой угрозе для их здоровья.

Таким образом, ухудшение качества питьевой воды под воздействием антропогенных нагрузок увеличивается с каждым годом, в связи с чем изучение возможных негативных последствий воздействия сточных вод на окружающую среду и здоровье человека при синтезировании гормонов пептидной природы позволит оценить степень их влияния и выяснить потенциальные угрозы.

В этой связи целью настоящего исследования является анализ возможного негативного воздействия сточных вод, образующиеся в процессе синтеза гормонов пептидной природы, на окружающую среду.

Для достижения поставленной цели сформулировали следующие задачи:

1) Изучить химический синтез гормонов пептидной природы;

2) Определить образование сточных вод при синтезе гормонов пептидной природы;

3) Провести оценку воздействия сточных вод на окружающую среду и здоровье человека.

За последние десятилетия все большую актуальность приобретает направление современной биоорганической химии, связанное с химией пептидов. Значительный прогресс в этой области определяется большим биологическим значением соединений белковой структуры, и теми функциями в живом организме, которые они выполняют.

Длина пептидной цепи большинства физиологически активных пептидов, востребованных фармацевтической промышленностью, не превышает 50-ти аминокислотных остатков, в связи с чем для их получения в промышленном масштабе целесообразно использование химического синтеза, который в сравнении с другими методами (рекомбинантным или ферментативным) является технологически более оправданным. Кроме того, химический синтез предполагает возможность использования неприродных аминокислот, а также псевдопептидных связей, что определят большее разнообразие химических структур и уровня физиологической активности соединений, чем доступно с помощью рекомбинантных технологий.

Химический синтез пептидов включает в себя классический метод, при котором синтез осуществляется в растворе и твердофазный, который проводит с использованием полимерного носителя. Среди достоинств классического метода можно отметить экономичность – использование небольших избытков реагентов по сравнению с твердофазным, легкость масштабирования и возможность проведения контроля качества промежуточных реагентов. Основными недостатками синтеза в растворе считаются большие временные затраты, необходимые для проведения синтеза и относительно плохая растворимость некоторых промежуточных компонентов. Поэтому, как правило, к классическому методу прибегают при необходимости синтезировать небольшие пептиды в большом количестве.

Особенностью твердофазного метода является использование твердого носителя – полимерной смолы с линкором, к которому присоединяется первый аминокислотный остаток. Далее пептидная цепь собирается постадийно с возможностью очистки носителя с ковалентно присоединенным к нему пептидом от избытков реагентов простым фильтрованием после каждой стадии. После завещающей стадии синтеза пептид отщепляют с полимерного носителя. К недостаткам твердофазного синтеза можно отнести: использование больших избытков реагентов, сложность контроля качества промежуточных продуктов и высокая стоимость реактивов.

Благодаря твердофазному методу синтеза получение пептидов удалось свести к повторяющимся стадиям и автоматизировать процесс получения целевых соединений аминокислотных последовательностей за короткий промежуток времени. Для осуществления лабораторного синтеза пептидов в настоящее время доступны различные системы, в том числе автоматические и полуавтоматические, одноканальные и многоканальные и т.д. [4].

Таким образом, достижения биоорганической химии открывают широкие перспективы их использования в производстве гормонов пептидной природы.

В данной работе рассматривается возможность получения пептида с использованием синтезатора PS3 компании Protein Technologies, Inc. PS3 является полностью автоматическим прибором на микропроцессорном управлении, используемым для синтеза пептидов на основании принципов твердофазного синтеза.

Для синтеза был выбран пептидный гормона YY, состоящий из 36 аминокислотных остатков: H-Tyr-Pro-Ile-Lys-Pro-Glu-Ala-Pro-Gly-Glu-Asp-Ala-Ser-Pro-Glu-Glu-Leu-Asn-Arg-Tyr-Tyr-Ala-Ser-Leu-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH2 (рис. 2).

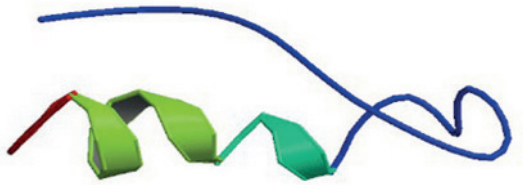


Рисунок 2. Пептид YY (пептид тирозин-тирозин)

Пептид тирозин-тирозин (панкреатический пептид YY) является гормоном, который секретируется L-клетками в подвздошной и толстой кишке, основная функция которого заключается в замедлении опорожнения желудка, а также уменьшении желудочного и кишечного сока, посредством связывания с рецепторами в мозге, тем самым заставляя человека чувствовать себя сытым [5]. Так, пептид проникает через гематоэнцефалический барьер и воздействует на ядро гипоталамуса, стимулируя нейроны, от которых зависит чувство насыщения, ингибируя нейроны, которые стимулируют пищевую активность. В ряде работ [6-8] было показано, что у лиц с ожирением, а также у больных хроническим панкреатитом и раком поджелудочной железы отмечаются низкие эндогенные уровни PYY. Кроме того, данный гормон ингибирует секрецию инсулина, воздействуя на Y рецептор 1 типа. Имеются данные, что PYY снижает инсулино-резистентность тканей [9].

Таким образом, изучение данного гормона становиться все более актуальным вопросом. В настоящее время активное применение пептида YY способствует увеличению не только объемов производства, но и негативного влияния на окружающую среду.

Синтез пептида проводили твердофазным методом с использованием 0,24 г. Ринк-амидной смолы (ёмкостью 0,84 ммоль/г) с последовательным наращиванием цепи по Fmoc/tBu- стратегии. В качестве конденсирующих агентов использовали гексафторфосфат 2-(1H-бензотриазол-1-ил) – 1,1,3,3-тетраметилурония (HBTU) и 2 л раствора N-метилморфолина в N,N-Диметилформамид (ДМФА) в концентрации 0,4 ммоль/л. Пробирки с аминокислотами, содержащие 0,8 ммоль С-концевой защищенной аминокислоты и 300 мг HBTU, помещали в карусель в порядке пептидной последовательности. Для проведения одиночной конденсации была выбрана и отредактирована по времени программа №1, заданная в PS3 по умолчанию. Параметры итоговой программы представлены в таблице 1.

Таким образом, заданная последовательность шагов повторялась для каждой аминокислоты, пока на смоле не собралась вся аминокислотная последовательность гормона YY.

Таблица 1 – Программа для одиночной конденсации

Шаг	Реагент	Время	Повтор	Примечание
1	SOLV (растворитель)	0:00:30	3	Промывает смолу
2	ACT (активатор)	0:00:30	1	Растворяет AA/HBTU основанием
3	AA (растворитель)	6:30:00	1	Конденсация
4	SOLV (растворитель)	0:01:00	6	Промывает смолу
5	DEP (раствор для деблокирования)	0:20:00	2	Деблокирование
6	SOLV (растворитель)	0:02:00	3	Промывает смолу

Перенос жидкости и перемешивание в системе осуществляются в инертной атмосфере азота. Во время первого шага происходит подача ДМФА из бутылок в реактор, после чего осуществляется промывка смолы путем барботирования. Данная операция повторяется три раза включая нагнетание, перемешивание и удаление жидкости из реактора. Во время второго шага активатор поступает в пробирки и растворяет AA/HBTU, после чего полученный раствор подается в реактор со смолой, где происходит перемешивание реакционной массы, которое длится 6,5 часов. Далее осуществляется удаление раствора с остатками AA/HBTU. Во время четвертого шага происходит промывка смолы, пятый шаг включает снятие Fmoc- группы путем барботирования в реакторе раствора для деблокирования со смолой. Заключительным этапом является промывка.

Финальное деблокирование наработанного пептида, а также отщепление его от полимерного носителя осуществляется в отдельном реакторе без участия синтезатора, так как данная стадия протекает с использованием трифторуксусной кислоты, которая может повредить прибор. Для деблокирования наработанного пептида смолу в течение 2 часов перемешивали при температуре 20 °С с 40 мл 98 % раствора трифторуксусной кислоты в дихлорметане. После смолу трехкратно промывали 10 мл раствора 5 % трифторуксусной кислоты в дихлорметане. Получившиеся растворы соединяли и упаривали с использованием роторного испарителя.

На стадии лиофильной сушки к полученному маслянистому продукту добавляли диэтиловый эфир. Выпавший осадок отфильтровывали и высушивали с помощью лиофильной сушки Labconco Free Zone Triad, используя следующую методику: осадок растворяли в 4 мл в флаконах вместимостью 7,5 мл и подвергали быстрой заморозке в морозильной камере при 40 °С в течение 10 ч, затем флаконы предукупоривали резиновыми пробками и помещали на полки сублимационной камеры Free Zone Triad. Предварительно полки охлаждали до температуры -40 °С. После включения вакуумного насоса, выравнивания вакуума и высушивания поверхностного слоя замороженной дисперсии осуществляли:

– нагрев полок от – 40 до – 10 °С со скоростью 5 °С/ч с последующим выдерживанием при этой температуре в течение 3 ч;

– нагрев полок от – 10 до +5 °С со скоростью 2 °С/ч с последующим выдерживанием при этой температуре в течение 1 ч;

– нагрев полок от + 5 до + 20 °С со скоростью 5 °С/ч с последующим выдерживанием при этой температуре в течение 1 ч.

После достижения температуры 20 °С образец выдерживали в течение 3 ч (досушивание).

Процесс синтеза гормонов пептидной природы проходит в несколько стадий и на каждом этапе образуются сточные воды с различным содержанием веществ. При изучении технологических схем синтеза гормонов пептидной природы было выявлено, что к основным стокам относятся сточные воды от промывки сырья, фильтрующих сред и смол. Так, в процессе синтеза пептида YY на стадиях получения, промывки, снятия со смолы и лиофильной сушке были зафиксированы потери от 75-90 % жидких и твердых отходов и 12,5 % потерь в атмосферу от исходного сырья (табл. 2).

Таблица 2 – Образование отходов при синтезе гормона YY

Стадии синтеза пептида YY	Наименование сырья	Жидкие отходы, %	Твердые отходы, %	Потери в атмосферу, %
Синтез пептида в PS3	Гексафторфосфат 2-(1H-бензотриазол-1-ил) – 1,1,3,3-тетраметилурония	0	0	0
	N, N- диметилформамид	90		
Снятие со смолы	Ринк-амидная смола	0	75	0
	Трифторуксусная кислота	80	0	0
Лиофильная сушка	Пептид YY	0	0	0
	Дихлорметан	75	0	12,5

Такие потери существенны, поскольку основная доля отходов приходиться на N,N-диметилформамид (ДМФА), который является универсальным растворителем с широким промышленным применением и относятся ко 2 классу опасности. Результаты исследований на животных и случаи профессиональных отравлений ясно показали, что воздействие ДМФА может привести к различным степеням повреждения печени. Примечательно, что ДМФА ниже порогового пре-

дельного значения также может вызывать повреждение печени у некоторых чувствительных групп населения. К сожалению, основные механизмы, с помощью которых ДМФА вызывает гепатотоксичность, остаются практически неизвестными несмотря на то, что гепатотоксическому действию ДМФ было уделено значительное внимание. Хотя некоторые экспериментальные исследования предоставили ряд доказательств, подтверждающих участие окислительного стресса, нарушения микробиоты кишечника и гомеостаза кальция и т.д., причинная роль этих факторов в возникновении гепатотоксичности, вызванной ДМФА, требует подтверждения [10, 11].

Трифторуксусная кислота является одной из самых сильных карбоновых кислот, относящаяся к 3 классу опасности. Существует определенное беспокойство, что данная кислота может вести себя аналогично плавиковой кислоте, которая может вызвать глубокие, болезненные ожоги кожи и фатальные системные токсические эффекты. При ожогах плавиковой кислотой ионы водорода сначала вызывают коррозийный ожог, который переходит в некроз более глубоких тканей с разжижением по мере высвобождения ионов фтора. Свободный фтор связывается с кальцием и магнием, вызывая опасную для жизни сердечную аритмию из-за электролитных нарушений, а также может привести к остановке дыхания из-за прямой ферментативной и клеточной токсичности. Токсичность и клинические последствия трифторуксусной кислоты были в значительной степени умозрительными из-за недостатка сообщений об ожогах кислоты, опубликованных в литературе [12].

Дихлорметан относиться к 4 классу опасности и в основном оказывает раздражающее воздействие на глаза, кожу и дыхательные пути [13].

Таким образом, в результате оценки токсикологических свойств отходов производства гормонов пептидной природы было выявлено, что они относятся к разным классам опасности и имеют широкий спектр негативного воздействия на организмы. При этом если сравнивать их с классом опасности для водных объектов, то отходы синтеза пептида YY в разы токсичнее (табл. 3), что повышает экологические риски негативного воздействия сточных вод на здоровье человека и других живых организмов.

Таблица 3 – Токсикологические свойства отходов производства гормонов пептидной природы [13]

Наименование вещества	Характер воздействия на организм	ПДК (ОБУВ) мг/м3	Класс опасности	ПДК водные объекты, мг/л	Класс опасности
Ринк-амидная смола	-	-	-	-	-
N,N-диметилформамид	Раздражающее «+», кожно-резорбтивное, репротоксическое, мератогенное, мутагенное, канцерогенное действие	10	2	10	1**
Трифторуксусная кислота	Раздражающее «+», канцерогенное	2	3	осуществлять контроль водородного показателя (pH) (не должен выходить за пределы 6,5-8,5)	2*
Дихлорметан	Раздражающее «+», кожно-резорбтивное, сенсибилизирующее, репротоксическое, мератогенное, мутагенное, канцерогенное действие на животных	50	4	0,02	1
Примечания: «+» – требуется специальная защита кожи и глаз; ** Согласно классификации по опасности загрязнения воды (WGK, Германия) вещество отнесено к классу 1 (слабоопасные вещества по отношению к загрязнению воды); * Согласно классификации по опасности загрязнения воды (WGK, Германия) продукт отнесен к классу 2 (водо-загрязняющие вещества).					

Таким образом, производство гормонов пептидной природы на пептидном синтезаторе PS3 компании Protein Technologies способствует существенному загрязнению окружающей среды.

В ходе работы определено процентное образование жидких и твердых отходов при синтезе гормонов пептидной природы, поступающих в сточные воды. И так, в процессе синтеза образуется от 75 до 90% жидких отходов, приходящиеся на N, N- диметилформамид, трифторуксусную кислоту и дихлорметан, а также около 75% твердых отходов от исходного сырья (ринк амидная смола и сам пептид).

Таким образом, в результате оценки токсикологических свойств отходов производства гормонов пептидной природы было выявлено, что они относятся к разным классам опасности и имеют широкий спектр негативного воздействия на организмы и здоровье человека, что в конечном итоге приводит к существенному повышению уровня экологических рисков усугубления фармацевтического загрязнения окружающей среды, в первую очередь, поверхностных и грунтовых вод.

Следствием этого является увеличение концентрации фармакологических препаратов и отходов в поверхностных и грунтовых водах хозяйственного, бытового и питьевого назначения как известных, хорошо изученных, так и новых веществ, эффективность использования которых, их биологическая активность и процессы метаболических превращений в организме человека изучены недостаточно.

Одним из значимых факторов экологических рисков, способным привести к серьезным болезненным состояниям человека, является риск подвергнуться комбинированному воздействию множества фармацевтических веществ и их метаболитов, вступивших в химические взаимодействия друг с другом. При этом могут возникать эффекты взаимного потенцирования веществ, может измениться зависимость «доза-эффект» для конкретного лекарственного соединения, зачастую при этом изменяется характер терапевтического воздействия из смешивания разных лекарств.

Еще одним из серьезных негативных последствий фармацевтического загрязнения окружающей среды является ее опосредованное влияние на человека через окружающую среду обитателей водной среды, подвергшейся неблагоприятному воздействию отходов медикаментозных и лекарственных препаратов. Например, даже относительно небольшая концентрация нестероидного противовоспалительного средства диклофенака 0–1,0 мкг/л в поверхностных водоемах приводит в течение 3–4 недель к появлению цитологических изменений в почках, печени и жабрах форелевых рыб [14]. А эти рыбы, в частности, являются одним из регулярно употребляемых человеком в пищу рыбных деликатесов.

Таким образом, наличие перечисленных негативных экологических последствий от фармацевтического загрязнения окружающей среды приводит к возникновению ряда биологических рисков для человека, который в силу проживания в окрестностях территорий и водных бассейнов, пораженных лекарственными примесями, вынужден принудительно использовать эти вещества и препараты из-за нахождения их в окружающей среде – в воздухе, в воде, в почве, в растениях, наконец, в пище.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

87.00.00 Охрана окружающей среды. Экология человека

ЛИТЕРАТУРА

1. Венгерович Н.Г., Перелыгин В.В. Стероидные гормоны и их метаболиты в воде централизованных систем питьевого водоснабжения как экополлютанты // Формулы Фармации. 2021. Т. 3. N 2. С. 66-71. http://doi: 10.17816/phf71495;

2. Долина Л.Ф., Савина О.П. Очистка вод от остатков лекарственных препаратов // Наука и прогресс транспорта. Вестник Днепропетровского национального университета железнодорожного транспорта. 2018. N 3. С. 36-50;

3. Эльхам Э.А., Романова Т.А. Влияние фармацевтических отходов на окружающую среду и проблемы обращения с ними // Международный научно-исследовательский журнал. 2021. N 6. С. 15-17. http://doi: 10.23670/IRJ.2021.108.6.034;

4. Structural basis of ligand binding modes at the neuropeptide Y Y1 receptor / Z. Yang [et al.] // Nature. 2018. N. 556. P. 520-524. http://doi: 10.1038/s41586-018-0046-x;

5. Демидова Т.Ю., Лобанова К.Г., Ойноткинова О.Ш. Кишечная микробиота как эндокринный орган // Ожирение и метаболизм. 2020. Т. 17. N 3. С. 299-306.

6. Камалова А.А. Современные подходы к профилактике ожирения у детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2016. Т. 61. N 6. С. 43-48. http://doi:10.21508/1027-4065-2016-61-6-43-48;

7. Покровская Е.В., Шамхалова М.Ш., Шестакова М.В. Новые взгляды на состояние кишечной микробиоты при ожирении и сахарном диабете 2 типа // Сахарный диабет. 2019. Т. 22. N 3. С. 253-262. http://doi 10.14341/DM10194;

8. Состояние гастропанкреатодуоденального комплекса и гормона PYY при хроническом панкреатите и раке поджелудочной железы / В.В. Абрамян [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2021. N 6. С. 171. http://doi10.17513/spno.31369;

9. Intestinal Sensing by Gut Microbiota: Targeting Gut Peptides / M. Covasa [et al.] // Front Endocrinol. 2019. N 10. P. 82. http://doi.org/10.3389/fendo.2019.00082;

10. Li M.J., Zeng T. The deleterious effects of N,N-dimethylformamide on liver: A mini-review // Chem Biol Interact. 2019 N 25. P. 129-136. http://dx.doi:10.1016/j.cbi.2018.12.011;

11. Effects of N, N-dimethylformamide on hepatic antioxidant capacity and liver PPARs mRNA levels in rats / M. Zhang [et al.] // Wei Sheng Yan Jiu. 2018. N 47. P. 352-357;

12. Thickness Chemical Burn From Trifluoroacetic Acid: A Case Report and Review of the Literature / D.H. Rochlin [et al.] // Full Ann Plast Surg. 2018 N 81. P. 528-530. http://dx.doi: 10.1097/SAP.0000000000001579;

13. Федеральный регистр потенциально опасных химических и биологических веществ [Электронный ресурс]. URL: http://www.rpohv.ru/online/ (Дата обращения 02.03.2022).

14. Toxic effects of the non-ste-roidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout / J. Schwaiger [et al.] // Aquat. Toxicol. 2004. N 68. P. 141–150.

SUMMARY

ASSESSMENT OF THE NEGATIVE ENVIRONMENTAL IMPACT OF WASTEWATER GENERATED DURING THE SYNTHESIS OF HORMONES OF PEPTIDE NATURE

Kryazhevskikh A.A., 2nd year master student

Academic advisor: **Sklyarova N.A.,** Ph.D. in Engineering Sciences, assistant professor the Industrial Ecology Department

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation

E-mail anastasiya.parfionova@spcpu.ru

Active development of the pharmaceutical industry and bioorganic chemistry contributes to the formation and accumulation of pharmaceutical waste in the environment. In this connection, the article analyzes the possible negative impact of wastewater generated during the synthesis of hormones of peptide nature on the environment. The results of the study showed that in the

process of synthesis about 75-90% of liquid and solid wastes from the raw materials (N, N-dimethylformamide, trifluoroacetic acid, dichloromethane, hormone of peptide nature – tyrosine-tyrosine) are formed and fed into wastewater. Such environmental contamination leads to a number of biological risks for both humans and animals.

Keywords: *environmental impact, pollution of natural environment components, negative impact on the environment, waste management, peptide nature hormones, wastewater.*

REFERENCES

1. Vengerovich N.G., Perelygin V.V. Steroidnye gormony i ih metabolity v vode centralizovannyh sistem pit'evogo vodosnabzhenija kak jekopolljutanty // Formuly Farmacii. 2021. Vol. 3(2). C. 66-71. (in Russian). http://doi: 10.17816/phf71495

2. Dolina L.F., Savina O.P. Ochistka vod ot ostatkov lekarstvennyh preparatov // Nauka i progress transporta. Vestnik Dnepropetrovskogo nacional'nogo universiteta zheleznodorozhnogo transporta. 2018. N 3. P. 36-50. (in Russian).

3. Jel'ham Je.A., Romanova T.A. Vlijanie farmacevticheskih othodov na okruzhajushhuju sredu i problemy obrashhenija s nimi // Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal. 2021. N 6. P. 15-17. (in Russian). http://doi: 10.23670/IRJ.2021.108.6.034

4. Structural basis of ligand binding modes at the neuropeptide Y Y1 receptor / Z. Yang [et al.] // Nature. 2018. N. 556. P. 520-524. http://doi: 10.1038/s41586-018-0046-x;

5. Demidova T.Ju., Lobanova K.G., Ojnotkinova O.Sh. Kishechnaja mikrobiota kak jendokrinnyj organ // Ozhirenie i metabolizm. 2020. Vol. 17(3). P. 299-306. (in Russian).

6. Kamalova A.A. Sovremennye podhody k profilaktike ozhirenija u detej // Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii. 2016. Vol. 61(6). P. 43-48. (in Russian). http://doi:10.21508/1027-4065-2016-61-6-43-48

7. Pokrovskaja E.V., Shamhalova M.Sh., Shestakova M.V. Novye vzgljady na sostojanie kishechnoj mikrobioty pri ozhirenii i saharnom diabete 2 tipa // Saharnyj diabet. 2019. Vol. 22(3). P. 253-262. (in Russian). http://doi 10.14341/DM10194

8. Sostojanie gastropankreatoduodenal'nogo kompleksa i gormona PYY pri hronicheskom pankreatite i rake podzheludochnoj zhelezy / V. V. Abramjan, N. V. Novoselja, O. V. Remizov, E. R. Doncova // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. 2021. N 6. P. 171. (in Russian). http://doi10.17513/spno.31369

9. Intestinal Sensing by Gut Microbiota: Targeting Gut Peptides / M. Covasa [et al.] // Front Endocrinol. 2019. N 10. P. 82. http://doi.org/10.3389/fendo.2019.00082;

10. Li M.J., Zeng T. The deleterious effects of N,N-dimethylformamide on liver: A mini-review // Chem Biol Interact. 2019 N 25. P. 129-136. http://dx.doi:10.1016/j.cbi.2018.12.011;

11. Effects of N, N-dimethylformamide on hepatic antioxidant capacity and liver PPARs mRNA levels in rats / M. Zhang [et al.] // Wei Sheng Yan Jiu. 2018. N 47. P. 352-357;

12. Thickness Chemical Burn From Trifluoroacetic Acid: A Case Report and Review of the Literature / D.H. Rochlin [et al.] // Full Ann Plast Surg. 2018. N 81. P. 528-530. http://dx.doi: 10.1097/SAP.0000000000001579;

13. Federal'nyj registr potencial'no opasnyh himicheskih i biologicheskih veshhestv [Internet]. URL: http://www.rpohv.ru/online/ (Accessed: 02.03.2022). (in Russian).

14. Toxic effects of the non-ste-roidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout / J. Schwaiger [et al.] // Aquat. Toxicol. 2004. N 68. P. 141–150.

УДК 339.138

НЕЙМИНГ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА УРОВЕНЬ ПРОДАЖ БАД В РОССИИ

Курбатова С.Г., студ. 3 года обучения, **Тишина В.А.**, студ. 4 года обучения
Руководитель: **Сушкова М.С.**, старший преподаватель
Алтайский государственный медицинский университет
656038, Барнаул, ул. проспект Ленина, д. 40, Российская Федерация
E-mail: lenozka_15@mail.ru

В ходе проведённого исследования были получены данные о состоянии российского фармацевтического рынка биологически активных добавок (БАД) с 2015 по 2021 гг. и проанализировано влияние нейминга на объемы продаж БАД. На основании этого сделаны выводы, что те производители БАД, которые профессионально подошли к нейминг, обеспечили себе лидерские позиции по объему продаж. В связи с этим, мы можем сказать, что нейминг действительно влияет на уровень продаж БАД, успешно созданное наименование способствует хорошему запоминанию его у потребителей.

Ключевые слова: *нейминг, нейминг биологически активных добавок, классификационные группы БАД, отечественные и зарубежные БАД, российский фармацевтический рынок, анализ рынка, динамика рынка.*

Российский фармацевтический рынок активно развивается, что связано с высокой значимостью данной продукции в лечении заболеваний и поддержании здоровья населения [1]. Относительно новым направлением в данной отрасли

является производство БАД. Активный интерес к ним проявляется в связи с тем, что правительство стремится к профилактике тяжелых заболеваний и оздоровлению населения. Вследствие этого на фармацевтическом рынке появляется большое количество данной продукции, что в свою очередь обуславливает высокую конкуренцию среди изготовителей БАД. Именно поэтому необходим тщательный профессиональный подход к созданию наименований биологически активных добавок.

Целью данного исследования является изучение влияния наименований БАД на уровень их продаж.

Для достижения поставленной цели необходимо выполнить следующие задачи:

1. Оценка объема и динамики рынка анализируемых БАД.
2. Оценка позиций российских и зарубежных производителей биологически активных добавок.
3. Анализ наименований БАД согласно требованиям нормативной документации.

Исходные данные были получены в результате контент-анализа данных о продажах на российском фармацевтическом рынке из открытых источников [2].

Помимо этого, проанализированы наименования БАД на предмет соответствия требованиям, предъявляемые им Техническим регламентом Таможенного союза 022/2011 №881 «Пищевая продукция в части её маркировки».

В качестве методов исследования использованы контент-анализ, сравнительный, графический, математический, статистический анализы.

Объектом исследования является российский фармацевтический рынок и его сегмент – рынок БАД согласно АТХ-классификации [3].

Оценка рынка БАД в контексте страны происхождения позволила выявить следующие результаты. Общий стоимостной объем рынка за 7 лет вырос на 40,8% и к 2021 году достиг 80,9 млрд. руб. При этом, объем продаж импортных БАД растет более активно, чем отечественных, прирост объема которых равен 21,4%.

При этом в структуре продаж БАД на фармацевтическом рынке в 2015-2019 гг. подавляющая доля приходится на отечественных производителей, удельный вес которых превышает 50%, в 2020 году составила 49%, а в 2021 году – 48% (рис. 1). Так отмечается тенденция к сокращению доли отечественных БАД в общей структуре с 56% до 48%. При этом доля импортных БАД за 7 лет увеличилась с 44% до 52%, что свидетельствует о том, что реализация стратегии импортозамещения на фармацевтическом рынке не была выполнена.

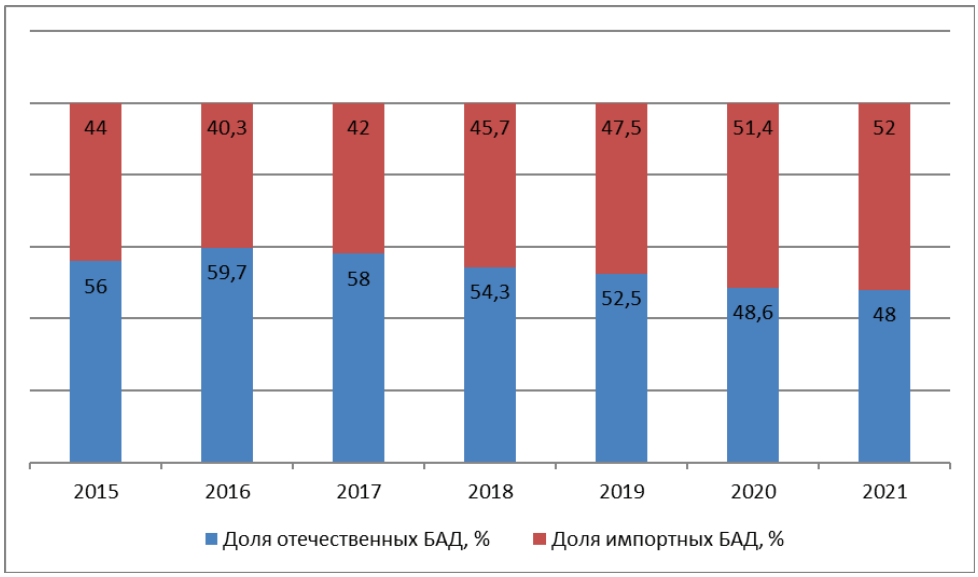


Рисунок 1. Структура стоимостного объема продаж отечественных и импортных БАД на фармацевтическом рынке РФ в 2015-2021 гг.

В свою очередь, оценка данных в натуральных единицах показала, что объем продаж как отечественных, так и импортных БАД в 2015-2019 гг. снижается, что связано с уменьшением спроса на данный вид фармацевтической продукции (рис. 2). В 2020-2021 гг. в связи с коронавирусной инфекцией спрос увеличился в большей степени на импортные БАД. Так, за 7 лет объем продаж отечественных БАД снизился с 271 млн. уп. до 238 млн. уп. (-12%) несмотря на то, что в период 2016-2017 гг. имел тенденцию к росту до 276-277 млн. уп. При этом, объем продаж импортных БАД за 7 лет увеличился с 64 млн. уп. до 73,8 млн. уп. (+13,3%).

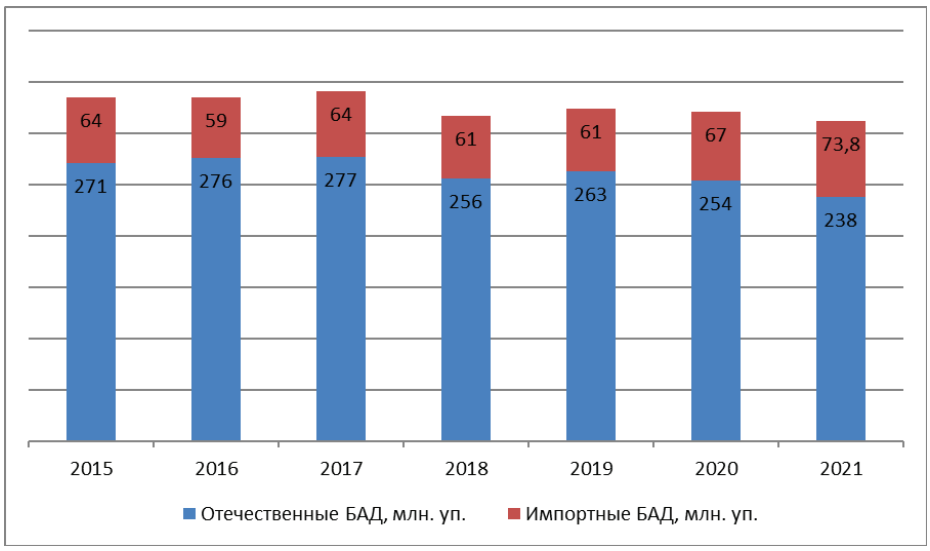


Рисунок 2. Динамика натурального объема продаж отечественных и импортных БАД на фармацевтическом рынке РФ в 2015-2021 гг.

В структуре натурального объема продаж БАД во всем исследуемом периоде подавляющая доля приходится на отечественную продукцию, удельный вес которой превышает 75%. В свою очередь, доля импортных БАД имеет тенденцию к увеличению с 19% до 23,7%.

Следовательно, можно говорить о том, что основу рынка БАД как составной части фармацевтического рынка РФ составляет продукция отечественного производства, на которую приходится более 75% от общего объёма проданных упаковок. При этом, в стоимостном измерении наибольшая доля приходится на импортные БАД, что обусловлено их более высокой стоимостью по сравнению с отечественными.

Рейтинг продаж по разделам классификатора БАД по итогам 2015 года возглавляет группа «БАД, действующие на организм в целом» – доля 25%, в состав которой входят витаминные и укрепляющие БАД (лидер – «Фемибион»). Второе место принадлежит группе «БАД, влияющие на репродуктивную систему» – 22% (лидер – «Сеалекс Форте»). Замыкает тройку лидеров группа «БАД, действующие на пищеварительную систему» – 18% (лидер – «Фитолакс»). Высокие темпы роста показала группа «БАД, поддерживающие функцию иммунной системы» (прирост к 2014 году 45,1%). Последние строчки рейтинга занимают группы «БАД, применяемые при отравлениях и интоксикациях» (лидер – «Уголь Белый»), «БАД, применяемые для лечения и профилактики онкологических заболеваний» (лидер – «Промисан»), «БАД, применяемые при вирусных, бактериальных и грибковых заболеваниях» (лидер – «Ромашка»).

Рейтинг производителей БАД в 2015 году возглавляет отечественный производитель «Эвалар», на продукцию которого приходится около 15% всех аптечных продаж БАД в денежном выражении. По итогам года ведущим брендом в портфеле БАД стала добавка «Фитолакс», которая поддерживает функцию кишечника. На два ведущих бренда («Фитолакс» и «Турбослим») приходится 40% продаж компании. Также высокими темпами роста обладают такие БАД, как «Глицин», «Пустырник», «Хондра». «РИА «Панда» уверенно занимает 2 позицию. За 2015 год прирост компании составил 8%, что связано с продажей основных продуктов («Сеалекс Форте» и «Али Капс»), предназначенных для коррекции специфических нарушений у мужчин и составляющих 83% продаж компании. Благодаря высокому росту бренда «Витамишки» (64%) компания PharmaMed заняла долю 6,2% и вошла в ТОП-3 производителей.

В 2015 году в наименованиях БАД чаще использовались следующие критерии: понятность, легкочитаемость, достоверность названия, использование основных компонентов в наименовании [4], что соответствует 42% по каждому показателю. По результатам проведенного анализа, наименования «Фемибион» и «Фитолакс» являются наиболее успешно созданными, что подтверждает использование производителями 8 критериев из 12. Данные биологически активные добавки входят в лидерские позиции продаж.

Как и в прошлые периоды, в 2016 году наиболее востребованными остаются «БАД, действующие на организм в целом». В сравнении с 2015 годом, в 2016 году данная группа БАД выросла на 8% в рублях. Наиболее популярными в данной группе остаются бренды «Витамишки» компании PharmaMed и «Фемибион» компании Merk Selbstmedikation. Группа «БАД, влияющих на пищеварительную систему» показала максимальный прирост объемов в денежном выражении (+17%) и оказалась на второй строчке в рейтинге, благодаря значительному снижению объемов реализации группы «БАД, влияющие на репродуктивную систему» (-25%).

Высокую положительную динамику в 2016 году показывает группа «БАД, применяемые при заболеваниях дыхательной системы» (+26%). На первых строчках по популярности расположились леденцы «Доктор Тайсс» (Dr. Theiss Naturwaren) и «Кармолис» (Dr. A. L. Schmidgall).

Последние строчки рейтинга 2016 года занимают группы «БАД, применяемые при отравлениях и интоксикациях» (доля 0,7%), «БАД, применяемые для лечения и профилактики онкологических заболеваний» (доля 0,2%). «БАД, применяемые при вирусных, бактериальных и грибковых инфекциях» (доля 0,1%) пусть и занимают последнюю строчку в рейтинге, но имеют большой прирост стоимостного объема – 51%.

В отличии от 2015 года, в 2016 году к критериям наименований помимо понятности, легкочитаемости, достоверности, добавляется краткость названия, что составляет 25% по всем показателям. Лидером наименования в этом году считается «Кармолис», из 12 показателей – 6 использовались производителем. Данная биологически активная добавка является одной из успешно продаваемой на данном рынке.

В 2017 году наиболее востребованными на рынке остаются «БАД, действующие на организм в целом». В сравнении с 2016 годом данная группа БАД выросла на 10,7%. Наиболее популярными в данной группе остаются бренды «Фемибион» компании Merk Selbstmedikation и «Витамишки» компании PharmaMed. На втором месте расположилась группа «БАД, действующих на пищеварительную систему» (+12,1%). В данной группе наиболее популярны бренды «Фитолакс» отечественного производителя «Эвалар» и «Максилак» компании Genexo. На третьей строчке группа «БАД, влияющих на репродуктивную систему», которая показала снижение объема реализации на 15,2%. Несмотря на падение продаж в 2 раза, рейтинг возглавляют препараты, влияющие на мужскую репродуктивную систему – «Сеалекс Форте Плюс» и «Али Капс Плюс». БАД, влияющая на женскую репродуктивную систему, с максимальным объемом продаж – «Индинол».

Большая часть подгрупп демонстрирует положительную динамику. Продажи сокращаются у БАД для похудения за счет падения лидера группы линейки «Турбослим», также наблюдается сокращение продаж группы «БАД, действующих на кроветворную систему» – гематоген в различных вариантах уже не так востребован.

Последние строчки рейтинга 2017 года занимают группы «БАД, поддерживающие функцию иммунной системы» (доля 0,6%), «БАД, применяемые для лечения и профилактики онкологических заболеваний» (доля 0,2%), «БАД, применяемые при вирусных, бактериальных и грибковых инфекциях» (доля 0,2%).

В 2017 году в наименованиях БАД чаще соблюдались следующие критерии: понятность, достоверность и легкочитаемость – 50% по каждому показателю, 33% составляет краткость названия, указание основных компонентов и основного действия по 25% соответственно.

Исходя из результатов исследования, наибольшее количество используемых критериев в наименованиях были у следующих БАД: «Максилак», «Сеалекс Форте Плюс», «Али Капс Плюс», являющиеся лидерами продаж, а также «Турбослим», «Гематоген», у которых, несмотря на успешно созданное название, сокращаются продажи. Связано это с тем, что сбыт этих БАД не зависит от нейминга, а определяется, в большей степени, внешними факторами: состоянием рынка, рекламы, приоритетными направлениями развития индустрии БАД.

Традиционно наиболее востребованными на рынке в 2018 году остаются универсальные добавки группы «БАД, действующие на организм в целом» (доля 30,1%). За год эта группа незначительно снизила свои позиции – на 0,5%. Самыми популярными в группе оказались бренды Solgar (доля в продажах группы – 10,4%) компании Solgar Vitamin And Herb и «Фемибион» компании Merk Selbstmedikation. Второе место заняла группа «БАД, действующие на пищеварительную систему», показав падение объема реализации на 0,9%. На третьей строчке оказалась группа «БАД, действующие на репродуктивную систему», которая продемонстрировала сокращение продаж (-3,1%). Группу возглавил препарат, влияющий на женскую репродуктивную систему – «Индинол» (8,7%) от производителя «Мираксбиофарма». На втором месте в данной группе расположился БАД, устраняющий эректильную дисфункцию у мужчин – «Вука Вука» (5,1%), сместив на третью позицию «Виардо» (4,3%).

Десять подгрупп показали отрицательную динамику. Наибольшее снижение продаж было отмечено у таких групп: «БАД, действующие на кроветворную систему» (-18,0%), «БАД, применяемые при вирусных, бактериальных и грибковых заболеваниях» (-17,7%), «БАД для похудения и очищения организма». А вот продажи группы «БАД, действующие на мочевыделительную систему», наоборот, выросли на 12,6%. Объемы реализации добавки в форме капсул «Фитолизин», способствующей поддержанию нормального функционирования почек и мочевыводящих путей, за год увеличились на 335,3%.

В 2018 году в наименованиях БАД чаще использовались следующие критерии: краткость – 25%, легкочитаемость, достоверность, уникальность, указание целевой группы в названии по 17% по каждому показателю. Наиболее успешно создано наименование «Фитолизин», производителем использовано 6 критериев из 12, что обуславливает его нахождение в лидерских рядах продаж.

В 2019 году самыми востребованными являются универсальные добавки группы «БАД, действующие на организм в целом» – доля 30,8% в рублях. Относительно 2018 года объем продаж этой группы БАД вырос на 22,1%. Вторую строчку занимает группа «БАД, действующие на пищеварительную систему» (21,2%), которая продемонстрировала прирост продаж на 14,7%. На третьем месте расположилась группа «БАД, действующие на репродуктивную систему» (10,1%), также показав положительную динамику продаж +7,8%. Группу возглавили добавки «Вука Вука» (удельный вес 5,1%) зарубежного производителя Stada и «Индинол» (4,5%) от фирмы «Мираксбиофарма».

Максимальный темп прироста отмечен у групп: «БАД, поддерживающие функцию иммунной системы» (+62,1%) – рост группе обеспечили витаминные комплексы «Эхинацея Биокор Комплекс» и «Вито Плюс»; «БАД, применяемые при заболеваниях костной системы» (+49,3%) – за счет продаж добавок «Артроверон» и «Арстига» для поддержания нормального функционирования суставов; «БАД, применяемые при вирусных, бактериальных и грибковых заболеваниях» – объем реализации «новинки» – средства от боли в горле «Лизолор» компании Acino в 2019 году составил 43,6 млн. руб.

Продажи упали только у группы «БАД для похудения и очищения организма» – на 1,3%. Объем реализации линейки продуктов для похудения «Модельформ» и добавки «Редуксин Лайт», способствующие уменьшению жировой массы тела, в 2019 году сократился на 18,1% и на 18% соответственно.

По итогам 2019 года в наименованиях БАД чаще применялись следующие критерии: понятность, легкочитаемость, достоверность по 58% соответственно, краткость – 50%, указание в название основных компонентов – 33%. Наиболее успешно созданным наименованием является «Артроверон», производителем использовано 8 критериев из 12, а также «Лизолор» 7 критериев из 12, которые являются лидерами продаж БАД.

В 2020 году традиционно самыми востребованными на рынке остаются добавки общего назначения группы «БАД, действующие на организм в целом» – доля 34,1% в рублях. При сравнении с 2019 годом объем реализации этой группы БАД вырос на 29,2%. Основные бренды биодобавок в группе – Solgar компании Solgar Vitamin and Herb и «Фемибион» корпорации Dr. Reddys. Вторую строчку удерживает группа «БАД, действующие на пищеварительную систему», которая продемонстрировала прирост продаж на 10,6%. В данной группе наиболее востребованы позиции «Фитолакс» отечественного производителя «Эвалар» и «Максилак» компании Allium. Третье место у группы «БАД, влияющие на функции ЦНС», которая показала положительную динамику продаж +5,3%. Группу возглавили добавки отечественного производителя «Эвалар» – «Формула Спокойствия» и «Эвалар Глицин».

Сезонные группы «БАД, поддерживающие функцию иммунной системы» и «БАД, применяемые при заболеваниях дыхательной системы» в 2020 году заметно укрепили свои позиции в рейтинге за счет роста продаж на 124% и 27% соответственно. Наибольший рост показали витамины – витамин D_3 (динамика продаж увеличилась в 2,5 раза по сравнению с 2019 годом) и витамин С (динамика продаж увеличилась в 1,5 раза по сравнению с 2019 годом).

Последние строчки рейтинга занимают группы «БАД, влияющие на функцию желез внутренней секреции», «БАД, действующие на мочевыделительную систему», «БАД, применяемые для лечения и профилактики онкологических заболеваний». Продажи заметнее всего упали у группы «БАД, применяемые для лечения и профилактики онкологических заболеваний» – на 16,1%. Объем реализации антиоксиданта «Биодигидрокверцетин» и добавки «Репеин» для улучшения переносимости сеансов лучевой и химиотерапии в 2020 году сократился на 47% и 40% соответственно.

В 2020 году в наименованиях БАД чаще применялись следующие критерии: понятность, легкочитаемость, достоверность по 33% соответственно, указание в названии основных компонентов – 25%. Несмотря на наличие сокращения объема реализации, наиболее успешно созданным наименованием является «Репеин», производителем использовано 6 критериев из 12. Продажи этого БАД не зависят от названия, а определяются, в большей степени, внешними факторами: состоянием рынка, первостепенными направлениями развития индустрии БАД, конкуренцией, покупательской способностью клиентов.

В 2021 году первую строчку рейтинга продаж заняла группа «БАД, действующие на организм в целом» (доля 32,2% в рублях). Вторую строчку занимает группа «БАД, действующие на пищеварительную систему» (доля 20,5%). На третьем месте расположилась группа «БАД, влияющие на функции центральной нервной системы» (доля 9,4%).

Последние строчки рейтинга продаж занимают группы: «БАД, влияющие на функцию желез внутренней секреции», «БАД, применяемые для лечения и профилактики онкологических заболеваний». «БАД, применяемые при вирусных и грибковых заболеваниях» имеют наибольшую динамику потребления (прирост к 2020 году 33%).

Традиционно ведущим производителем БАД является «Эвалар» с долей 15,7% в рублях (объём продаж компании снизился на 8,9%). Падение продаж российской корпорации обеспечили: линейка с различными продуктами «Эвалар» (-26,9%), добавка, применяемая при заболеваниях печени и желчного пузыря, «Гепатрин» (-15,5%) и БАД, нормализующий процессы возбуждения и торможения в ЦНС, «Формула Спокойствия» (-11,1%). При этом у БАД – хондропротектора «Хонда» (+76,4%) и серии травяных чаёв «Эвалар Био» (+13,2%) заметно выросла реализация. Второе место – у американского производителя Solgar Vitamin and Herb (доля на рынке 7,3% в руб.). Третью позицию занимает канадский производитель PharmaMed (доля на рынке 5,9% в руб.), объём реализации компании вырос на 30,4%. На увеличение продаж в большей мере повлияла реализация детских витаминов «Кидс Формула» (+453,0%) и добавки к пище для мужского здоровья «СпермАктин Форте» (+64,7%). Ключевая добавка производителя – мульти-пробиотик нового поколения для взрослых и детей под маркой «Бак-Сет» – также выросла в продажах на 42,9%. Максимальное сокращение объёма потребления принадлежит витаминам, минералам и экстрактам целебных растений для оптимальной коррекции веса «Диет Формула» (-60,8%) и специализированной линии биокомплексов с экстрактами лекарственных растений для женщин «Лайф Формула» (-30,5%).

По итогам 2021 года в наименованиях БАД чаще применялись следующие критерии: понятность, легкочитаемость, достоверность по 25% соответственно, краткость и указание в названии целевой группы – 16% по каждому показателю. Наиболее успешно созданным наименованием является «СпермАктин Форте» и «Бак-Сет», производителями использовано 6 критериев из 12, что подтверждает их нахождение на лидерских позициях продаж в 2021 году.

Согласно проведенному анализу с 2015-2021 гг., наиболее часто изготовителями применялись следующие критерии в создании наименования БАД: легкочитаемость, достоверность по 94% соответственно, понятность – 91%, краткость – 75%, использование в названии основных компонентов – 59%.

Рисунок 3. Критерии оценки наименования БАД

Исходя из полученных результатов исследования, можно сделать вывод, что профессиональный подход нейминга БАД необходим, так как он влияет на уровень продаж. Тому подтверждение проведенный анализ: за период с 2015-2021 гг. чаще использовались такие критерии, как понятность, легкочитаемость, достоверность, но также отмечалось увеличение применения краткости и указания основных компонентов в наименовании. Эти показатели способствуют росту продаж БАД, так как словесные знаки лучше запоминаются за счёт одновременного действия смысловой и знаковой составляющих.

Малый процент использования таких критериев, как указание в наименовании органа мишени или систем организма, ареала изготовления и лекарственной формы, возможно, обусловлен тем, что данные показатели несут меньшую смысловую нагрузку, чем использование основных компонентов в нейминге.

Такие показатели, как уникальность, указание в названии области применения и основного действия БАД в меньшей степени применяются производителями, что обуславливает снижение уровня продаж БАД. Тогда как эти критерии способствуют выделению продукции среди конкурентов, представлению информации потребителю о целевом применении, действии биологически активных добавок.

Рекомендациями по созданию наименований БАД являются использования следующих критериев: понятность, легкочитаемость, краткость, достоверность, уникальность названия, указания области применения и основных компонентов БАД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова И.С., Веснина А.Д., Шадрин В.Г. Маркетинговое исследование рынка биологически активных добавок // Техника и технология пищевых производств. 2020. Т. 50. N 3. С. 503–514. DOI: https:// doi.org/10.21603/2074-9414-2020-3-503-514

2. Маркетинговое агентство DSM Group. [Электронный ресурс]. URL: https://dsm.ru/ (Дата обращения 19.02.2022).

3. Predicting Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Classification of Drugs by Integrating Chemical-Chemical Interactions and Similarities / C. Lei [et al.] // PLoS ONE. 2012. Vol. 7(4). P e35254. doi.org/10.1371/journal.pone.0035254.

4. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 022/2011 «Пищевая продукция в части её маркировки». от 9 декабря 2011 года N 881

SUMMARY

NAMING AND ITS IMPACT ON THE LEVEL OF NS SALES IN RUSSIA

Kurbatova S.G., 3rd year student, **Tishina V.A.**, 4th year student
Head: **Sushkova M.S.**, senior lecturer
Altai State Medical University
656038, Barnaul, st. 40 Lenina Avenue, Russian Federation
E-mail: lenozka_15@mail.ru

In the course of the study, data were obtained on the state of the Russian pharmaceutical market of biologically active additives (BAA) from 2015 to 2021. and analyzed the impact of naming on the sales of dietary supplements. Based on this, it was concluded that those manufacturers of dietary supplements who professionally approached naming secured leadership positions in terms of sales. In this regard, we can say that naming really affects the level of sales of dietary supplements, a successfully created name contributes to a good memorization of it among consumers.

Keywords: *naming, naming of dietary supplements, dietary supplement classification groups, domestic and foreign dietary supplements, Russian pharmaceutical market, market analysis, market dynamics.*

REFERENCES

1. Antonova I.S., Vesnina A.D., Shadrin V.G. Marketing research of the market of dietary supplements // Technique and technology of food production. 2020. V. 50(3). P. 503-514. (in Russian). DOI: https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-3-503-514.

2. Marketing agency DSM Group. [Internet]. URL: https://dsm.ru/ (Accessed: 02.19.2022). (in Russian).

3. Predicting Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Classification of Drugs by Integrating Chemical-Chemical Interactions and Similarities / C. Lei [et al.] // PLoS ONE. 2012. Vol. 7(4). P e35254. doi.org/10.1371/journal.pone.0035254.

4. Technical regulation of the Customs Union TP TC 022/2011 Food products in terms of their labeling dated December 9, 2011 N 881. (in Russian).

УДК 61:615.1

АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ ПРИНЦИПОВ МЕРЧЕНДАЙЗИНГА ДЛЯ АПТЕЧНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Ливанова А.Ф., студ. 1 курса, **Курочкина Д.К.**, студ. 1 курса
Руководитель: **Афанасьева Т.Г.,** д.фарм.н., профессор
Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко
394036, Воронеж, ул. Студенческая, д. 10, Российская Федерация
E-mail: livanova982006@mail.ru

Рассматриваются теоретические и практические вопросы анализа принципов мерчендайзинга для основных торговых зон аптечных организаций. Также в статье рассмотрены различия в выкладках открытого и закрытого типа, и проанализированы особенности оформления прикассовой зоны аптеки. Сравнили типы выкладки и фармацевтический товар, представленный в прикассовых зонах аптечных организаций «ООО Максавит» и «ООО Алоэ» города Воронеж.

Ключевые слова: *мерчендайзинг, выкладка товара, горячая зона, ассортимент, аптечная организация, прикассовая зона.*

Выкладка товара на витрины аптеки имеет большое значение как для сотрудников аптеки, так и для всей аптечной организации в целом. Но для того, чтобы выкладка была не только красивой, но рациональной и продающей, нужно соблюдать несколько важных принципов и правил мерчендайзинга. Тема актуальна в фармацевтическом мире, поскольку правильная выкладка товара, рациональный подбор ассортимента и соблюдение правил мерчендайзинга влияет на объем продаж. Не менее актуальна тема и для посетителей аптек, так как обычно сезонно-нужный товар всегда находится перед глазами, что позволяет людям быстрее и легче ориентироваться и выбрать нужное лекарственное средство. Анализ основных принципов мерчендайзинга для аптечных организаций и являлся целью нашей работы. Целью нашей работы являлся анализ основных принципов мечендайзинга в горячих зонах аптечных организаций и их влияние на процесс стимулирования продаж. Для достижения цели, мы сформулировали пред собой следующие задачи: охарактеризовать сущность мерчендайзинга; описать приоритетные зоны торгового зала аптеки и принципы мерчендайзинга, характерные для них; сравнить типы выкладки и оформление прикассовых зон в аптечных сетях города Воронеж.

Материалы исследования: аптечный ассортимент. Методы исследования: описательные методы, методы классификации и применение сравнительного анализа ассортимента в разных приоритетных зонах выкладки товара в аптечных организациях города Воронеж: «ООО Алоэ» и «ООО Максавит».

Мерчендайзинг – комплекс мероприятий по наиболее эффективному размещению товаров и информационных материалов в аптеке с целью скорейшей реализации товаров и стимулирования покупателя в решении о покупке. Основной задачей мерчендайзинга является увеличение объёма продаж с имеющейся торговой площадки, при сохранении и повышении удовлетворения покупателя от процесса совершения покупки. Особенность мерчендайзинга в аптечных организациях – направленность на препараты безрецептурного отпуска и парафармацевтическую продукцию, т.е. те товары, выбирать которые может сам потребитель.

Выкладка товаров должна быть точной, чтобы с одной стороны привлечь внимание покупателя, а с другой – не нарушить законодательство и условия хранения товаров. Мерчендайзинговая политика для аптек с выкладками открытого и закрытого типа различна: каждый тип выкладки имеет как положительные, так и отрицательные стороны с точки зрения представления товаров у кассы. В аптеках открытого типа с большой площадью рациональнее всего использовать сплошную выкладку – «блочный» тип, а также приём с выкладкой многочисленного количества упаковок одного и того же товара. Это создаёт у покупателя впечатление широкого выбора ассортимента и доступности конкретного товара по выгодной цене. В аптеках с открытой выкладкой можно использовать любые другие способы представления товаров, с применением специального оборудования, например, стойки или отдельно оформленных корзинок.

Аптекам с выкладкой закрытого типа небольшое пространство нужно использовать рационально: ограничить представление одинакового товара следует не более, чем двумя упаковками. Помимо этого, обилие однотипного товара на витринах может создать впечатление о скудном ассортименте аптеки. При расположении товара в аптеке с выкладкой

закрытого типа также следует помнить о том, что вертикально расположенные упаковки смотрятся более выгодно в глазах покупателя, чем горизонтально расположенные. Чтобы грамотно организовать пространство на полках часто используют специальные «ступени» или «горки» – этот способ выкладки помогает не только визуально увеличить пространство, но и соблюсти правило о представлении ближе к покупателю более дорогих товаров.

В основных принципах мерчендайзинга выделяются основные направления потоков движения покупателей, которые формируют приоритетные зоны в торговом зале аптеки (таблица).

Таблица – Приоритетные зоны торгового зала аптеки

№ п/п	Факторы	Наименование зоны	Характеристика зоны
1	Плотность покупательского потока	«Ледяная» зона	Зона около выхода с левой стороны, наименее посещаемая покупателями (до 10%покупателей). В этой зоне рационально разместить: стол, диван, декоративные элементы.
		«Холодная» зона	Наиболее удаленная от входа зона, которую посещают от 20 до 30% посетителей аптеки. В этой зоне обычно размещают ассортимент, пользующийся небольшим, но стабильным спросом, например, детскую и лечебную косметику, товары, для ухода за больными.
		«Теплая» зона	Зона, находящаяся в центральной части торгового зала и посещаемая 50-70% посетителей аптеки. В «теплые» зоны обычно выкладывают дорогостоящие витамины, БАДы, мази, несезонные лекарства, а также популярную косметическую продукцию.
		«Горячая зона»	Зона с правой стороны в начале покупательского потока, Является наилучшим местом для выкладки товара, с посещаемостью от 70 до 90%. В этой зоне целесообразно размещать товары, приносящие аптеке наибольшую прибыль, такие как акционные препараты, сезонные и рекламируемые товары.
2	Направление движения покупательского потока	Правило «золотого треугольника»	Правило используется при планировании аптек с закрытым типов выкладки. «Золотой треугольник» соединяет между собой точки входа в аптеку, кассу и места, где расположен самый популярный, пользующийся большим спросом ассортимент. Таким образом, внутри «золотого треугольника» должен оказаться самый ходовой и прибыльный товар.
3	Направление движения покупательского потока	Правило «Платиновой петли»	Правило используется для аптек с открытой формой выкладки. «Платиновая петля» – траектория движения покупателей, включающая в себя вход и основную витрину. Овал между этими двумя точками и есть направление, по которому должен пройти посетитель.
4	Покупка сопутствующего товара	Прикассовая зона	Одна из самых горячих зон в аптеке. Около кассы покупатель проводит определенное количество времени и обращает внимание на ассортимент, выставленный на прикассовых витринах. В этой зоне размещают товары импульсивного спроса (витамины, дезинфицирующие средства, леденцы).

Прикассовая зона является отличным местом для эффективных импульсивных покупок, и ее оформление практически одинаково для всех типов аптек. Здесь следует располагать компактные товары в небольших упаковках. Немаловажное значение имеет и дизайн – чем он более яркий и броский, тем больше шансов, что его заметит покупатель.

Прикассовая зона – одна из самых выигрышных зон во всей аптеке, на которой представлен товар, подвергающийся тщательному отбору, и на это есть несколько причин: больше половины людей склонны делать импульсивные покупки, покупатели рассматривают продукцию в прикассовой зоне, ожидая своей очереди, при правильном оформлении прикассовой зоны, каждый второй покупатель приобретает какой-либо из расположенных на ней товаров. Именно в этой зоне можно приобрести не только нужный лекарственный препарат, но и множество необходимых человеку сопутствующий товар: пластыри и бумажные платочки, средства, защищающие кожу от солнечных ожогов, капли от насморка и травяные чаи. Нами выделено несколько правил размещения фармацевтического товара в небольшом прикассовом пространстве: компактность (товар должен быть не объемным и громоздким), привлекательность (яркие упаковки), сезонность (товар, в зависимости от заболеваемости), участие в программе лояльности (акции, скидки, дисконтные карты, бонусы, подарки и др.), мотивация к совершению импульсивных покупок (пластыри, пастилки). Гематоген, бумажные платочки, различные витамины), товары массового спроса, выкладка по идее (аптечка туриста, дачника, первой помощи, автомобильная), товары для продвижения (косметическая продукция).

Мы посетили несколько аптечных сетей и проанализировали особенности выкладки товара в прикассовой зоне. В

аптеке торговой сети «ООО Алоэ» преобладает горизонтальная выкладка закрытого типа (товары представлены по всей длине полки, разделение по видам происходит по уровню полок). В аптеке торговой сети «ООО Максавит» предпочтение отдают блочной выкладке открытого типа (фармацевтические товары выкладываются группой, сформированной в единый блок: по бренду, производителю или терапевтической группе).

В исследуемых нами аптеках, мы также проанализировали и разбили по группам ассортимент, представленный в прикассовой зоне. В аптеке сети «ООО Максавит» представлены: 60%- противовирусные препараты – «Антигриппин», «Кагоцел», 20% – обезболивающие средства – «Нурофен», «Пенталгин», «Дексонал», 20% – сопутствующие товары – гематоген, витамины, бумажные платочки. В аптеке сети «ООО Алоэ» прикассовый ассортимент составляют: 70% – сезонные противовирусные препараты – «Арбидол», «Ингавирин», «Циклоферон», 20% – адсорбирующие препараты – «Смекта», «Активированный уголь», «Энтеросгель», а также препараты, регулирующие сердечную деятельность – «КардиОмега», «Кораксан», 10% – сопутствующие товары- гематоген, витамины, дезинфицирующие средства, пластыри.

Заключение. Профессиональный мерчендайзинг является важной составляющей модели повышения продаж в аптечных организациях. Правильное применение принципов мерчендайзинга может способствовать: увеличению объёма продаж, в частности незапланированных покупок, увеличению прибыли, привлечению новых покупателей, и улучшению качества обслуживания посетителей.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.31.00 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Крикун В.П., Солдатенко Н.Ю. Мерчендайзинг как эффективный способ увеличения прибыли в аптеке // Сборник научных трудов. «Наука, Творчество, Инновации» 2019. С. 78-81.

2. Юнис Б.С., Пятигорская Н.В. Изучение распространенности и эффективности инструментов мерчендайзинга в аптеке // Сборник статей по материалам XXIII-XXV международной научно-практической конференции. Естественные науки и медицина: теория и практика. 2020. С. 46-55.

3. Использование приемов мерчендайзинга в аптеке. В сборнике: Поколение будущего: взгляд молодых ученых-2020 / Д.Т. Мамедов [и др.] //Сборники научных статей 9-й Международной молодежной научной конференции: в 5-и томах. Юго-Западный государственный университет. 2020. С. 167-171.

4. Рыжова О. Выкладка в аптеке: правила для каждой группы товаров // Новая аптека. 2020. N 10. С. 26-33.

5. Крикун В.П., Солдатенко Н.Ю. Мерчандайзинг как эффективный способ увеличения прибыли в аптеке // Сборник научных трудов. «Наука, Творчество, Инновации». 2019. С. 78-81.

6. Ветрова И. Три принципа увеличения продаж в прикассовой зоне // Новая аптека. 2019. N 5. С. 48-51.

SUMMARY

ANALYSIS OF THE BASIC PRINCIPLES OF MERCHANDISING FOR A PHARMACY ORGANIZATION

Livanova A.F., 1st year student, **Kurochkina D.K.**, 1st year student
Supervisor: **Afanasyeva T.G.**, Ph.D., Prof.
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
«Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko» of the Ministry of Health of the Russian Federation,
394036, Voronezh, Studentskaya str., 10, Russian Federation
E-mail: livanova982006@mail.ru

Theoretical and practical issues of the analysis of the principles of merchandising for cash zones of pharmacy organizations are considered. The article also discusses the differences in the calculations of the open and closed type, and analyzes the design features of the checkout area of the pharmacy. We compared the types of display and pharmaceutical goods presented in the checkout areas of pharmacy organizations «LLC Maksavit» and «LLC Aloe» in Voronezh.

Keywords: *merchandising, product display, hot zone, assortment, pharmacy organization, checkout area.*

REFERENCES

1. Krikun V.P., Soldatenko N.Yu. Merchandising as an effective way to increase profits in the pharmacy // In the collection. «Science, Creativity, Innovation». 2019 P. 78-81. (in Russian)

2. Yunis B.S., Pyatigorskaya N.V. Study of the prevalence and effectiveness of merchandising tools in the pharmacy // In the collection: Natural Sciences and Medicine: theory and practice. Collection of articles based on the materials of the XXIII-XXV International scientific and practical conference. 2020. P. 46-55. (in Russian)

3. The use of merchandising techniques in the pharmacy. In the collection: The Generation of the future: the view of young scientists-2020 / D.T. Mammadov // Collections of scientific articles of the 9th International Youth Scientific Conference: in 5 volumes. Southwest State University. 2020. P. 167-171. (in Russian)

4. Ryzhova O. Pharmacy display: rules for each product group // New pharmacy. 2020. N 10. P. 26-33. (in Russian)

5. Krikun V.P., Soldatenko N.Yu. Merchandising as an effective way to increase profits in the pharmacy // Collection of scientific papers: «Science, Creativity, Innovation». 2019. P. 78-81. (in Russian)

6. Vetrova I. Three principles of increasing sales in the checkout area // New pharmacy. 2019. N 5. P. 48-51. (in Russian)

УДК 615.45

АНАЛИЗ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА РОССИИ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ

Марченко Е.А., студ. 1 курса (ORCID: 0000-0002-5817-0040)
Руководитель: **Басевич А.В.**, доц., к. фарм. н. (ORCID: 0000-0002-6864-6794)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ekaterina.marchenko@spcpu.ru

Статья посвящена изучению оценки емкости и структуры фармацевтического рынка РФ в сегментах терапевтических групп (по АТС-классификации): C04A – периферические вазодилататоры, N06B – психостимуляторы и ноотропы и N06D – препараты для лечения деменции.

Ключевые слова: *анализ, кровообращение мозга, терапевтические группы, ноотропные препараты, психостимуляторы, когнитивные функции.*

Полноценное кровоснабжение головного мозга приоритетно важно для деятельности человека, а препараты для улучшения мозгового кровообращения помогают его корректировать. Задача таких лекарственных средств – восстановление или поддержка полноценных метаболических процессов в тканях головного мозга. Терапия нарушений кровообращения мозга, как правило, включает в себя улучшение кровотока, обменных процессов и защиту нейронов от гипоксии (недостаточность кислорода). Важно отметить, что наиболее эффективным является комплексное лечение: с нейропротекторами, поливитаминными комплексами, антиоксидантами, другими средствами, поддерживающими и сосудистую сеть, и множество метаболических процессов в головном мозге. Отметим также, что на фоне постковидных когнитивных расстройств возрастает роль препаратов, способствующих улучшению кровообращения головного мозга, активации метаболических процессов в центральной нервной системе и улучшению когнитивных функций мозга [1].

В связи с этим актуальной является разработка нового комбинированного лекарственного препарата для улучшения мозгового кровообращения и когнитивных функций. В качестве подготовительного этапа была проведена работа по оценке емкости и структуры фармацевтического рынка РФ в сегментах терапевтических групп (по АТС-классификации): C04A – периферические вазодилататоры, N06B- психостимуляторы и ноотропы и N06D – препараты для лечения деменции, которые превалируют среди номенклатуры препаратов, улучшающих мозговое кровообращение и когнитивные функции.

Целью данной работы было изучение емкости рынка препаратов, действующих на мозговое кровообращение и улучшающих мозговую функцию, за период 2017-2021 год и обоснование выбора компонентов для разработки комбинированного лекарственного препарата.

Основная часть

Материалами данной работы являлись научные статьи, посвященные вопросам, нейропротекции, маркетинговым исследованиям на фармацевтическом рынке по вопросам нейропротективных препаратов, сведения из аналитической базы данных по фармацевтическому рынку DSM-group [2], а именно показатели продаж препаратов групп C04A – периферические вазодилататоры, N06B- психостимуляторы и ноотропы и N06D – препараты для лечения деменции за период 2017-2021 годы.

Методами исследования являлись: метод логического анализа, метод систематизации данных, маркетинговые методы (оценка показателя объема продаж, структуры в рамках отдельных терапевтических групп), графический метод. Объектом исследования являлись рыночные показатели следующих терапевтических групп: C04A, N06B и N06D.

Согласно выборке данных из базы DSM-group установлено, что структуре сегмента препаратов, влияющих на нервную систему (группа N), 13% приходится на группу психостимуляторов и ноотропов. Препараты для лечения деменции составляют 4%, а периферические вазодилататоры – 2% от всей группы препаратов, влияющих на нервную систему. Учитывая данные об общей емкости фармрынка в РФ, препараты, влияющие на нервную систему, составляют примерно 10%.

Анализ по странам производителей в структуре продаж за исследуемый период показал, что в группе N06D 28% составляют препараты отечественного производства, среди иностранных производителей лидирует продукция таких стран как Израиль, Беларусь, Япония, Венгрия, Австрия и Бельгия. Что касается ситуации в Санкт-Петербурге, то доля отечественных препаратов данной группы составляет 42%, а среди зарубежных препаратов наибольшие доли занимают Франция, Словения, Германия и Швейцария.

Для группы N06B отмечено, что на долю отечественных препаратов приходится 75%, среди иностранных компаний можно выделить компании из Израиля, Белоруссии, Японии, Венгрии и Австрии. В Петербурге соотношение зарубежных и отечественных значимо отличается, и в целом лидируют зарубежные представители, занимая в этой группе 65%.

Что касается группы препаратов для C04A, препараты отечественного производства составляют 57%, а среди иностранных производителей лидерами являются Франция, США и Канада. В Санкт-Петербурге доля зарубежных представителей составляет 61%, в которой преобладают Италия, Франция и США.

Согласно диаграммам на рисунках 1 и 2 можно сделать вывод, что в 2020-2021 году наблюдается снижение объема продаж в Санкт-Петербурге и в целом по России, как в стоимостных, так и в натуральных показателях.

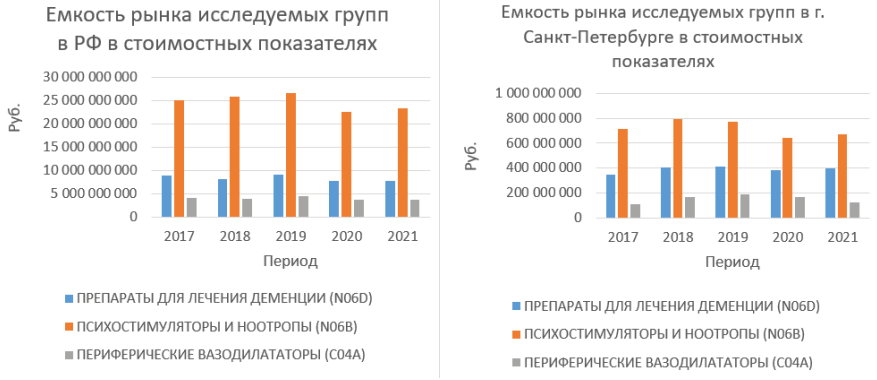


Рисунок 1. Емкость рынка исследуемых групп в РФ и в Санкт-Петербурге в стоимостных показателях

Менее значимое снижение отмечено у препаратов для лечения деменции (N06D). Вероятно, данное снижение связано с эпидемиологической ситуацией, во время которой произошло перераспределение потребностей на фармацевтическом рынке.

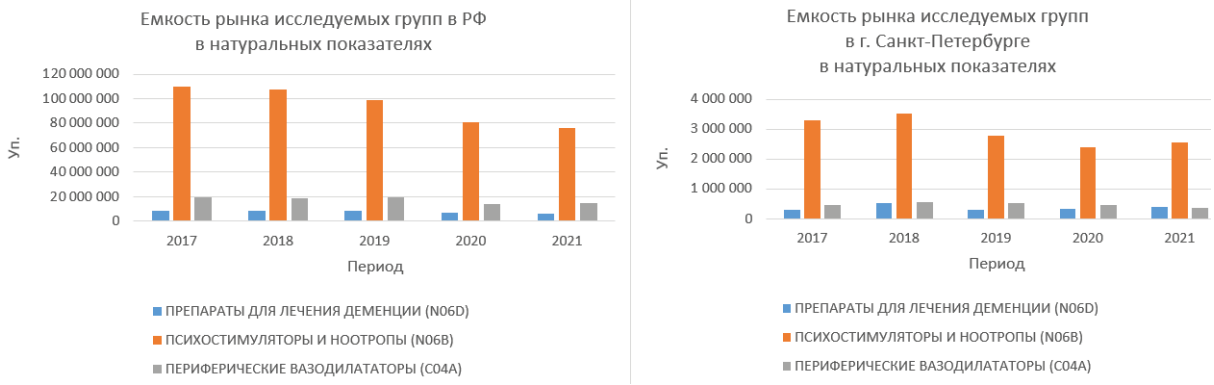


Рисунок 2. Емкость рынка исследуемых групп в РФ и в г. Санкт-Петербурге в натуральных показателях

Препараты исследуемых групп выпускаются в 30 лекарственных формах (распределение по видам лекарственных форм представлено в таблице).

Таблица – Лекарственные формы исследуемых групп препаратов

Лекарственные формы	Исследуемые группы лекарственных препаратов		
	Периферические вазодилататоры (C04A)	Препараты для лечения деменции (N06D)	Психостимуляторы и ноотропы (N06B)
Капли для приема внутрь		+	
Капли назальные			+
Капсулы	+	+	+
Капсулы пролонгированного действия		+	
Концентрат для приготовления раствора для внутривенного введения	+		
Концентрат для приготовления раствора для внутривенного и внутриартериального введения	+		
Концентрат для приготовления раствора для инфузий	+		+
Лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения	+		+
Лиофилизат для приготовления раствора для инъекций	+		
Порошок для приготовления раствора для инъекций	+		
Раствор для внутривенного введения	+	+	

Лекарственные формы	Исследуемые группы лекарственных препаратов		
	Периферические вазодилататоры (C04A)	Препараты для лечения деменции (N06D)	Психостимуляторы и ноотропы (N06B)
Раствор для внутривенного и внутриартериального введения	+		
Раствор для внутривенного и внутримышечного введения	+	+	+
Раствор для инфузий	+		+
Раствор для инъекций	+	+	+
Раствор для приема внутрь		+	+
Сироп			+
Суспензия для приема внутрь			+
Таблетки	+	+	+
Таблетки кишечнорастворимые покрытые пленочной оболочкой	+		
Таблетки покрытые кишечнорастворимой оболочкой	+		
Таблетки покрытые кишечнорастворимой пленочной оболочкой	+		
Таблетки покрытые оболочкой	+	+	+
Таблетки покрытые пленочной оболочкой	+	+	+
Таблетки пролонгированного действия	+		
Таблетки пролонгированного действия покрытые оболочкой	+		
Таблетки пролонгированного действия покрытые пленочной оболочкой	+		
Таблетки с модифицированным высвобождением покрытые оболочкой	+		
Таблетки с пролонгированным высвобождением покрытые пленочной оболочкой	+		
Трансдермальная терапевтическая система		+	
Итого:	23	11	13

Следует отметить, что 11 лекарственных форм предназначены для инъекционного введения, 2 – для использования местно (назальные капли, трансдермальная терапевтическая система), 17 – для приема внутрь. Среди последних наибольшую долю занимают твердые лекарственные формы – таблетки различных видов. Недостаточно представлены жидкие лекарственные формы, которые удобно применять в педиатрической и геронтологической практике.

При анализе данных об общих продажах за период 2017-2021 год в исследуемых группах установлено что в группе N06B к абсолютным лидерам можно отнести препараты со следующими МНН: винпоцетин – 11% (в натуральных показателях) и 8% в стоимостных. Глицин – 41% натуральных показателей (6% – стоимостных), Пирацетам – 11% в натуральных показателях, 14% в стоимостных, гопантеновая кислота: 14 % в натуральных показателях (9% – стоимостных). По ряду источников винпоцетин относится к препаратам с недоказанной эффективностью [3]. Пирацетам достаточно известный ноотроп, в настоящее время входит в большое количество препаратов. Учитывая это, было интересно рассмотреть данные динамики продаж более подробно для глицина и гопантеновой кислоты.

В группе N06D абсолютный лидер – экстракт гинкго билоба, который занимает 58% в натуральных показателях и 39% в стоимостных в рамках группы. Для него также была проведена оценка динамики продаж (рис. 3 и 4).

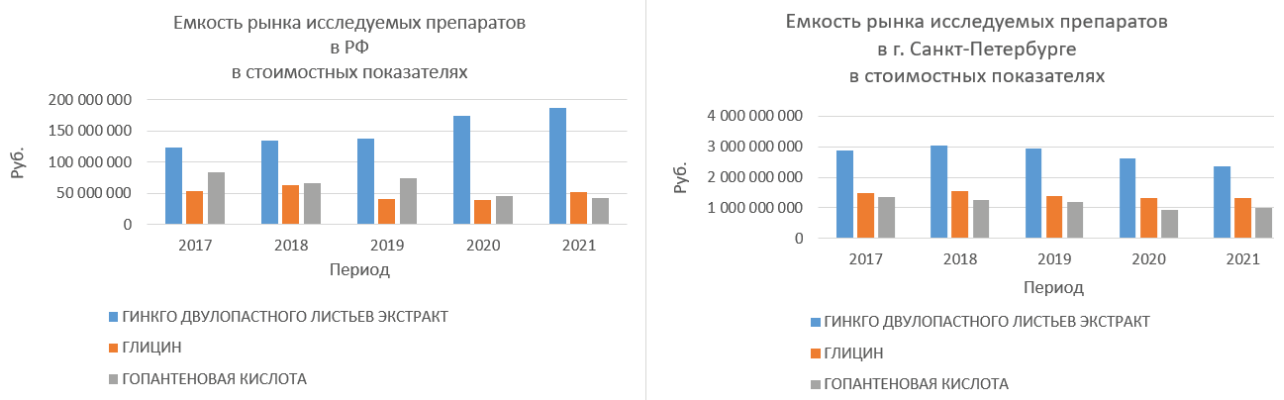


Рисунок 3. Емкость рынка исследуемых препаратов в РФ и в г. Санкт-Петербурге в стоимостных показателях

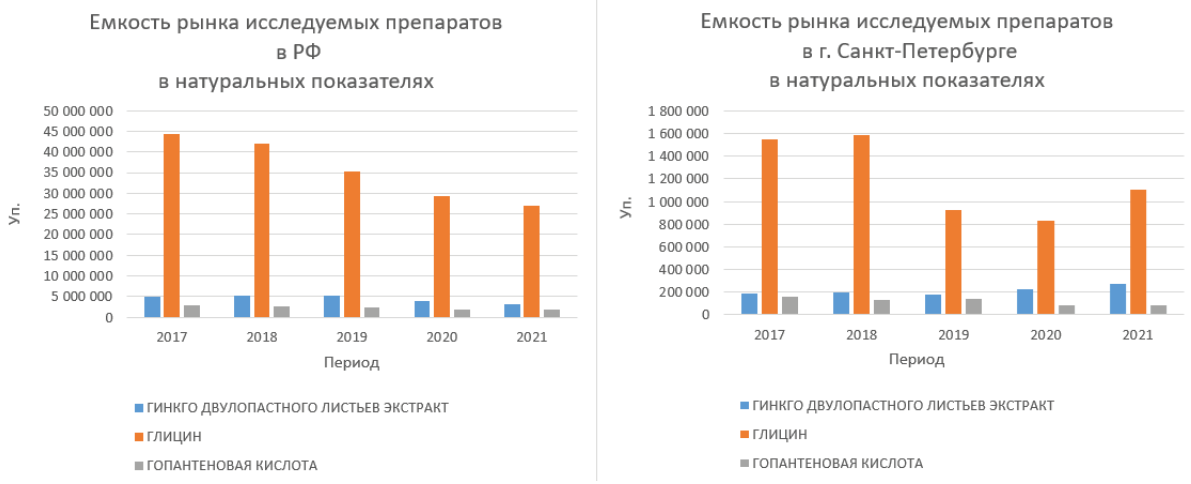


Рисунок 4. Емкость рынка исследуемых препаратов в РФ в г. Санкт-Петербурге в натуральных показателях

Из представленных данных следует, что для гинкго билоба наблюдается отчетливое увеличение объема продаж в стоимостных показателях и небольшое снижение в натуральных. Для глицина и гопантеновой кислоты ситуация относительно стабильная. Изменения показателей емкости рынка практически отсутствуют. Считаем, что полученные данные могут позволить обосновать выбор активных компонентов в состав нового комбинированного препарата для улучшения мозгового кровообращения и когнитивных функций.

Заключение. Изучена емкость рынка препаратов, действующих на мозговое кровообращение и улучшающих мозговую функцию, за период 2017-2021 год. Выявлено небольшое снижение объемов продаж, как для исследуемых групп в целом, так и для отдельных лекарственных препаратов. Сформировано маркетинговое обоснование выбора компонентов для будущей разработки комбинированного лекарственного препарата, улучшающего мозговое кровообращение и когнитивные функции.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность

61.45.15 Исследования и разработки в области технологии химико-фармацевтических средств

ЛИТЕРАТУРА

1. Новикова М.С., Захаров В.В., Вахнина Н.В. Манифестация когнитивных нарушений после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 у пациентки с генотипом ApoE ε4 // Российский неврологический журнал. 2021. Т. 26 N 2. С. 25-29. https://doi.org/10.30629/2658-7947-2021-26-2-25-29

2. Аудит розничного и государственного фармацевтического рынка в РФ // DSM Group. [Электронный ресурс]. URL: https://dsmviewer.ru/ (Дата обращения: 28.02.2022).

3. Путилина М.В., Баранова О.А. Результаты многоцентровой наблюдательной программы «ГЛОБУС» по изучению распространенности головокружения и схем лечения в поликлиниках // Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. 2014. Т. 114. N 5. С. 33-38.

SUMMARY

ANALYSIS OF THE PHARMACEUTICAL MARKET OF RUSSIA TO IMPROVE CEREBRAL CIRCULATION AND COGNITIVE FUNCTIONS

Marchenko E.A., 1st year student, ORCID: 0000-0002-5817-0040
Head: **Baseevich A.V.,** Associate Professor, Candidate of Pharm. Science., ORCID: 0000-0002-6864-6794
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197022, St. Petersburg, st. prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: ekaterina.marchenko@spcpu.ru

The article is devoted to the study of the assessment of the capacity and structure of the pharmaceutical market of the Russian Federation in the segments of therapeutic groups (according to PBX-Classification): C04A – peripheral vasodilators, N06V- psychostimulants and nootropics and N06D – drugs for the treatment of dementia.

Keywords: *analysis, cerebral circulation, therapeutic groups, nootropic drugs, psychostimulants, cognitive functions.*

REFERENCES

1. Novikova M.S., Zakharov V.V., Vakhnina N.V. Manifestation of cognitive impairments after a prior coronavirus infection COVID-19 in a patient with ApoE ε4 genotype // Russian neurological journal. 2021. Vol. 26(2). P. 25-29. (in Russian). https://doi.org/10.30629/2658-7947-2021-26-2-25-29

2. Audit of the retail and state pharmaceutical market in the Russian Federation // Analytical database of the marketing agency DSM Group. [Internet]. URL: https://dsmviewer.ru/ (Accessed: 02.28.2022). (in Russian).

3. Putilina M.V., Baranova O.A. The results of the multicenter observational program «GLOBUS» on the study of the prevalence of vertigo and treatment schemes in outpatient clinics // Zhurnal Nevrologii I Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova. 2014. Vol. 114(5). C. 33-38. (in Russian).

УДК 005.6

ИССЛЕДОВАНИЕ СИСТЕМЫ МЕНЕДЖМЕНТА КАЧЕСТВА НА ОСНОВЕ СТАНДАРТОВ GMP В ЗАРУБЕЖНОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Маслова Д.Д., магистрант 1 года обучения
Руководитель: **Коваленко А.В.**, канд. экон. наук, доцент кафедры экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: maslova.darya@pharminnotech.com

В статье исследуется актуальность введения системы менеджмента качества в рамках современной рыночной экономики, а также рассмотрены её особенности при производстве лекарственных препаратов. В том числе изучена действующая СМК на основе стандартов GMP в зарубежной фармацевтической промышленности.

Ключевые слова: *система менеджмента качества, стандарты качества, снижение рисков, оптимизация затрат*

Фармацевтическая отрасль является одной из важнейших отраслей промышленности в экономике любой страны. Производимые товары должны отвечать многим требованиям, а само предприятие обязано быть безопасным, экологичным, а также рационально использовать ресурсы в процессе своей деятельности. Для выполнения поставленных требований должен существовать особый механизм управления. Производство качественных препаратов является ответственной задачей, которая включает последовательное соблюдение требований надлежащих практик [1].

Система менеджмента качества (СМК) фармацевтических предприятий разработана таким образом, чтобы учитывать организацию, операции, а также политику и правила в области качества в соответствии со стандартом ISO 9001:2015 и другими нормативными документами и рекомендациями, которые определяют текущую надлежащую производственную практику GMP [1, 2].

Таким образом, система менеджмента качества очень важна в фармацевтической промышленности, а именно она отвечает за:

1. Снижение рисков

Развитие системы менеджмента качества в компании поможет сократить количество ошибок, которые могут быть допущены в процессе производства продукции. При отсутствии определённой схемы, облегчающей общение и взаимодействие между сотрудниками, увеличиваются риски ошибок. Поэтому наличие СМК помогает сотрудникам чувствовать себя более вовлеченными в процесс, а значит, каждый из них лучше понимает свою роль и обязанности. [1, 3]

Таким образом, любая фармацевтическая компания рискует совершать ошибки без системы менеджмента качества. Благодаря продвинутой на предприятии СМК каждый служащий понимает, какие задачи ему необходимо выполнять [3].

2. Сокращение количества затрат

Продвинутая система менеджмента качества снижает количество допускаемых ошибок, тем самым, предприятию не приходится тратить дополнительное время и ресурсы на их исправление. Это делает производство более эффективным, а сотрудников более продуктивными. Благодаря введению СМК, организация может за короткие сроки увеличить прибыль и повысить производительность труда.

3. Развитие культуры качества

Система управления качеством снижает количество ошибок и затраты, а также выявляет и устраняет проблемы, обеспечивает обучение и вовлеченность сотрудников и многое другое. Так, эффективная СМК в фармацевтической отрасли развивает в организации культуру качества [2].

4. Поощрение к инновациям

Система менеджмента качества мотивирует компании быть в курсе последних событий с целью улучшения своей деятельности. Это облегчает обнаружение технологий и областей, требующих изменений.

5. Повышение уровня удовлетворенности клиентов

Наличие продвинутой СМК в фармацевтической компании помогает лучше удовлетворить потребности клиентов. Производство продукции, соответствующей всем стандартам, означает предоставление потребителям более качественных лекарственных средств. Удовлетворенность клиентов важна для компаний, так как это приводит к хорошей репутации и увеличению объема продаж [4].

Целью данной работы является изучение системы менеджмента качества зарубежных фармацевтических компаний.

Для этого поставлены следующие задачи:

• обоснование необходимости внедрения СМК на современных фармацевтических предприятиях

• анализ системы менеджмента качества Novartis в соответствии с требованиями надлежащей производственной практики GMP

• изучение политики в области качества Sanofi в соответствии с ICH 10

• анализ производственной документации СМК Novo Nordisk в соответствии с правилами ISO

В современном обществе организации, занимающиеся распределением и хранением материалов и различной продукции, должны отслеживать, внедрять, поддерживать и активно использовать на своём предприятии систему менеджмента качества. Именно это позволяет производить товары и услуги с высоким уровнем качества.

Система менеджмента качества представляет собой набор взаимодействующих элементов, основанных на процедурах, ресурсах и целях, которые применяются для грамотного и оптимального руководства организацией. Она учитывает все применимые директивы и правила, которые предназначены для поддержания ее надежности и функционирования. Некоторые факторы имеют особо важное значение для разработки в организациях СМК. К ним относятся: политика, цели и управление рисками в области качества [5].

Фармацевтический рынок за последние несколько лет претерпел значительные изменения, заставившие компании сосредоточиться на собственных потребностях и эффективности функционирования, что необходимо для поддержания высокой конкурентоспособности в быстроизменяющихся условиях. Таким образом, система управления качеством на фармацевтических предприятиях позволяет выпускать лекарственные средства, которые удовлетворяют всем актуальным требованиям общественного здравоохранения.

При совершенствовании производимой фармацевтической продукции анализу должны подлежать различные области в определении и обеспечении качества лекарственных средств, а также в процессе развития дальнейших стратегий компании. СМК в фармацевтической промышленности помогает разработать эффективный контроль, основанный на производительности и на надлежащем качестве продукции.

Кроме того, продукция, предоставляемая потребителям, должна быть идентифицируемой. Качество товаров должно быть подтверждено инспекцией, и впоследствии они не должны подвергаться каким-либо повреждениям и контаминации.

Очевидно, что контрольные параметры потребуются для обеспечения необходимого уровня уверенности в превосходстве конечного продукта в фармацевтической промышленности. Таким образом, использование систем управления качеством в отрасли гарантирует, что производство поддерживается на уровне, достаточном для выполнения поставленных задач [6].

Обратимся к опыту лидирующих фармацевтических компаний на примере Novartis, Sanofi и Novo Nordinsk. Действующая система менеджмента качества на данных предприятиях позволяет им производить продукцию, которая удовлетворяет всем поставленным требованиям, а также успешно существовать на мировом рынке.

Novartis. Система управления качеством предприятия Novartis представляет собой структурированный и задокументированный подход, описывающий взаимодействие компании с внешними органами здравоохранения (например, управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) в США, Европейским агентством по лекарственным средствам (EMA) в Европе); требования и другие соответствующие стандарты и руководства (например, стандарты ISO для медицинских устройств), помогающие обеспечить качество процессов, продуктов и услуг. СМК построена на принципах, определенных Международным советом по гармонизации технических требований к фармацевтическим препаратам для человека (ICH) и задокументированных в руководстве ICH Q10 Pharmaceutical Quality System. Она обеспечивает систематический и основанный на оценке рисков подход к последовательному и эффективному обеспечению безопасности и качества продукции.

Все операции Novartis, связанные с производством фармацевтической продукции, могут осуществляться только в том случае, если соответствующие внешние органы здравоохранения выдают сертификат Надлежащей производственной практики (GMP). Поэтому для производства и распространения фармацевтической продукции имеются соответствующие лицензии и сертификаты GMP/GxP, выданные соответствующими внешними органами здравоохранения, например, FDA, EMA, ВОЗ и SwissMedic, которые после проверки подтверждают, что обязанности, включая системы управления качеством, соответствуют их строгим нормативным требованиям. Гармонизированные стандарты (например, ICH Q10) обычно принимаются в качестве требований для получения такой сертификации [5, 7, 8].

СМК способствует внедрению инноваций и постоянному совершенствованию промышленности, а также укрепляет связь между разработкой и производством на всех их этапах. Система менеджмента качества включает в себя мониторинг и внедрение отраслевых и нормативных тенденций, периодические проверки процессов и продукции, проверку ключевых показателей, оценку рисков, анализ управления качеством и аудиты. Информация, полученная в ходе этих мероприятий, используется при разработке стратегии и плана по обеспечению надлежащего качества [9].

Системы менеджмента и организации качества компании включают обязанности, описанные в Руководстве по качеству Novartis и основанные на нормативных требованиях FDA, EMA, других международных органов здравоохранения и ICH. Все соответствующие производственные площадки организации (а также их поставщики) должны соответствовать требованиям, описанным в Руководстве по обеспечению качества Novartis.

Организация качества Novartis, возглавляемая руководителем отдела качества, который подчиняется генеральному директору, представляет собой независимую функцию, отвечающую за разработку, внедрение и обслуживание СМК. Она состоит из формальной организации, а также консультативных и иных органов, принимающих решения, и отве-

чает как за обеспечение качества, так и за его контроль во всей компании. Руководитель отдела качества регулярно информирует Исполнительный комитет и Комитет по аудиту и соблюдению нормативных требований Совета директоров.

Чтобы разрабатывать, производить и поставлять фармацевтическую продукцию, Novartis проверяется и сертифицируется соответствующими внешними органами здравоохранения. Это гарантирует соблюдение соответствующих правил и стандартов. Система управления качеством Novartis, описанная в Руководстве, основана на нормативных требованиях международных органов здравоохранения, известных как «GxP».

Правила GxP представляют собой набор руководств по качеству, стандартов и правил, которые гарантируют, что продукция безопасна, эффективна и соответствует своему назначению. К ним относятся, например:

• открытие лекарств: действующая надлежащая лабораторная практика (GLP)
• испытания лекарств: действующая надлежащая клиническая практика (GCP)
• производство: действующая надлежащая производственная практика (GMP)
• распространение: действующая надлежащая практика распространения (GDP)
• хранение: действующая надлежащая практика хранения (GSP) [10]

На этапах разработки и коммерциализации применяются различные разделы GxP, а затем проводится сертификация соответствующими органами здравоохранения. Таким образом, все операции регулярно проверяются на предмет соответствия требованиям GxP и сертифицируются для обеспечения непрерывной поставки лекарственных средств. [11]

Международный совет по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для человека (ICH) объединяет регулирующие органы и фармацевтическую промышленность для обсуждения научных и технических аспектов регистрации лекарственных средств.

ICH стремится достичь большей гармонизации во всем мире, чтобы обеспечить разработку и регистрацию безопасных, эффективных и высококачественных лекарственных средств в соответствии с рекомендациями, основанными на научном консенсусе между регуляторными и отраслевыми экспертами. [12, 13]

ICH Q10 описывает комплексную модель эффективной системы управления качеством для фармацевтической промышленности, именуемую Фармацевтической системой качества. Он обеспечивает основу для:

• создания, внедрения и поддержки системы, способной поставлять высококачественную продукцию.

• разработки и использования эффективной системы мониторинга и контроля эффективности процессов и качества продукции.

• определения и внедрения соответствующих улучшений для последовательного удовлетворения потребностей в качестве.

ICH Q10 демонстрирует поддержку промышленностью и регулирующими органами эффективной фармацевтической СМК для повышения качества и доступности лекарственных средств во всем мире в интересах общественного здравоохранения. Внедрение ICH Q10 на протяжении всего жизненного цикла продукции должно способствовать инновациям и постоянному совершенствованию, а также укреплять связь между фармацевтической разработкой и производством.

Модель основана на концепциях качества Международной организации по стандартизации (ISO) и включает применимые правила надлежащей производственной практики (GMP). Она дополняет руководства ICH Q8 «Разработка фармацевтических препаратов» и ICH Q9 «Управление рисками для качества». Все операции Novartis, связанные с производством фармацевтической продукции, могут осуществляться только в том случае, если соответствующие внешние органы здравоохранения выдают сертификат GMP [14].

Гармонизированные стандарты (например, ICH Q10) обычно принимаются властями в качестве требований для получения такой сертификации. Структура ICH Q10 интегрирована в региональные требования GxP, например, Европейским агентством по лекарственным средствам (EMA) в Европе или Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) в США.

Существует тесная связь между гармонизированными стандартами, юридическими требованиями, установленными властями, и сертификатами, необходимыми для разработки, производства и утверждения продукта для коммерческого использования. [13]

Для производства, поставки и распространения всей фармацевтической продукции Novartis имеются соответствующие лицензии на производство и сертификаты GMP/GxP, выданные соответствующими органами здравоохранения (FDA, EMEA, ВОЗ, SwissMedic). Они подтверждают, что деятельность компании, включая систему управления качеством, соответствует нормативным требованиям.

Sanofi. Стремление к высокому качеству лекарственных средств побуждает Санофи предоставлять безопасную и эффективную продукцию по всему миру, которая разрабатывается, производится, распространяется и продается в соответствии с нормативными требованиями и ценностями компании. [14]

Директор по качеству Санофи несет прямую ответственность перед Главным исполнительным директором за определение политики качества, координацию ее реализации в соответствующих подразделениях и обеспечение соблюдения соответствующих нормативных требований компании. Директор по качеству оперативно подчиняется исполнительному вице-президенту по глобальным промышленным вопросам и является членом основной команды Глобального совета по промышленным вопросам Санофи, Глобального комитета по рискам и Глобального комитета по соблюдению нормативных требований.

Структура и принципы СМК Санофи полностью соответствуют Руководству по качеству ICH Q10 фармацевтической системы качества.

Система менеджмента качества Санофи предназначена для обеспечения того, чтобы продукция компании соответствовала ожиданиям клиентов и другим потребностям общественного здравоохранения в полном соответствии с применимыми правилами GxP (GCP, GDP, GLP, GCLP, GMP, GRP и GVP).

Эта единая система качества, которая применяется ко всем видам продукции Санофи на протяжении всего их жизненного цикла: от исследований до разработки, производства, распространения и прекращения выпуска уже зарекомендовавших себя и инновационных продуктов. Она работает по гибкой и адаптируемой модели, включающей стандарты качества. СМК постоянно развивается, чтобы обеспечить совершенствование и удовлетворить потребности подразделений. [15]

Политика Санофи в области качества, подписанная Полом Хадсоном и Филиппом Джермано, главным исполнительным директором и главным директором по качеству соответственно, определяет основные принципы и дает представление о том, что такое качество продуктов.

На каждом участке, занимающемся исследованиями и разработками, производством и сбытом, и в каждом коммерческом офисе компании Санофи назначается руководитель или менеджер для определения, внедрения, управления и контроля систем управления с целью обеспечения качества продукции. [16]

Novo Nordisk. Фармацевтические препараты производятся в соответствии с Руководством GMP ICH Q10 для активных фармацевтических ингредиентов, самым высоким доступным стандартом. Novo Nordisk действует в соответствии с действующими фармакопеями (например, Ph.Eur., USP/NF, JP, BP и ChP). Фармацевтические субстанции компании используются во многих различных лекарственных препаратах, таких как офтальмологические, назальные спреи, средства для местного применения, оральные, стоматологические средства и медицинские устройства.

Как Novo Nordisk, так и Novo Nordisk Pharmatech регулярно проверяются крупными и мелкими фармацевтическими компаниями и Датским агентством по лекарственным средствам.

Их комплексная документация и услуги включают в себя:

• сертификат ISO 9001 (только для Novo Nordisk Pharmatech)
• сертификат GMP от Датского агентства по лекарственным средствам
• сертификат анализа (текущая версия фармакопеи)
• аудиты клиентов
• заявления (стабильность, остаточные растворители, TSE/BSE, ГМО, аллергены, элементарные примеси и т. д.)
• уведомление об изменении
• ответы на анкеты
• схема процесса
• детали упаковки
• описание системы менеджмента качества [18]

Система управления качеством Novo Nordisk Pharmatech соответствует требованиям стандарта DS/EN ISO 9001 во всех сферах деятельности и включает в себя производство, обеспечение и контроль качества, продажи и маркетинг, исследования и разработки, информацию о доставке и обслуживании потребителей. Высокий уровень продукции обеспечивают эффективные системы обеспечения и контроля качества, осуществляемые высококвалифицированными специалистами. [19]

Сегодня управление качеством посредством разработки, внедрения и совершенствования сертифицированной СМК, представляет собой интегральную процедуру, установленную в соответствии с требованиями стандартов, в которой увязываются технологические, коммерческие, экономические и другие факторы. В мировой практике, как было показано на примере таких успешных компаний как Novartis, Sanofi и Novo Nordinsk, уделяется большое значение построению СМК и соблюдению стандартов GMP, которые определяют требования к производству и контролю качества лекарственных средств. Они направлены на обеспечение высокого уровня качества и безопасности выпускаемых лекарственных препаратов. Правила GMP устанавливают требования к системе управления качеством, контролю качества, персоналу, помещениям и оборудованию, документации, производству продукции и порядку отзыва продукции. Всё это помогает достичь и стабильно поддерживать высокое качество выпускаемой продукции для удовлетворения потребностей и требований потребителей, существенно улучшить и оптимизировать свою деятельность и повысить производительность.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

06.00.00 Экономика и экономические науки
06.81.19 Управление производством

ЛИТЕРАТУРА

1. Халимова А.А., Коваленко А.В., Угольников В.В. Применение концепций эффективного управления производством на фармацевтических предприятиях // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». 2021. Т. 23 N 4. С. 60-67.

2. Макарова Л.В., Тарасов Р.В. Управление качеством продукции промышленных предприятий: монография. Пенза: ПГУАС, 2017. 168 с.

3. Елисеева Н.И., Мешалкина С.Ю. Управление качеством фармацевтической деятельности совместного предприятия // Дальневосточный медицинский журнал. 2012. N 7. С. 8.

4. Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств. Утв. Приказом Министерства промышленности и торговли РФ от 14 июня 2013 г. № 916.

5. Косьмин А.Д., Кузнецова О.П., Синицова Я.С. Проблемы обеспечения населения качественными лекарственными средствами и фармацевтическими субстанциями: монография. Омск: Омский государственный технический университет, 2017.

6. Коптелов А.Е., Пугин В.Б., Шилова Е.Г. Философия качества: монография. Архангельск: САФУ, 2016.

7. Novartis [Электронный ресурс]. URL: https://www.novartis.ru (Дата обращения 25.02.2022)

8. Яковец Ю., Кузык Б., Кушлин В. Прогноз инновационного развития России на период до 2050 г. с учетом мировых тенденций // Инновации. 2005. N 1. С. 42-54.

9. Слепнев Д.А., Иванов А.И. Фармацевтический кластер и особая экономическая зона // Business Partner. Информационноаналитический журнал для предпринимателей. 2017. N 11. С. 39-43.

10. Мельникова Л.С., Федяев Д.В., Герасимова К.В. Инновационные методы лекарственного обеспечения: соглашения о разделении рисков // Злокачественные опухоли. 2016. N 4(20). С. 99-102.

11. Резвых Ю.А., Ковальская Г.Н. Современные подходы к совершенствованию системы обеспечения и контроля качества лекарственных средств на региональном уровне // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2013. Т. 121. N 6. С. 104-106.

12. Значение создания фармацевтической системы качества на предприятиях по выпуску лекарственных средств в контексте построения единого фармацевтического рынка ЕАЭС / В.В. Горячкин [и др.] // Ремедиум. 2018. N 10 С. 33-36.

13. Меркушова Н.И. Оценка результативности интегрированной системы менеджмента // Проблемы современной экономики. 2012. N 1. С. 124-127.

14. Официальны сайт «Sanofi». URL: https://www.sanofi.ru (Дата обращения 25.02.2022)

15. Ивашина М.М., Нацинаева Е.А., Попова Л.Ф. Рискориентированный подход как направление совершенствования системы менеджмента качества промышленных предприятий // Экономический журнал. 2018. N 2(50). С. 28–38.

16. Щетинина М. Грамотное сочетание систем качества по ISO 9000 и GMP в силах обеспечить безопасность продукции и эффективность бизнеса // Фармацевтический вестник. 2005. N 1.

17. Novo Nordinsk. URL: https://www.novonordisk.ru/ (Дата обращения 25.02.2022)

18. Адлер Ю.П. Восемь принципов, которые меняют мир // Стандарты и качество, 2001. N 2.

19. Салимова Т., Ватолкина Н. Современные подходы к категории «качество» в менеджменте// Проблемы теории и практики управления. 2006. N 2.

SUMMARY

STUDY OF THE QUALITY MANAGEMENT SYSTEM BASED ON GMP STANDARDS IN THE FOREIGN PHARMACEUTICAL INDUSTRY

Maslova D.D., master student of 1 year of study
Head: **Kovalenko A.V.**, Ph.D. economy Sciences, Associate Professor
St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University,
197376, St. Petersburg, st. Prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: maslova.darya@pharminnotech.com

The article examines the relevance of introducing a quality management system in the framework of a modern market economy, as well as its features in the production of medicines. In particular, the current QMS based on GMP standards in the foreign pharmaceutical industry was studied.

Keywords: *quality management system, quality standards, risk reduction, cost optimization*

REFERENCES

1. Khalimova A.A., Kovalenko A.V., Ugolnikov V.V. Application of the concepts of effective production management at pharmaceutical enterprises // Medico-pharmaceutical journal «Pulse». 2021. V. 23 N 4. P. 60-67. (in Russian).

2. Makarova L.V., Tarasov R.V. Quality management of products of industrial enterprises : monograph Penza: PGUAS, 2017. 168 p. (in Russian).

3. Eliseeva N.I., Meshalkin S.Yu. Management of the quality of pharmaceutical activity of a joint venture // Far Eastern Medical Journal. 2012. N 7. P. 8. (in Russian).

4. Rules for the organization of production and quality control of medicines. Approved Order of the Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation dated June 14, 2013 N 916. (in Russian).

5. Kosmin A.D., Kuznetsova O. P., Sinitsova Ya. S. Problems of providing the population with high-quality drugs and pharmaceutical substances: monograph. Omsk: Omsk State Technical University, 2017. (in Russian).

6. Koptelov A.E., Pugin V.B., Shilova E.G. Philosophy of quality: monograph. Arkhangelsk: NArFU, 2016. (in Russian).

7. Novartis. [Internet]. URL: https://www.novartis.ru (Accessed: 25.02.2022). (in Russian).

8. Yakovets Yu. Kuzyk B., Kushlin V. Forecast of innovative development of Russia for the period up to 2050 taking into account global trends // Innovations. 2005. N 1. P. 42-54. (in Russian).

9. Slepnev D.A., Ivanov A.I., Pharmaceutical cluster and special economic zone // Business Partner. Information and analytical magazine for entrepreneurs. 2017. N 11. P. 39-43. (in Russian).

10. Melnikova L.S., Fedyaev D.V., Gerasimova K.V. Innovative methods of drug supply: risk-sharing agreements // Malignant tumors. 2016. N 4(20). P. 99-102. (in Russian).

11. Rezvyh Yu.A., Kovalskaya G.N. Modern approaches to improving the system for ensuring and controlling the quality of medicines at the regional level // Siberian Medical Journal (Irkutsk). 2013. V. 121(6). P. 104-106. (in Russian).

12. The importance of creating a pharmaceutical quality system at drug manufacturing enterprises in the context of building a single pharmaceutical market in the EAEU/ V.V. Goryachkin [et al.] // Remedium. 2018. N 10. P. 33–36. (in Russian).

13. Merkushova N.I. Evaluation of the effectiveness of the integrated management system // Problems of modern economy. 2012. N 1. P. 124-127. (in Russian).

14. Sanofi official website. [Internet]. URL: https://www.sanofi.ru (Accessed: 02.25.2022).

15. Ivashina M.M., Natsipaeva E.A., Popova L.F. Risk-oriented approach as a direction for improving the quality management system of industrial enterprises // Economic Journal. 2018. N 2(50). P. 28–38. (in Russian).

16. Shchetinina M. A competent combination of quality systems according to ISO 9000 and GMP is able to ensure product safety and business efficiency // Pharmaceutical Bulletin. 2005. N 1.

17. Novo Nordinsk. [Internet]. URL: https://www.novonordisk.ru/ (Accessed: 02.25.2022). (in Russian).

18. Adler Yu.P. Eight principles that change the world // Standards and quality. 2001. N 2. (in Russian).

19. Salimova T., Vatolkina N. Modern approaches to the category of «quality» in management // Problems of theory and practice of management. 2006. N 2. (in Russian).

УДК 615.12:614.27:658.8:616-053.2(045)

СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ДЛЯ ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ КАМПИЛОБАКТЕРИОЗОМ

Матлашевская Ю.В.[1], студ. 5 курса

Руководитель: **Демченко Д.Д.**[1], к. фарм. н., доц., **Ермоленко К.Д.**[2], к. м. н., н.с.

(ORCID[1]: 0000-0002-8736-3298)

(ORCID[2]: 0000-0002-1730-8576)

[1]Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,

197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, Российская Федерация,

[2]Детский научно-клинический центр инфекционных болезней федерального медико-биологического агентства,

197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.9, Российская Федерация

E-mail: matlashevskaya.yuliya@pharminnotech.com

В работе проведена структурная оценка ассортимента лекарственных препаратов для этиотропной терапии кампилобактериоза. Использованы методы контент-анализа, группировки, агрегирования данных, сравнительного и маркетингового анализа. Информационную базу исследования составили Государственный реестр лекарственных средств (ГРЛС) и инструкции по медицинскому применению препаратов**.** Выявлено, что на территории Российской Федерации, согласно данным ГРЛС зарегистрировано 96 торговых наименований лекарственных препаратов (11 международных непатентованных наименований). Проведенный анализ по странам-производителям лекарственных препаратов демонстрирует, что лидирующие позиции в структуре предложения занимают российские производители (58,84%). Структуризация по лекарственным формам позволяет выделить преобладание таблетированных лекарственных форм (45,81%).

Ключевые слова: *кампилобактериоз, острые кишечные инфекции, этиотропная терапия, анализ ассортимента, фармацевтический рынок, маркетинговое исследование.*

Острые кишечные инфекции (ОКИ) занимают одно из значимых мест в структуре инфекционных заболеваний людей всех возрастов. Одной из наиболее значимых ОКИ как по распространенности, так и по значимости инфекционного процесса является кампилобактериоз [1,2].

В течение последних нескольких лет отмечен устойчивый рост заболеваемости кампилобактериозом населения развитых стран. Также отмечено увеличение частоты регистрации кампилобактериоза у детей первого года жизни [3,4].

Лечение кампилобактериоза в нашей стране основано на проведении комплекса лечебных мероприятий, включающих лечебно-охранительный режим, соблюдение диетических рекомендаций, а также применение комбинированной медикаментозной этиотропной (антибактериальная терапия), патогенетической (назначение пробиотиков, ферментных препаратов, сорбентов) и симптоматической терапии [1-4].

Подходы к этиотропной терапии пациентов с кампилобактериозом отличаются наибольшей сложностью, что обусловлено растущей резистентностью патогена к ряду антибактериальных препаратов и определенными трудностями в своевременной диагностике заболевания [2,4].

В настоящее время на фармацевтическом рынке представлено большое количество торговых наименований лекарственных препаратов, применяемых для этиотропной терапии кампилобактериоза, что определяет необходимость структурного анализа ассортимента [1-6].

Целью работы было проведение структурного анализа российского рынка лекарственных средств, применяемых для этиотропной терапии кампилобактериоза.

Для достижения поставленной цели, были определены следующие задачи: провести структуризацию рынка лекарственных препаратов для этиотропной терапии кампилобактериоза по международному непатентованному наименованию, торговому наименованию лекарственного препарата, фармакотерапевтической группе, странам-производителям, держателям регистрационного удостоверения, возрастным особенностям применения и форме выпуска.

Материалы и методы

В процессе работы использованы методы контент-анализа, агрегирования данных, группировки, структурного, сравнительного и маркетингового анализа. Информационную базу исследования составили данные ГРЛС и инструкции по медицинскому применению лекарственных препаратов.

Экспериментальная часть

В ходе структурного анализа ГРЛС было выявлено, что на фармацевтическом рынке представлено 11 международных непатентованных наименований лекарственных препаратов, применяемых для этиотропной терапии кампилобактериоза. Преобладающими являются азитромицин (29,51%), ципрофлоксацин (19,92%) и офлоксацин (14,33%) (рис. 1).

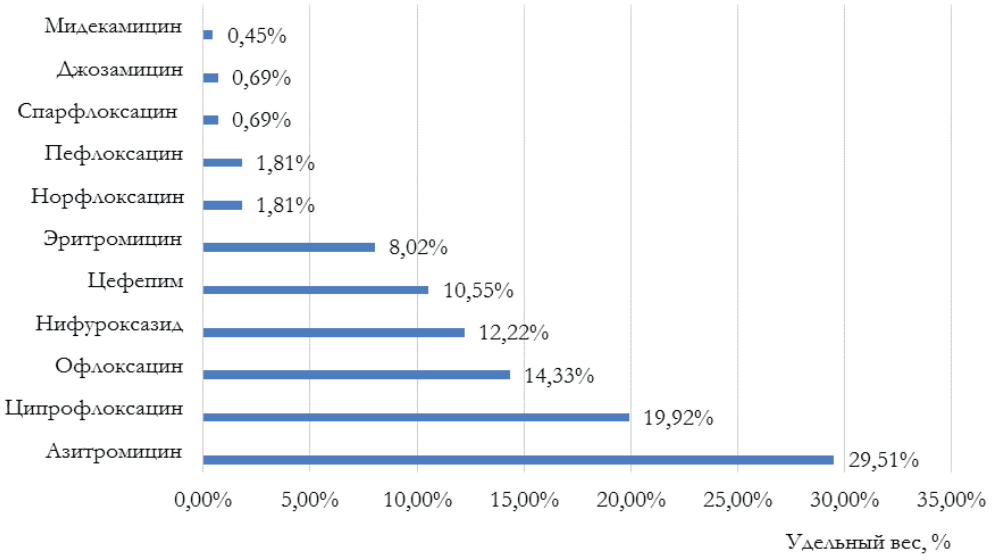


Рисунок 1. Структуризация предложения лекарственных препаратов для терапии кампилобактериоза по международному непатентованному наименованию

В структуре предложения лекарственных препаратов для терапии кампилобактериоза по торговому наименованию выявлено преобладание трех позиций: азитромицин (10,94%), ципрофлоксацин (9,90%) и цефепим (5,21%), иные – 43,26% (рис. 2).

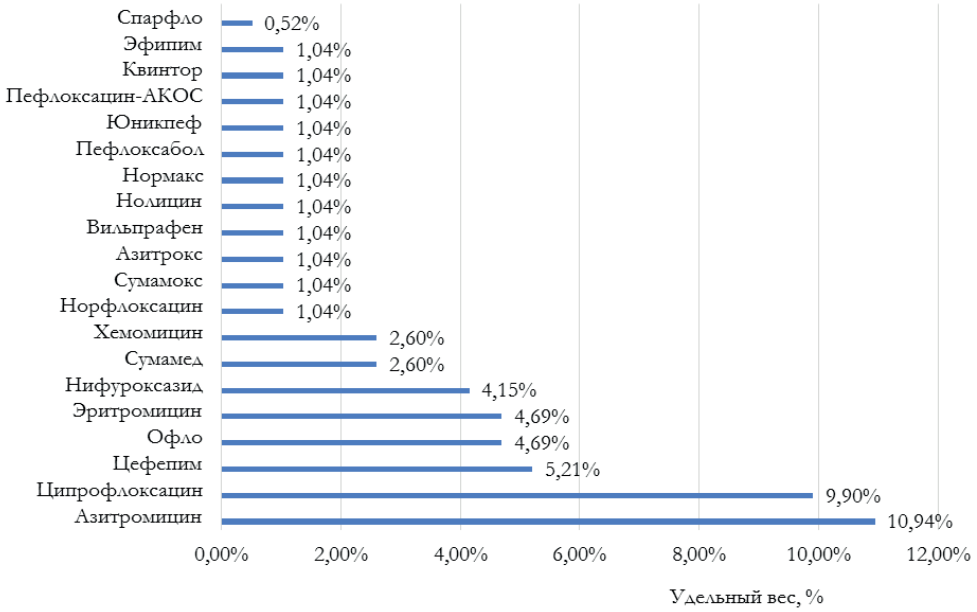


Рисунок 2. Структуризация предложения лекарственных препаратов для терапии кампилобактериоза по торговому наименованию (ТОП-20)

При структурном анализе лекарственных препаратов, предназначенных для фармакотерапии кампилобактериоза по АТХ-классификации, выявлены четыре группы, а именно J01DE – «Цефалоспорины четвертого поколения», составляющие 9,69%, A07AX – «Прочие кишечные противомикробные препараты» – 10,14%, J01FA – «Макролиды» – 36,12%. И J01MA – «Фторхинолоны», охватывающие 44,05% рынка в рамках исследуемой патологии.

Проведенный анализ ГРЛС по странам-производителям продемонстрировал преобладание российских компаний, доля которых составила 58,84%. Среди импортных компаний лидирующую позицию занимает Индия с охватом рынка в 19,60%.

Сегментационный анализ по производственному признаку показал преобладание трех предприятий-производителей. Среди них лидирующие позиции занимают ОАО «Синтез» (6,25%), ООО «Крка РУС» и ООО «Озон» (по 4,17%).

Анализ инструкций по медицинскому применению лекарственных препаратов, продемонстрировал, что 42,29% представленных на отечественном рынке позиций разрешены к использованию с 18 лет.

В ходе структурного анализа препаратов для терапии кампилобактериоза было выявлено преобладание таблетированных лекарственных форм, охватывающих 45,81% анализируемого ассортимента.

В результате структуризации данных, полученных на основании анализа базы данных ГРЛС составлен макроконтур лекарственных препаратов для лечения кампилобактериоза, который представлен преимущественно российскими препаратами (58,84%) производителя ОАО «Синтез» (6,25%). В структуре ассортимента преобладают препараты на основе азитромицина (29,51%), доля торгового наименования азитромицин составляет 10,94%. Отмечено, что значительная часть препаратов представлена в виде таблетированной лекарственной формы (45,81%). В структуре предложения преобладают препараты из фармакотерапевтической группы J01MA – «Фторхинолоны» (44,05%). Основная часть проанализированных лекарственных препаратов (42,29%) разрешена к применению с 18 лет. (рис. 3).

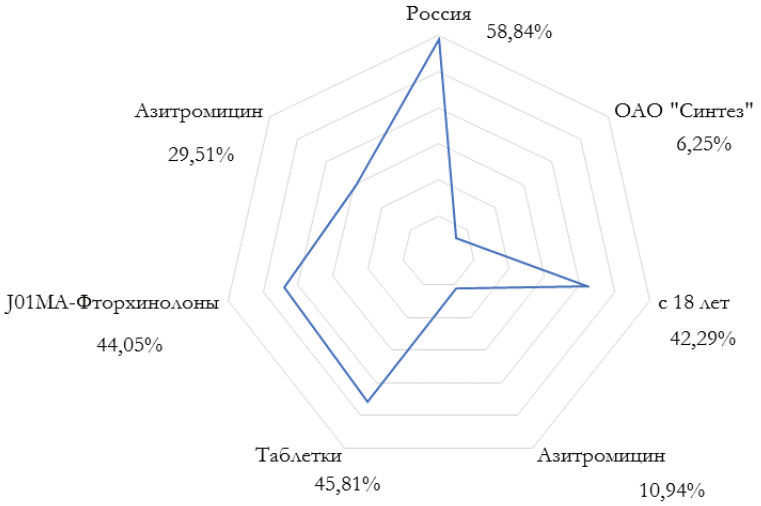


Рисунок 3. Ассортиментный макроконтур фармацевтического рынка лекарственных средств для терапии кампилобактериоза

Заключение

В результате проведенного исследования была выполнена структуризация рынка лекарственных препаратов для этиотропной терапии кампилобактериоза. Полученные данные свидетельствуют о преимущественном заполнении российского фармацевтического рынка противомикробными препаратами для терапии кампилобактериоза из фармакотерапевтической группы J01MA – «Фторхинолоны» (44,05%). Значительная часть ассортиментной матрицы представлена таблетированными формами (45,81%) и разрешена к применению с 18 лет (42,29%). Результаты исследования свидетельствуют, что одним из наиболее сложных вопросов, с которыми сталкивается педиатр при лечении кампилобактериоза у детей, является выбор препарата для этиотропной терапии, что определяет необходимость разработки лекарственных препаратов, применяемых в педиатрической практике.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.75.75. Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фармацевтическая разработка лекарственных препаратов для педиатрической практики: фундаментальные основы и специфические особенности / И.А. Наркевич [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. N 3. С. 194–201.

2. Ермоленко К.Д., Гончар Н.В. Сравнительная оценка эффективности различных схем терапии кампилобактериоза у детей раннего возраста // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. 2021. N 100(5). С. 117–123. DOI: 10.24110/0031-403X-2021-100-5-117-123.

3. Анализ госпитальных закупок противомикробных препаратов системного действия на фармацевтическом рынке Северо-Западного федерального округа / Д.Д. Сиукаева [и др.] // Научные ведомости Белгородского государственного университета. 2018. N 41(4). С. 672–686. DOI: 10.18413/2075-4728- 2018-41-4-672-686.

4. Рациональная терапия кампилобактериоза у детей / К.Д. Ермоленко [и др.] // Фарматека. 2019. N 26(10). С. 40–44. DOI: 10.18565/pharmateca.2019.10.40-44.

5. Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx/ (Дата обращения: 18.02.2021).

6. Регистр лекарственных средств. [Электронный ресурс]. URL: https://www.rlsnet.ru/ (Дата обращения: 18.02.2021).

SUMMARY

ANALYSIS OF THE RANGE OF DRUGS USED FOR ETIOTROPIC THERAPY CAMPYLOBACTERIOSIS IN CHILDREN

Matalchevskaya Y.V., 5th year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: matlashevskaya.yuliya@pharminnotech.com

A structural evaluation of the assortment of drugs for etiotropic treatment of campylobacteriosis was carried out. Methods of content analysis, grouping, data aggregation, comparative and marketing analysis were used. The state drugs registry (GRLS), instructions for medical use of drugs formed the information base of the study. It was revealed that 96 trade names of drugs (11 international nonproprietary names) were registered on the territory of the Russian Federation, according to the GRLS. The analysis by drug manufacturer demonstrates that the leading positions in the supply structure are taken by Russian manufacturers (58.84%). Structuring by dosage forms reveals the predominance of tablet dosage forms (45.81%).

Keywords: *campylobacteriosis, acute intestinal infections, etiotropic therapy, assortment analysis, pharmaceutical market, market research.*

REFERENCES

1. Nemyatykh O.D., Basakina I.I. et al. Pharmaceutical development of drugs for pediatric practice: fundamental bases and specific features / I.A. Narkevich [et al.] // Drug development & registration. 2016. N 3. C. 194-201. (in Russian).

2. Ermolenko K.D., Gonchar N.V. Comparative evaluation of the efficacy of different therapy regimens for campylobacteriosis in young children // Speran Pediatrics. G.N. Speransky. 2021. N 100(5). C. 117–123. DOI: 10.24110/0031-403X-2021-100-5-117-123. (in Russian).

3. Analysis of hospital purchases of antimicrobial drugs in the framework of the pharmaceutical market the north-western federal district / D.D. Siukaeva [et al.] // Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Medicina. Farmaciya. 2018. N 41(4). C. 672-686. DOI: 10.18413/2075-4728- 2018-41-4-672-686 (in Russian).

4. Rational therapy for campylobacteriosis in children / K.D. Ermolenko [и др.] // Pharmateca. 2019. N 26(10). C. 40–44. DOI: 10.18565/pharmateca.2019.10.40-44 (in Russian).

5. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennyh sredstv. [Internet]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx/(Accessed: 18.02.2021). (in Russian).

6. Reestr lekarstvennyh sredstv. [Internet]: https://www.rlsnet.ru/ (Accessed: 18.02.2021). (in Russian).

УДК 61:615.1

ОРГАНИЗАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРТНОЙ ОЦЕНКИ СОСТАВА ЭКСТЕМПОРАЛЬНОЙ САЛИЦИЛОВОЙ МАЗИ С УЧЕТОМ ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ

Мешко А.А., магистрант кафедры фармацевтической технологии
Руководитель: **Тарасова Е.Н.**, доцент, канд. фарм. наук, зав. кафедрой фармацевтической технологии
Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет
210009, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Республика Беларусь
E-mail: aleksandra.meshko@mail.ru

В работе представлены организационно-методические аспекты проведения экспертной оценки по обоснованию состава экстемпоральной салициловой мази с учетом ее применения при различных заболеваниях (псориаз, акне, микозы стоп, онихомикозы, мозоли и омозолелости, жирная себорея, хроническая экзема, бородавки и остроконечные кондиломы). При проведении исследования была разработана анкета, определены критерии выбора экспертов-врачей и проведен опрос. В результате анализа экспертного опроса показано, что целесообразным является подбор мазевой основы для экстемпоральной салициловой мази с учетом ее применения при конкретном заболевании.

Ключевые слова: *анкета, экспертная оценка, лекарственное средство, салициловая мазь, аптечное изготовление, мазевые основы.*

Совершенствование составов, технологии получения лекарственных препаратов является одним из актуальных направлений в фармации. К числу таких лекарственных препаратов относится мазь с салициловой кислотой. Согласно

клиническим протоколам диагностики и лечения пациентов с болезнями кожи и подкожной клетчатки [1], а также данным научной литературы, салициловая мазь назначается для лечения различных заболеваний: псориаз, узелково-кистозное акне, сквамозно-гиперкератотические формы микозов стоп, онихомикозы, мозоли и омозолелости, жирная себорея, хроническая экзема, бородавки и остроконечные кондиломы [2,3].

При этом салициловая мазь в виде монопрепарата не зарегистрирована в Республике Беларусь. Среди экстемпоральных мягких лекарственных форм, применяемых для лечения заболеваний кожи и ее придатков, врачи часто выписывают мази, содержащие в качестве действующего вещества только салициловую кислоту [3]. В качестве основы для ее изготовления, как правило, используют вазелин, который, несмотря на экономическую доступность и другие преимущества, обладает и рядом недостатков [4]. Кроме того, важным вопросом является подбор мазевой основы в зависимости от тяжести и формы дерматологического заболевания и индивидуальных особенностей пациентов.

На первом этапе исследования по подбору основы салициловой мази актуальным было изучить мнение экспертов-врачей, назначающих салициловую мазь для лечения различных дерматологических заболеваний.

Цель исследования – обоснование состава экстемпоральной салициловой мази с учетом ее применения на основании мнения экспертов-врачей.

Задачи:

1. Разработать анкету для экспертов-врачей.
2. Составить критерии отбора экспертов-врачей и шкалу оценки их компетентности.
3. Провести опрос экспертов-врачей.
4. Обработать, проанализировать и обобщить результаты экспертного опроса.

Материалы и методы.

Для реализации поставленной цели использовали метод экспертных оценок (анкетный одноэтапный без непосредственного взаимодействия экспертов).

Количество экспертов (n), согласно статистическому подходу, определяли по формулам (1 – 3) [5]:

$$n = \frac{t_p^2}{\varepsilon^2} \times \sigma^2, \quad (1)$$

$$\frac{\varepsilon}{\sigma} = \varepsilon_1, \quad (2)$$

$$n = \frac{t_p^2}{\varepsilon_1^2}, \quad (3)$$

где t^2_p – показатель достоверности для заданной доверительной вероятности P=0,95;

ε – абсолютная погрешность;

σ – среднее квадратическое отклонение;

ε_1 – задаваемая до начала опроса предельно допустимая ошибка, выраженная в долях среднего квадратического отклонения;

При доверительной вероятности P=0,95 значение t находили по таблице значений функции Лапласа. При t=1,96, ε_1=0,5 необходимое количество экспертов составило 15 (формула 4) [5]:

$$n = \frac{1{,}96^2}{0{,}5^2} = 15 \quad (4)$$

Для обработки результатов экспертного опроса использовали контент-анализ, логлинейный анализ (таблицы сопряженности 2x2).

Результаты и обсуждение.

Для проведения экспертного опроса разработали анкету, которая состояла из двух частей. В первой части экспертам было предложено ответить на вопросы о применении и составе салициловой мази; во второй – о стаже работы по специальности, наличии квалификационной категории, ученой степени.

По вопросу применения экспертам было предложено указать наиболее подходящие основы для салициловой мази при заболеваниях: псориаз, акне, микозы стоп, онихомикозы, мозоли и омозолелости, жирная себорея, хроническая экзема, бородавки и остроконечные кондиломы.

В качестве основ в анкету были включены вазелин (гидрофобная основа, используется для изготовления экстемпоральной салициловой мази), а также комбинация вазелина с ланолином безводным 6:4 (абсорбционная основа), комбинация вазелина с ланолином водным 1:1 (эмульсионная основа типа вода/масло) и эмульсионная основа типа масло/вода.

Предложенные основы имеют разные характеристики, которые могут влиять на применение исследуемого лекарственного средства. Вазелиновая основа стабильна в процессе хранения, химически индифферентна, однако она характеризуется медленным, неполным, непостоянным высвобождением действующих веществ, низкой высыхаемостью и плохой смываемостью. Комбинация вазелина с ланолином безводным также стабильна в процессе хранения, химически индифферентна, однако обеспечивает более высокое высвобождение действующих веществ. Как и вазелин, данная мазевая основа плохо смывается с поверхности кожи, но, в отличие от него, хорошо всасывается кожей и слизистыми оболочками. Комбинация вазелина с ланолином водным обладает смягчающим действием, уменьшает

стягивание кожи, имеет малую вязкость, легко удаляется с поверхности кожи, обладает противовоспалительной активностью и охлаждающим эффектом. Эмульсионная основа типа масло/вода легко высвобождает действующие вещества, обеспечивая их высокую биодоступность, легко удаляется с места нанесения, смывается водой и обладает охлаждающим эффектом.

Анкета включала закрытые и открытые вопросы, в соответствии с которыми опрашиваемые могли предложить свои варианты ответов.

Для отбора группы экспертов учитывали следующие критерии:

- должность, связанная с принятием решения по исследуемому вопросу (врач-специалист, выписывающий экстемпоральные лекарственные средства, в том числе салициловую мазь);
- стаж работы по специальности в области, связанной с предметом исследования;
- наличие ученой степени;
- наличие квалификационной категории.

Для расчета коэффициента компетентности экспертов использовали шкалу, представленную в таблице 1. Коэффициент компетентности (К) рассчитывали по формуле 5:

$$K = \frac{\sum_{i=1}^{14} V_i}{\sum_{i=1}^{14} V_i^{\max}}, \qquad (5)$$

где V_i – численное значение показателя, присвоенное определенному эксперту;
V_i^{max} – максимальное численное значение показателя.

Таблица 1 – Данные, необходимые для расчета коэффициента компетентности экспертов

Показатели	Баллы
Связь занимаемой должности с областью принятия решения по изучаемому вопросу	4
Наличие ученой степени	1
Стаж работы по специальности	
0 – 1 год	1
2 – 5 лет	2
6 – 10 лет	3
11 – 15 лет	4
16 – 20 лет	5
Более 20 лет	6
Квалификационная категория	
Без категории	0
Вторая	1
Первая	2
Высшая	3

В соответствии с указанной шкалой были отобраны 17 экспертов с коэффициентом компетентности ≥0,5.

Коэффициент компетентности 0,9 имели 41% экспертов (7 из 17), 0,8 – 5% (1 из 17), 0,7 – 18% (3 из 17), 0,6 – 18% (3 из 17) и 0,5 – 18% (3 из 17) (рис. 1).

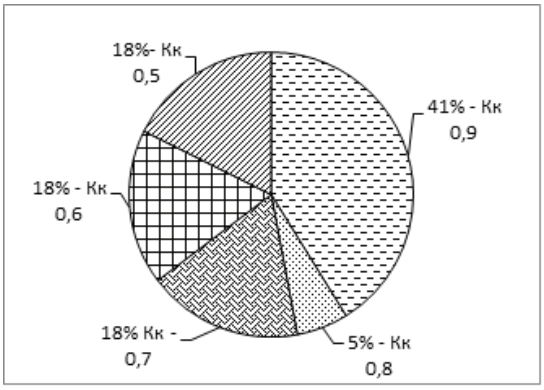


Рисунок 1. Распределение экспертов-врачей по коэффициенту компетентности

Определено, что опрошенные эксперты выписывают салициловую мазь 2%, 3%, 5%, 10% концентрации при различных заболеваниях, но чаще при псориазе, мозолях и омозолелостях, хронической экземе (рис. 2).

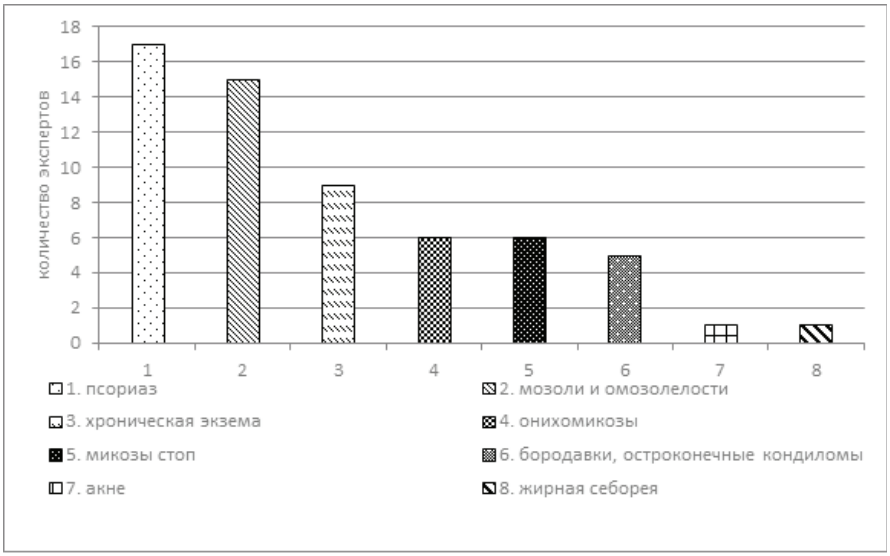


Рисунок 2. Заболевания, при которых эксперты-врачи вписывают экстемпоральную салициловую мазь

Анализ мнений экспертов-врачей по выбору мазевой основы для лечения конкретного заболевания представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Выбор мазевых основ для салициловой мази экспертами-врачами

Заболевание	Мазевая основа			
	вазелин, (количество предпочтений)	вазелин/ланолин безводный (6:4) (количество предпочтений)	вазелин /ланолин (1:1), (количество предпочтений)	эмульсионная масло/вода, (количество предпочтений)
псориаз	17	12	7	2
мозоли и омозолелости	10	8	2	2
онихомикозы	4	2	1	0
микозы стоп	4	2	0	1
бородавки и остроконечные кондиломы	3	3	1	0
хроническая экзема	2	3	13	12
жирная себорея	2	1	3	6
акне	0	0	1	1
Итого	42	31	28	24

В соответствии с полученными данными наиболее подходящими из предложенных экспертами основ для салициловой мази являются:

- при лечении псориаза, мозолей и омозолелостей, онихомикозов, микозов стоп, бородавок и остроконечных кандилом – вазелин и вазелин/ланолин безводный (6:4);

- при хронической экземе, жирной себорее, акне – вазелин /ланолин (1:1) и эмульсионная основа масло/вода.

Наибольшее количество предпочтений по выбору мазевой основы экспертами указано для трех заболеваний, при которых они наиболее часто выписывают экстемпоральную мазь (рис. 3).

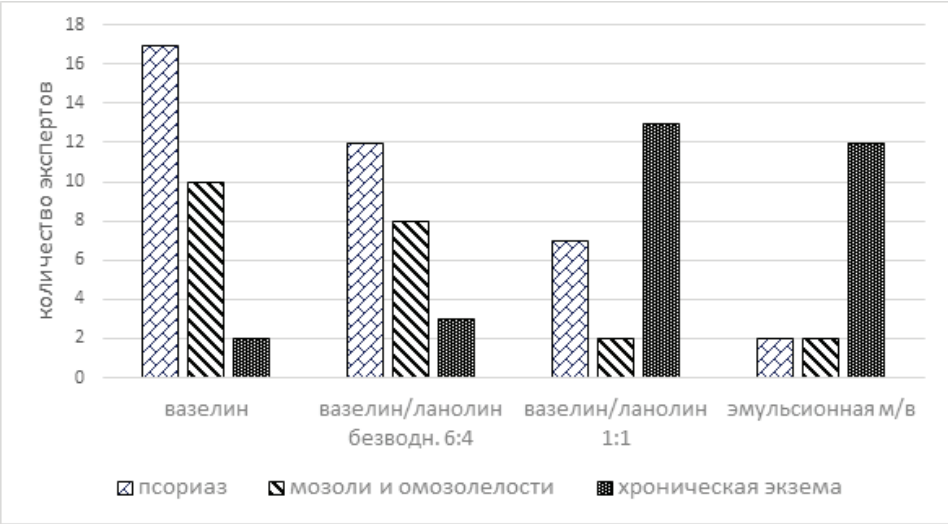


Рисунок 3. Выбор основы для экстемпоральной салициловой мази врачами-экспертами для лечения псориаза, хронической экземы, мозолей и омозолелостей

Исходя из данных таблицы 2, наибольшее количество предпочтений в качестве мазевой основы для экстемпоральной салициловой мази имеет вазелин. Однако при проведении логлинейного анализа (таблиц сопряженности 2х2) не выявили связи между предпочтением вазелина как основы для исследуемого лекарственного средства и конкретным заболеванием (во всех случаях по критерию χ^2 Пирсона и точному критерию Фишера $p>0,05$).

При этом в случае хронической экземы вазелин не подходит в качестве основы для салициловой мази (по точному критерию Фишера $p=0,0001$). Более подходящими основами являются вазелин /ланолин (1:1) и эмульсионная основа масло/вода (по критерию χ^2 Пирсона $p=0,0016$ и $p=0,0009$ соответственно). При жирной себорее – эмульсионная основа масло/вода (по критерию χ^2 Пирсона $p=0,0044$).

При ответе на открытые вопросы анкеты для изготовления салициловой мази эксперты указали основы с использованием глицерина, пропиленгликоля, метилцеллюлозы, ПЭО-400.

По мнению опрошенных, салициловая мазь должна обладать высокой биодоступностью с минимальным риском возникновения нежелательных реакций, а также быть экономически доступной. С учётом использования салициловой мази в детской практике эксперты отметили необходимость назначения салициловой мази с низкой концентрацией действующего вещества.

Заключение.

С целью подбора основы для экстемпоральной салициловой мази применен метод экспертных оценок (анкетный одноэтапный без непосредственного взаимодействия экспертов). Разработана анкета, определены критерии отбора экспертов-врачей и шкала оценки их компетентности, проведен экспертный опрос, рассчитан коэффициент компетентности экспертов.

С учетом мнения экспертов-врачей показано, что целесообразным является использование мазевой основы для экстемпоральной салициловой мази в зависимости от конкретного заболевания.

Метод экспертных оценок оказался эффективным инструментом достижения поставленной цели и проведения исследования, так как позволил обосновать состав экстемпоральной салициловой мази с учетом ее применения наряду с проведением технологических опытов.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Об утверждении некоторых клинических протоколов диагностики и лечения: приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь N 142 от 25.02.2008.

2. Карнаух Э.В., Кошелева Я.Ю. Кератолитики в дерматологии и косметологии // Студенческий научный форум: IV Международная студенческая электронная научная конференция. [Электронный ресурс]. URL: http://rae.ru/forum2012/282/2416. (Дата обращения: 25.02.2022).

3. Мешко А.А. Анализ ассортимента мягких лекарственных форм, содержащих салициловую кислоту // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 73-й научно-практической конференции студентов и молодых учёных. 2021. С. 768-772.

4. Хишова О.М., Бычковская Т.В., Яремчук А.М. Вспомогательные вещества в производстве мазей // Вестник фармации. 2009. N 46(4). С. 97-105.

5. Тарасова Е.Н., Кугач В.В. Консультирование провизорами населения при реализации лекарственных средств без рецепта врача: взгляд медицинских работников // Вестник фармации. 2008. N 2. С. 38-46.

SUMMARY

ORGANIZATIONAL AND METHODOLOGICAL ASPECTS OF CONDUCTING AN EXPERT ASSESSMENT OF THE COMPOSITION OF EXTEMPORAL SALICYLIC OINTMENT, TAKING INTO ACCOUNT ITS APPLICATION

Meshko A.A., Master's degree student of the Department of Pharmaceutical Technology
Supervisor: **Tarasova E.N.**, Associate Professor, Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Head of the Department of Pharmaceutical Technology
Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,
27, Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus

The article presents organizational and methodological aspects of conducting an expert assessment to substantiate the composition of extemporal salicylic ointment, taking into account its use in various diseases (psoriasis, acne, foot mycoses, onychomycosis, calluses and callosities, fatty seborrhea, chronic eczema, warts and genital warts). During the study, a questionnaire was developed, criteria for the selection of expert doctors were determined and a survey was conducted. As a result of the analysis of the expert survey, it is shown that it is advisable to select an ointment base for an extemporal salicylic ointment, taking into account its use in a specific disease.

Keywords: *questionnaire, expert assessment, medicine, salicylic ointment, pharmacy manufacturing, ointment bases.*

REFERENCES

1. On the approval of some clinical protocols for diagnosis and treatment: Order of the Ministry of Health of the Republic of Belarus N 142 dated 25.02.2008. (in Russian)
2. Karnauh E.V., Kosheleva YAYU. Keratolytics in dermatology and cosmetology // Student Scientific Forum: IV International Student Electronic Scientific Conference. [Internet]. URL: http://rae.ru/forum2012/282/2416 . (Accessed: 25.02.2022). (in Russian)
3. Meshko A.A. Analysis of the assortment of soft dosage forms containing salicylic acid // Topical issues of modern medicine and pharmacy : materials of the 73rd scientific and practical conference of students and young scientists. 2021. P. 768-772. (in Russian)
4. Khishova O.M., Bychkovskaya T.V., Yaremchuk A. A. Auxiliary substances by manufacture of medical products // Messenger of Pharmacy. 2009. N 46(4). P. 97-105. (in Russian)
5. Tarasova E. N., Kuhach V. V. Consultation of the population at realization of drugs without the prescription of the doctor by pharmacists: medical workers opinion // Messenger of Pharmacy. 2008. N 2. P. 38-46. (in Russian)

УДК 615.014:616.12-053.2

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ ДЕТЯМ И ПОДРОСТКАМ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Михайлова О.С., аспирант 3 года обучения
Научный руководитель: **Крикова А.В.**, доктор фарм. наук, зав. кафедрой управления и экономики фармации
Смоленский государственный медицинский университет
214019, Смоленск, ул. Крупской, д. 28, Российская Федерация
E-mail: vsegda8marta@rambler.ru

Проведено исследование, направленное на совершенствование фармацевтической помощи детям и подросткам с артериальной гипертензией. В рамках исследования был осуществлен контент-анализ фармацевтического рынка антигипертензивных лекарственных препаратов, проведен анализ врачебных назначений лекарственных средств в стационаре, изучена информированность фармацевтических специалистов, проведен анализ «стоимость болезни» артериальная гипертензия у детей и подростков в амбулаторных условиях.

Ключевые слова: *артериальная гипертензия, дети и подростки, медикаментозное лечение, фармацевтическая помощь.*

Ежегодно от неинфекционных заболеваний (НИЗ) умирает 41 миллион человек, что составляет 71% всех случаев смерти в мире. В структуре смертности от НИЗ наибольшая доля приходится на сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), от которых каждый год умирает 17,9 миллионов человек (World Health Organization., 2018). Заболевания сердечно-сосудистой системы являются основной причиной ранней инвалидности и смерти населения во многих странах. При этом уже сегодня хорошо известно, что истоки многих заболеваний взрослых лежат в детском и подростковом возрасте. Высокая распространённость сердечно-сосудистых заболеваний характерна для всех возрастных групп, в том числе у детей и подростков. Особое место среди ССЗ занимают болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением – артериальная гипертензия (АГ).

В настоящее время в детской и подростковой практике для лечения артериальной гипертензии применяют немедикаментозные и медикаментозные методы. При диагностировании артериальной гипертензии у детей и подростков

лечение начинают с немедикаментозной терапии. При неэффективности немедикаментозной терапии в течении 6 месяцев назначается медикаментозная гипотензивная монотерапия в комплексе с немедикаментозными методами лечения [1]. Следует отметить, что при назначении немедикаментозной терапии у врачей не возникает вопросов. В то время как выбор гипотензивных средств вызывает противоречивые мнения, обусловленные отсутствием у большинства лекарственных препаратов проведённых рандомизированных двойных слепых клинических плацебоконтролируемых исследований, подтверждающих эффективность и безопасность у детей, вследствие чего рекомендации по использованию гипотензивных лекарственных средств в детском возрасте ограничены.

Целью исследования является разработка путей совершенствования фармацевтической помощи детям и подросткам с артериальной гипертензией.

Задачами работы являются:

1. Анализ российского фармацевтического рынка лекарственных препаратов, применяемых у детей и подростков при артериальной гипертензии.

2. Изучить структуру врачебных назначений антигипертензивных препаратов у детей и подростков Смоленской области в условиях стационара.

3. Провести анализ информированности фармацевтических специалистов о лекарственных препаратах, применяемых у детей и подростков с артериальной гипертензией и изучить особенности фармацевтического консультирования.

4. Провести фармакоэкономическое исследование лекарственной помощи детям и подросткам с артериальной гипертензией в амбулаторных условиях.

В качестве медикаментозной гипотензивной монотерапии для лечения артериальной гипертензии у детей и подростков рекомендуется пять фармакологических групп: ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ); блокаторы рецепторов ангиотензина (БРА); бета-адреноблокаторы (бета-АБ); блокаторы кальциевых каналов (БКК); тиазидные диуретики (таблица 1).

Таблица 1 – Структура ассортимента лекарственных препаратов, применяемых для лечения артериальной гипертензии у детей и подростков на основании клинических рекомендаций

Международное непатентованное наименование	Торговое наименование	Комбинированные лекарственные препараты	С одним действующим веществом	Зарубежные лекарственные препараты	Отечественные лекарственные препараты
Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента					
Каптоприл	28 (17%)	2 (7,1%)	26 (92,9%)	8 (28,6%)	20 (71,4%)
Лизиноприл	53 (32%)	20 (37,7%)	33 (62,3%)	33 (62,3%)	20 (37,7 %)
Эналаприл	51 (31%)	19 (37,3%)	32 (62,7%)	22 (43,1%)	29 (56,9%)
Рамиприл	23 (14%)	9 (39,1%)	14 (60,9%)	14 (60,9%)	9 (39,1%)
Фозиноприл	9 (6%)	1 (11,1%)	8 (88,9 %)	3 (33,3%)	6 (66,7%)
Антагонисты ангиотензина II					
Ирбесартан	8 (11%)	3 (37,5%)	5 (62,5%)	6 (75%)	2 (25%)
Кандесартан	14 (19%)	5 (35,7%)	9 (64,3%)	6 (42,9%)	8 (57,1%)
Лозартан	52 (70%)	22 (42,3%)	30 (57,7%)	29 (55,8%)	23 (44,2%)
Бета-адреноблокаторы					
Метопролол	32 (27%)	3 (9,4%)	29 (90,6%)	17 (53,1%)	15(46,9%)
Бисопролол	47 (40%)	11(23,4%)	36 (76,6%)	21 (44,7%)	26 (55,3%)
Атенолол	27 (23%)	4 (14,8%)	23 (85,2%)	14 (51,9%)	13 (48,1%)
Пропранолол	12 (10%)	-	12 (100%)	2 (16,7%)	10 (83,3%)
Блокаторы кальциевых каналов					
Амлодипин	96 (83%)	51 (53,1%)	45 (46,9%)	56 (58,3%)	40 (41,7%)
Фелодипин	5 (4%)	1 (20%)	4 (80%)	3 (60%)	2 (40%)
Нифедипин	14 (12%)	-	14 (100%)	11 (78,6%)	3 (21,4%)
Тиазидные и тиазидоподобные диуретики					
Гидрохлортиазид	98	92 (93,9%)	6 (6,1%)	62 (63,3%)	36 (36,7%)
Хлорталидон	5	4 (80%)	1 (20%)	4 (80%)	1 (20%)
Индапамид	67	23 (34,3%)	44 (65,7%)	27 (40,3%)	40 (59,7%)

Как показало ретроспективное исследование врачебных назначений (рис.1) антигипертензивных препаратов у детей и подростков Смоленской области в условиях стационара на сегодняшний день, ингибиторы АПФ являются препаратами первого выбора при лечении артериальной гипертензии у детей и подростков. Второй по частоте назначения группой лекарственных препаратов при артериальной гипертензии у детей и подростков стали бета-адреноблокаторы. Значительно реже назначались блокаторы рецепторов ангиотензина II, блокаторы кальциевых каналов, диуретики.

Препараты исследуемых фармакологических групп выпускаются в форме таблеток 67 (40,2%); таблеток, покрытых пленочной оболочкой 72(42%); таблеток с пролонгированным высвобождением, покрытых пленочной оболочкой и таблеток пролонгированного действия, покрытых пленочной оболочкой, на которые приходится по 8 (4,8%) торговых наименований; таблеток с контролируемым высвобождением, покрытых пленочной оболочкой 4 (2,4%); капсул с модифицированным высвобождением и таблеток с модифицированным высвобождением покрытых оболочкой по 2(1,2%) торговых наименования.

Рисунок 1. Частота назначения антигипертензивных препаратов по результатам ретроспективного

Препараты изученных фармакологических групп, зарегистрированные на территории РФ, изготавливаются под 641 ТН в 35 странах мира. Доля России в производстве вышеуказанных групп ЛП составляет 303(47%) ТН. Доля зарубежных производителей составляет 338 (53%) ТН. Препараты исследуемых групп выпускаются преимущественно в лекарственной форме таблетки 367 (57%) ТН (рис. 2). Данная лекарственная форма обладает рядом преимуществ: выпускаются в разных дозировках; таблетки с диаметром более 9 мм имеют риску, по которой легко разламываются и могут делиться с достаточной точностью на 2 или 4 приема; имеют длительный срок хранения; возможность маскировать неприятные органолептические свойства лекарственных веществ.

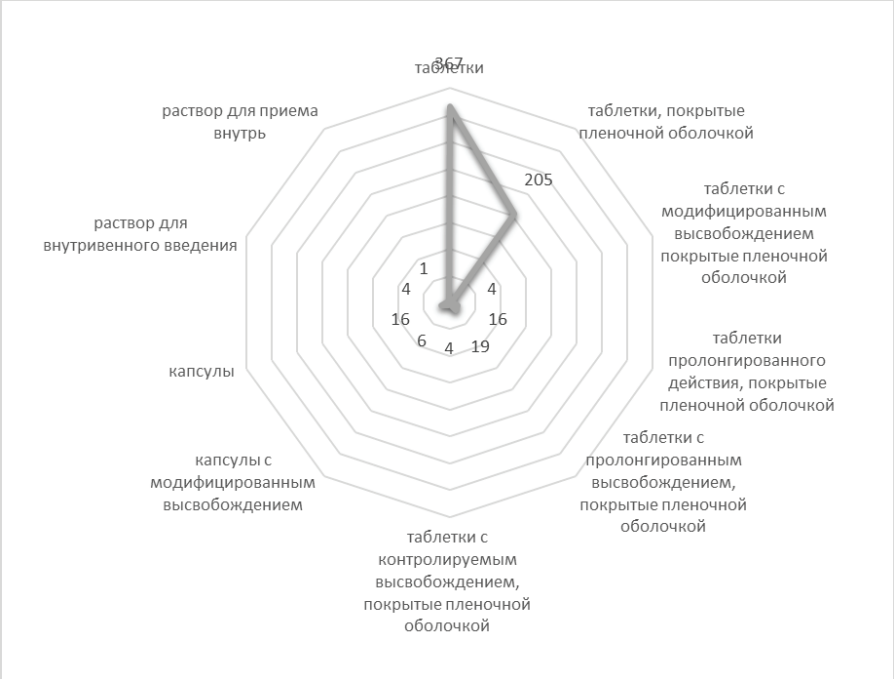


Рисунок 2. Макроконтур ассортимента лекарственных форм препаратов для лечения артериальной гипертензии у детей и подростков

Среди сотрудников аптек города Смоленска было проведено социологическое исследование методом анкетирования с целью оценки их информированности об ассортименте лекарственных препаратов, применяемых у детей и под-

ростков при артериальной гипертензии. Из 59 сотрудников аптек 48 (81,4%) женщин и 11 (18,6%) мужчин. Возраст участников анкетирования распределился следующим образом: к возрастному периоду 20-30 лет отнеслось 26 (44,1%) респондентов, 31-40 лет – 22 (37,2%) респондента, 41-50 лет – 4 (6,8%) респондентов, 51-60 лет – 5 (8,5%) респондентов, старше 61 года – 2 (3,4%) респондентов.

Специалистов с высшим фармацевтическим образованием, принявших участие в анкетировании было 32 (54,2%), специалистов со средним фармацевтическим образованием – 27 (45,8%). При анализе стажа работы в аптечной организации сотрудников по специальности распределилось следующим образом, наибольшее число информантов 23 (39%) имеют стаж до 5 лет, 10 (17%) человек имеют стаж работы от 5 до 10 лет, 20 (33,9%) – от 11 до 20 лет, наименьшее число информантов 6 (10,1%) имеют стаж свыше 30 лет.

При анализе основных источников для получения необходимой информации о лекарственных препаратах, в том числе антигипертензивных, которыми пользуются провизоры и фармацевты, было установлено, что знания они извлекают из инструкций по применению ЛП, справочников (83%); из научных конференций, лекций, вебинаров в рамках непрерывного фармацевтического образования (58%).

Все фармацевтические работники (100%), участвующие в опросе, отметили, что антигипертензивные препараты покупатели приобретают по назначению врача (с предъявлением рецепта) и считают, что назначать данную группу лекарственных препаратов должен только врач.

При самостоятельной оценке степени знакомства фармацевтических работников с группой антигипертензивных средств средний балл респондентов составил 3,8, что свидетельствует о недостаточном уровне знакомства специалистов с данными группами лекарственных препаратов. При этом только 21 (35,6%) респондент верно указал все группы антигипертензивных препаратов, применяемых у детей. Это позволяет сделать вывод о недостаточном уровне знаний ассортимента лекарственных препаратов, применяемых у детей и подростков при артериальной гипертензии и важности дополнительного образования фармацевтических работников по данному направлению.

Таким образом, проведенное нами исследование свидетельствует о недостаточности информированности фармацевтических специалистов по вопросам фармакотерапии артериальной гипертензии у детей и подростков.

В ходе исследования был проведён анализ прямых медицинских и немедицинских затрат при лечении артериальной гипертензии у больных детей и подростков в амбулаторных условиях. При расчёте прямых немедицинских затрат были учтены расходы на немедикаментозную терапию, включающую оптимизацию физической активности. При расчёте прямых медицинских затрат были учтены расходы на: стоимость основной антигипертензивной терапии, стоимость лабораторных и инструментальных методов исследований. Проведение расчёта непрямых затрат в данном исследовании не предполагалось, в связи с чем невозможно оценить стоимость производственных потерь, оплату больничных листов.

На основании полученных данных был проведён анализ «стоимость болезни» артериальная гипертензия у детей и подростков. По результатам проведенного исследования (таблица 2) наиболее дорогостоящей антигипертензивной монотерапией на протяжении 6 месяцев стало лечение лекарственным препаратом из группы ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента с международным непатентованным наименованием – фозиноприл и составило 18578 рублей. Вторым лекарственным препаратом менее дорогостоящим стал ЛП из группы бета-адреноблокаторов – бисопролол и лечение им составило 17718 рублей. Лечение лекарственным препаратом из группы блокаторы рецепторов ангиотензина II с международным непатентованным наименованием – лозартан составило 17664 рубля.

Таблица 2 – Результаты фармакоэкономического анализа «стоимость болезни – артериальная гипертензия» у детей и подростков с учётом рекомендованных схем лечения в амбулаторных условиях.

Торговое наименование, дозировка, количество	Прямые медицинские затраты на методы диагностики	Прямые медицинские затраты на антигипертензивную монотерапию	Прямые немедицинские затраты на немедикаментозную терапию	Всего (руб)
Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента				
Эналаприл 2,5 мг №60	6990	549	9720	17259
Фозиноприл 10 мг №28	6990	1868	9720	18578
Блокаторы рецепторов ангиотензина II				
Лозартан 12,5 мг №30	6990	954	9720	17664
Блокаторы кальциевых каналов				
Амлодипин 5 мг №30	6990	546	9720	17256
Тиазидоподобные диуретики (сульфонамиды)				
Индапамид 2,5 мг №30	6990	581	9720	17291
Бета-адреноблокаторы				
Бисопролол 5 мг №90	6990	1008	9720	17718

Заключение

Особое место, среди заболеваний сердечно-сосудистой системы занимают состояния, характеризующиеся устойчивым повышенным кровяным давлением. Осложнения артериальной гипертензии развиваются постепенно и имеют комплексное воздействие на разные системы органов. В исследовании была рассмотрена структура врачебных назначе-

ний антигипертензивных препаратов у детей и подростков Смоленской области в условиях стационара и на основании полученных данных проведен анализ российского фармацевтического рынка препаратов. Проведенный анализ информированности сотрудников аптек и анализ стоимости болезни позволяют разработать подходы оптимизации фармацевтической помощи детям и подросткам с артериальной гипертензией.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

06.00.00. Экономика. Экономические науки
76.29.47. Педиатрия

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров А.А., Кисляк О.А., Леонтьева И.В. Диагностика, лечение, профилактика артериальной гипертензии у детей и подростков // Системные гипертензии. 2020. Т. 17. N 2. P. 7-35. https://doi.org/10.26442/2075082X.2020.2.200126

SUMMARY

IMPROVEMENT OF PHARMACEUTICAL CARE FOR CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION

Mikhailova O.S., 3st year post-graduate
Academic advise: **Krikova A.V.**, Doctor of Pharmacy, chairholder of management and economics of pharmacy
Smolensk State Medical University
28, Krupskaya St., Smolensk, 214019, Russian Federation
E-mail: vsegda8marta@rambler.ru

A study was conducted aimed at improving pharmaceutical care for children and adolescents with arterial hypertension. As part of the study, a content analysis of the pharmaceutical market of antihypertensive drugs was carried out, an analysis of medical prescriptions of drugs in a hospital was carried out, the awareness of pharmaceutical specialists was studied, and an analysis of the «cost of the disease» of arterial hypertension in children and adolescents on an outpatient basis was carried out.

Keywords: *arterial hypertension, children and adolescents, drug treatment, pharmaceutical care.*

REFERENCES

1. Alexandrov A.A., Kislyak O.A., Leontieva I.V. on behalf of the experts. Clinical guidelines. Diagnosis, treatment, prevention of arterial hypertension in children and adolescents // Systemic hypertension. 2020. Vol. 17(2) P. 7-35. (in Russian) https://doi.org/10.26442/2075082X.2020.2.200126

УДК 339.13:615.322(045)

МНОГОВЕКТОРНАЯ ОЦЕНКА РЫНОЧНОГО СЕГМЕНТА, СФОРМИРОВАННОГО ПЕРЕЧНЕМ ПОТЕНЦИАЛЬНО-ЦЕЛЕВЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ (НА ПРИМЕРЕ РЕСПУБЛИКИ КРЫМ)

Мишустина Л.А., студ. 5 курса, **Романенко А.**, студ. 5 курса, **Скрипникова Д.В.**, студ. 5 курса
Руководитель: **Басакина И.И.**, канд. фарм. наук, доцент (ORCID: ID: 0000-0003-3190-7193)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: mishustina.lyudmila@pharminnotech.com

Цель работы – анализ динамики развития рыночного сегмента, сформированного перечнем потенциально-целевых растительных объектов семейств Asteraceae, Malvaceae, Urticaceae, Plantaginaceae, Caprifoliaceae, Solanaceae, Lamiaceae, культивируемых в Республике Крым. Проанализирована структура предложения, реализована сравнительная оценка объемов продаж, выявлены тенденции развития сегмента. Полученные результаты показали, что обозначенные растительные объекты формируют динамичный сегмент российского фармацевтического рынка, а также рынков парфюмерно-косметических средств, продуктов химической и пищевой промышленности, развитие которых обусловлено высокими показателями рыночной привлекательности.

Ключевые слова: *маркетинговые исследования, фармацевтический рынок, лекарственное растительное сырье, фитопрепараты.*

На сегодняшний день расширение рынка растительных лекарственных препаратов является важным направлением развития современного фармацевтического рынка. Обладая уникальными свойствами, препараты на основе растительного сырья нашли широкое применение в качестве компонента комплексного лечения заболеваний и как сред-

ства первичной и вторичной профилактики и остаются популярными, несмотря на огромный выбор синтетических средств. Фитопрепараты, в отличие от синтетических лекарств, оказывают мягкое умеренное воздействие на организм, имеют меньше побочных реакций, обладают низкой токсичностью, сравнительно безопасны и при этом являются высокоэффективными, так как обладают высокой биологической активностью. Важно отметить, что фитопрепараты не вызывают привыкания, обладают более высокой биодоступностью благодаря родству веществ растений человеческому организму [1, 2].

В настоящее время фитопрепараты составляют около 20% от общего числа зарегистрированных на отечественном рынке лекарственных препаратов, а динамика продаж демонстрирует стабильный прирост в денежном выражении. В 2020 г. аптечные продажи растительных лекарственных препаратов и растительных БАД составили 435,4 млн упаковок (51,3 млрд рублей в оптовых ценах). По данным отчета DSM Group за 2021 год коммерческий рынок БАД вырос на 11,8% в рублях по сравнению с 2020, что составляет 80,9 млрд руб, а в натуральном выражении емкость рынка за год сократилась на 0,4% (до 311,4 млн. упак.). Исследования целесообразности культивирования лекарственного растительного сырья для производства конкурентных импортозамещающих фитопрепаратов и БАД являются актуальными в период реализации стратегии лекарственного обеспечения населения на период до 2025 г, учитывая итоги 2021 года, которые показывают рост доли продаж импортных производителей биодобавок до 23,7% в натуральном выражении и до 52,1% в стоимостном в сравнении с 2020 годом [3].

Спрос на лекарственные препараты растительного происхождения формируется чаще всего исходя из уровня заболеваемости, а также зависит от уровня дохода населения и частоты встречаемости препаратов в клинических рекомендациях. В настоящее время интерес фарминдустрии к лекарственным растениям остается на довольно высоком уровне. При этом в аптечной рознице фитопрепараты оцениваются как высокомаржинальная категория товаров. Последнее, в свою очередь, обуславливает высокий спрос производителей на лекарственное растительное сырье.

Учитывая вышеизложенное, целью данной работы послужил анализ динамики развития рыночного сегмента, сформированного перечнем потенциальных растительных объектов семейств Asteraceae, Malvaceae, Urticaceae, Plantaginaceae, Caprifoliaceae, Solanaceae, Lamiaceae, культивируемых в Республике Крым. Уникальные климатические условия Крыма позволяют выращивать ценнейшие лекарственные растения в промышленных объемах, которые позволяют обеспечить сырьем предприятия ряда отраслей промышленности России, в том числе фармацевтические. Кроме того переработка и практическое использования натурального растительного сырья имеет большой экспортный потенциал.

Для достижения данной цели были решены следующие задачи: анализ структуры предложения, проведение маркетинговой оценки динамики спроса на лекарственные препараты и биологически активные добавки на основе лекарственного растительного сырья, дифференцирование, сравнение объемов продаж, выявление тенденций анализируемого сегмента, построение графо-аналитических зависимостей.

Материалы и методы

Рыночная оценка проводилась в разрезе сегмента таких потенциальных растительных объектов как алтей лекарственный; душица; крапива; мята перечная; пустырник; подорожник; ромашка аптечная; тысячелистник; шалфей лекарственный; календула; эхинацея пурпурная; девясил высокий; полынь горькая; валериана лекарственная; белладонна лекарственная; мелисса лекарственная.

Анализ структуры предложения лекарственных препаратов анализируемого сегмента проводился с использованием информационной базы данных Государственного реестра лекарственных средств (ГРЛС) по состоянию на 01 ноября 2021 года [4].

Информационную базу исследования структуры предложения биологически активных добавок, косметических средств, товаров бытовой химии и средств, применяемых в пищевой промышленности, в рамках анализируемого сегмента лекарственных культур, составили данные Единого реестра свидетельств о государственной регистрации Евразийской Экономической Комиссии по состоянию на 01 декабря 2021 г [5].

В работе использовались методы контент-анализа, агрегирования данных и сравнительного анализа с учетом торговых наименований, форм выпуска, области применения, стран и наименований производителей.

Анализ объемов продаж на российском фармацевтическом рынке проводился в динамике с использованием баз данных аналитических компаний DSM Group (за период 2017-2021 гг) и ALPHARM (за период 2018-2020 гг) по ключевым структурным параметрам, характеризующим аптечный ассортимент. Оценивались показатели: объем продаж, соотношение продаж импортной и отечественной продукции, формы выпуска продукции, средняя цена по регионам, а также привлекательность рынка для компаний [3, 6].

Результаты и обсуждение

По данным Государственного реестра лекарственных средств в Российской Федерации зарегистрировано 29 торговых наименований лекарственных препаратов растительных культур алтея лекарственного, 13 – душицы, 20 – крапивы, 71 – мяты перечной, 41 – пустырника, 21 – подорожника, 18 – ромашки аптечной, 16 – тысячелистника обыкновенного, 8 – шалфея лекарственного, 32 – календулы лекарственной, 16 – эхинацеи пурпурной, 6 – девясила высокого, 9 – полыни горькой, 45 – валерианы лекарственной, 24 – белладонны лекарственной, 16 – мелиссы лекарственной.

Установлено, что анализируемая группа представлена многообразием форм выпуска (рис. 1).

Рисунок 1. Структуризация предложения лекарственных препаратов мяты перечной по формам выпуска

Следует отметить, что анализируемый сегмент представлен преимущественно препаратами российских производителей, что говорит о высоком интересе со стороны отечественной промышленности. Так, например, данные Государственного реестра лекарственных средств демонстрируют, что выпуск лекарственных препаратов на основе корневищ и корней валерианы лекарственной обеспечивают 32 компании-производителя, из которых большую долю занимаю отечественные. Среди иностранных компаний можно выделить белорусских производителей – РУП «Белмедпрепараты» и ОАО «БЗМП» (доли которых на рынке составляют по 2,22% каждая), а также «Алвоген Фарма Трейдинг Юроп ЕООД» (страна-производитель Болгария) с долей 4,44% (рис. 2).

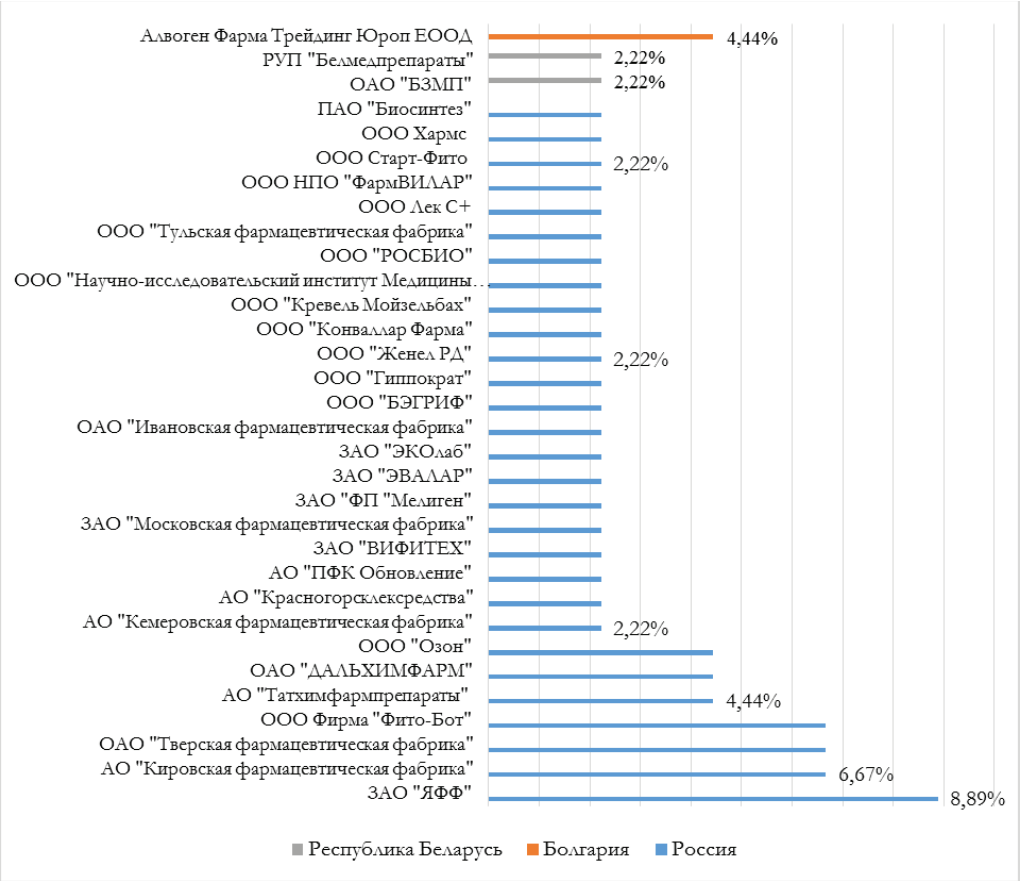


Рисунок 2. Структуризация ассортимента лекарственных препаратов на основе корневищ и корней валерианы лекарственной по компаниям-производителям

Анализ данных Единого реестра свидетельств о государственной регистрации Евразийской Экономической Комиссии показал, что на сегодняшний день рынок Российской Федерации представлен широким ассортиментом продукции в составе которых используется анализируемое сырье. Например, количество продукции при производстве которой используется сырье крапивы представлено 1352 наименованиями. При это следует обозначить, что исследуемый ассортимент представлен БАД (73,9%), косметическими средствами (23,3%), продукцией для применения в пищевой промыш-

ленности (2,7%) и товарами бытовой химии (0,1%). Существенный вклад в структуру предложения вносит Российская Федерация, формируя 57% ассортимента, однако наблюдается высокая доля присутствия товаров зарубежных производителей в отличие от ассортимента лекарственных препаратов.

Анализ динамики объемов продаж демонстрирует стабильное потребление лекарственных препаратов изучаемой группы с преобладанием сегмента отечественных препаратов, что отражается на графике объемов продаж лекарственных препаратов мяты перечной в стоимостном выражении (рис. 3). Динамика потребления лекарственных препаратов календулы в стоимостном выражении указывает на увеличение анализируемого показателя в период 2019-2021 г. В 2021 году по отношению к 2020 году прирост объема продаж в стоимостном выражении составил + 19,9% (рис. 4).

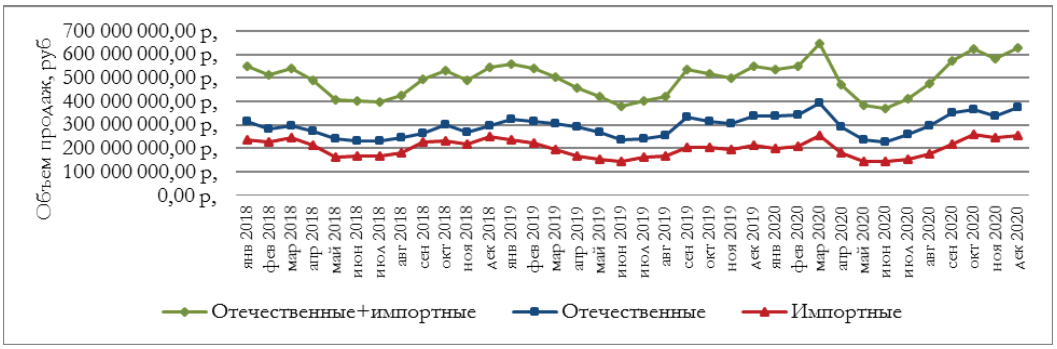


Рисунок 3. Динамика аптечных продаж лекарственных препаратов мяты перечной (в розничных ценах), 2018-2020 гг. Источник: ALPHARM

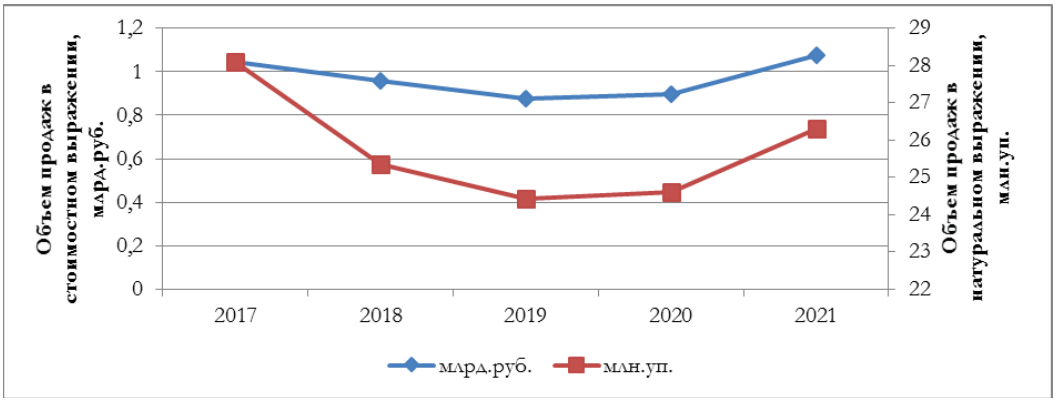


Рисунок 4. Динамика аптечных продаж лекарственных препаратов календулы (в оптовых ценах). Источник: DSM Group

Проведенный анализ ценовой политики показал, что средняя цена на лекарственные препараты в течение анализируемого периода изменялась не значительно, однако обращает на себя внимание тот факт, что цена предложения иностранных компаний значительно выше, а на примере лекарственных препаратов мяты перечной практически в 3 раза выше российских (рис. 5).

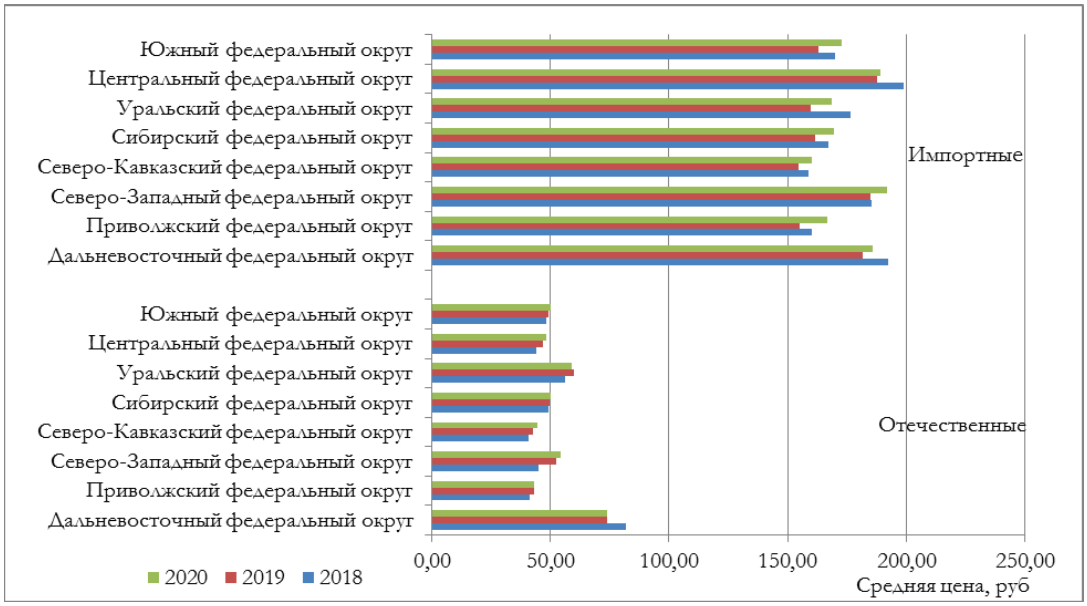


Рисунок 5. Динамика средней цены лекарственных препаратов мяты перечной, в 2018-2020 гг. по регионам. Источник: ALPHARM

Заключение

Таким образом, реализованная в рамках работы многовекторная оценка рыночного сегмента, сформированного перечнем потенциально-целевых растительных объектов Республики Крым показала высокую востребованность анализируемого сегмента лекарственных растений. Многообразие форм выпуска, широкий охват области применения и компаний-производителей, нуждающихся в сырье, высокие показатели объемов продаж и положительная динамика темпов роста демонстрируют перспективность изученных растительных объектов для всех субъектов фармацевтического рынка и рынков смежных областей, в т.ч. в косметической, химической и пищевой промышленности, что в свою очередь определяет актуальность дальнейшего развития отрасли производства, переработки и практического использования лекарственного растительного сырья.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.31.31 Фармакогнозия

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Акамова А.В., Немятых О.Д., Наркевич И.А. Многовекторный маркетинговый анализ российского рынка фитопрепаратов // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. N 4(21). С. 276-280.

2. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т.В. Самбукова [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2017. Т. 15. N 2. С. 56-63. DOI 10.17816/RCF15256-63.

3. База данных аналитической компании ДСМ Групп. [Электронный ресурс]. URL: https://dsmviewer.ru/

4. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx

5. Единый реестр свидетельств о государственной регистрации Евразийской Экономической Комиссии. [Электронный ресурс]. URL: https://portal.eaeunion.org

6. Аналитическая оболочка баз данных АЛЬФАРМ. [Электронный ресурс]. URL: https://clients.alpharm.ru/report/retail

SUMMARY

MULTI-VECTOR ASSESSMENT OF THE MARKET SEGMENT FORMED BY THE LIST OF POTENTIAL TARGET PLANT OBJECTS (EVIDENCE FROM REPUBLIC OF CRIMEA)

Mishustina L.A., 5th year student, **Romanenko A.**, 5th year student, S**kripnikovaD.V**., 5th year student,
Supervisor: **Basakina I.I.,** Candidate of pharmaceutical Sciences, Associate Professor
ORCID: ID: 0000-0003-3190-7193
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation

The work objective is to analyze the dynamics of the market segment development formed by the list of potentially target plant objects families Asteraceae, Malvaceae, Urticaceae, Plantaginaceae, Caprifoliaceae, Solanaceae, Lamiaceae cultivated in the Republic of Crimea. The structure of demand, comparative assessment volumes of sales were analyzed. The trends in the development of the segment were identified. Obtained results showed that indicated plant objects form a dynamic segment of the Russian pharmaceutical market, as well as the markets of perfumery and cosmetics, chemical and food industry products, the development of which is due to high market attractiveness.

Keywords: *marketing research, pharmaceutical market, herbal substances, phytopreparations.*

REFERENCES:

1. Akamova A.V., Nemyatykh O.D., Narkevich I.A. Multiple view marketing analysis of the russian plant-based drugs market // Drug development & registration. 2017. N 4(21) P. 276-280. (in Russian).

2. Prospects for phytopreparations (botanicals) use in modern pharmacology / TV Sambukova [et al.] // Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. 2017. Vol. 15(2). P. 56-63. (in Russian). DOI: 10.17816/RCF15256-63

3. The analytical company DSM Group database [Internet]. URL: https://dsmviewer.ru/ (in Russian).

4. State Register of Medicines [Internet]. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx (in Russian).

5. Common Register of State Registration Certificates. [Internet]. URL: https://portal.eaeunion.org (in Russian).

6. The analytical company ALPHARM database [Internet]. URL: https://clients.alpharm.ru/report/retail (in Russian).

УДК 339.13

СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ РОССИЙСКОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ И ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Нестерова Д.И., студ. 4 курса
Научный руководитель: **Орлов А.С.**, канд. фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой экономики и управления
(ORCID: 0000-0002-1467-6234)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: darya.nesterova@spcpu.ru

Приведены результаты структурного анализа продаж на российском фармацевтическом рынке препаратов для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей. Представлена динамика изменения долей различных подгрупп препаратов печени в соответствии с анатомо-терапевтическо-химической классификацией (АТХ-классификацией) и классификацией по механизму действия. Установлено, что для данного сегмента рынка характерны существенные структурные сдвиги, что делает актуальным проведение данного анализа для фармацевтических компаний, присутствующих на этом рынке.

Ключевые слова: *российский фармацевтический рынок, препараты для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей, АТХ-классификация, классификация гепатопротекторов по механизму действия, структурный анализ, индекс Рябцева.*

Заболевания печени и желчевыводящих путей широко распространены среди населения Российской Федерации и являются одними из ведущих по причинам смерти наряду с заболеваниями системы кровообращения, злокачественными новообразованиями, заболеваниями органов пищеварения и дыхания. По данным на 2020 год число смертей от болезней печени составляет 2,4% от общего числа. Из них 70,5% приходится на фиброз и цирроз печени, 20,3% на алкогольную болезнь печени и 9,2% на другие болезни [1]. Также в последние годы возрастает количество впервые выявленных у пациентов заболеваний печени и желчевыводящих путей [2]. На сегодняшний день изучению рынка препаратов для лечения заболеваний печени уделяется мало внимания, поэтому недостаточно данных о его состоянии.

Целью данного исследования является структурный анализ российского фармацевтического рынка препаратов для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей. Среди задач исследования можно выделить анализ долевых показателей продаж различных подгрупп препаратов для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей в соответствии с АТХ-классификацией и классификацией по механизму действия, а также оценку структурных сдвигов в данном сегменте российского фармацевтического рынка и установление причин, которыми обусловлены данные изменения.

Исследование базировалось на данных аудита розничных продаж и госпитальных закупок, а также аудита льготного лекарственного обеспечения в сегменте российского фармацевтического рынка в 2012-2020 гг., предоставленных исследовательской компанией DSM Group [3].

Методы исследования включают в себя индексный, логический и сравнительный анализ, а также компьютерную обработку данных.

В рамках данного исследования были рассмотрены АТХ-классификация и классификация по механизму действия препаратов.

В соответствии с наиболее широко используемой классификацией препаратов (АТХ-классификацией) анализируемые препараты делятся на группы «A05 Препараты для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей» и «A16 Другие препараты для лечения заболеваний ЖКТ и нарушений обмена веществ». В свою очередь препараты группы A05 подразделяются на следующие три подгруппы:

1) A05A Препараты для лечения заболеваний желчевыводящих путей (Аллохол, Одестон, Урсосан).

2) A05B Препараты для лечения заболеваний печени (Гепатосан, Резалют, Фосфоглив).

3) A05C Комбинация препаратов для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей (Эссенциале, Фосфонциале).

По механизму действия гепатопротекторы разделяются на следующие группы:

1) Препараты растительного происхождения. В эту группу входят препараты, содержащие естественные или полусинтетические алкалоиды расторопши (Легалон, Карсил, Фосфонциале) и препараты, содержащие другие естественные или полусинтетические алкалоиды (Хофитол, Лив-52). Такие препараты обладают достаточной эффективностью и часто используются в комплексе с препаратами других групп.

2) Препараты животного происхождения (Прогепар, Гепатосан). Данную группу представляют препараты, полученные из печени свиней и крупного рогатого скота. В последнее время эти препараты не имеют широкого применения в медицине.

3) Препараты, содержащие эссенциальные фосфолипиды (ЭФЛ) (**Эссенциале, Резалют, Фосфоглив)**. Фосфолипиды являются важным компонентом липидного слоя любой клетки, обладают антиоксидантными свойствами, защищают печень от действия свободных радикалов и восстанавливают ее поврежденные клетки.

4) Препараты с преимущественно детоксицирующим действием (Ремаксол, Метадоксин). Данные препараты способны уменьшать явление токсемии, развивающейся при печеночно-клеточной недостаточности.

5) Препараты разных групп (Липоевая кислота, Урсодезоксихолевая кислота) [4].

В ходе исследования проводился анализ изменения структуры продаж в данном сегменте российского фармацевтического рынка в соответствии с каждой классификацией в период с 2012 по 2020 гг.

Для качественной оценки изменения структуры потребления использовался индекс Рябцева, который рассчитывался для препаратов каждой группы. Индекс Рябцева подходит для этой цели, поскольку является обобщенным показателем. Индекс принимает значения от 0 до 1, и его преимущество перед прочими обобщенными показателями заключается в простоте расчета и наличии шкалы значений для оценки уровня структурных сдвигов [5].

Формула для расчета индекса Рябцева:

$$I_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(d_{i_{2012}} - d_{i_{2020}})^2}{\sum_{i=1}^{n}(d_{i_{2012}} + d_{i_{2020}})^2}},$$

где: $d_{i_{2012}}$ – доля i-го препарата в группе в натуральном выражении в 2012 году;
$d_{i_{2020}}$ – доля i-го препарата в группе в натуральном выражении в 2020 году.

Шкала оценки интенсивности структурных изменений представлена ниже в таблице.

Таблица – Шкала оценки интенсивности структурных изменений

Интервал значений индекса Рябцева	Характеристика меры структурных различий
0,000 – 0,030	Тождественность структур
0,031 – 0,070	Весьма низкий уровень различия структур
0,071 – 0,150	Низкий уровень различия структур
0,151 – 0,300	Существенный уровень различия структур
0,301 – 0,500	Значительный уровень различия структур
0,501 – 0,700	Весьма значительный уровень различий структур
0,701 – 0,900	Противоположный тип структур
0,901 и выше	Полная противоположность структур

Значение индекса Рябцева для всего российского фармацевтического рынка гепатопротекторов показало, что структурные изменения в данном сегменте находятся на значительном уровне [5].

Доли групп препаратов по АТХ-классификации в натуральном выражении в период с 2012 по 2020 годы показаны на рисунке 1.

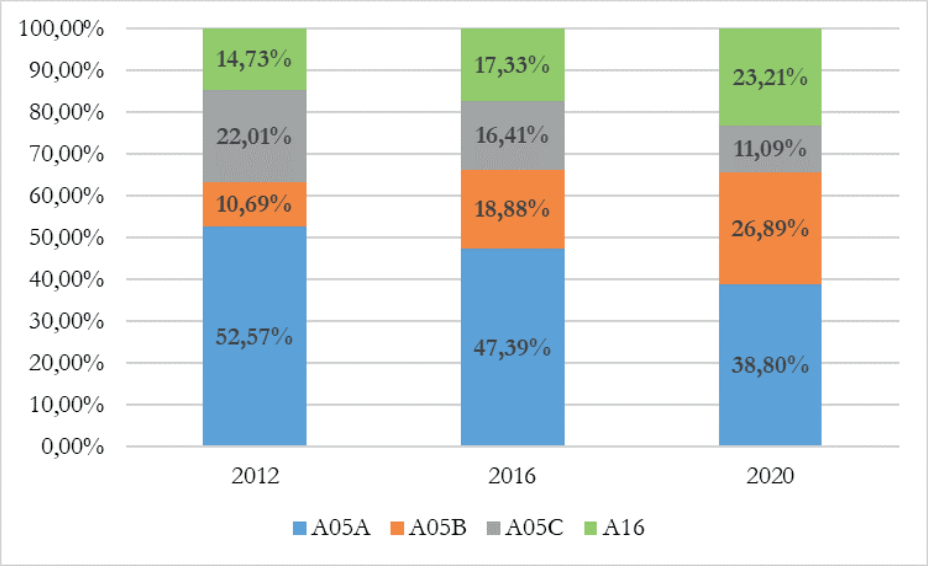


Рисунок 1. Динамика изменения структуры продаж в натуральном выражении на российском рынке гепатопротекторов, относящихся к различным подгруппам АТХ-классификации, в 2012-2020 гг.

Согласно шкале значений индекса Рябцева, структурные изменения в группах A05A и A16 находятся на среднем уровне, в группе A05B они значительны, а в группе A05C низкие. Из рис. 1 видно, что существенные изменения долей произошли у всех групп препаратов. Доля группы A05A уменьшилась, что обусловлено снижением потребления препарата Аллохол за рассматриваемый период времени на 7,7 млн упаковок в год, скомпенсировать которое не смогло даже значительное увеличение продаж препаратов Хофитол, Урсосан и Одестон. За счет увеличения продаж препаратов Фосфоглив и Карсил на 4,5 и 3,8 млн упаковок в год соответственно возросла доля группы A05B. Доля группы A05C уменьшилась, так как снизились продажи препаратов Эсслиевер и Эссенциале на 2,6 и 2,5 млн упаковок в год. Также про-

изошло увеличение доли группы А16 за счет появления на рынке за исследуемый период большого количества новых препаратов, продажи которых за 2020 год в сумме составили 1,4 млн упаковок, а также увеличения потребления препаратов Гептрал, Октолипен и Гептор на 1,3, 0,9 и 0,8 млн упаковок в год соответственно.

Структурные изменения в группах препаратов растительного происхождения и препаратов с преимущественно детоксицирующим действием характеризуются как средние, для препаратов, содержащих ЭФЛ, изменения значительны, в группе препаратов животного происхождения они практически отсутствуют, а наиболее существенные структурные сдвиги произошли в группе препаратов разных групп.

Доли групп препаратов классификации по механизму действия в натуральном выражении в период с 2012 по 2020 годы показаны на рисунке 2.

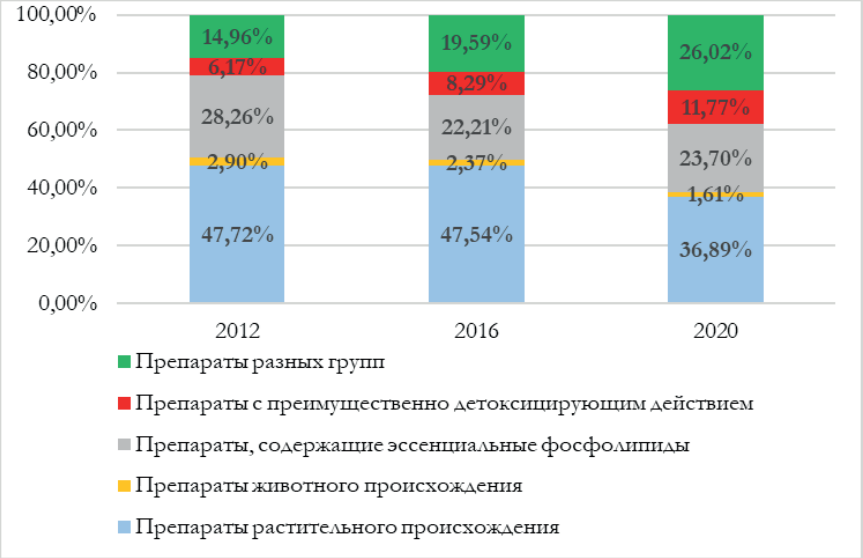


Рисунок 2. Динамика изменения структуры продаж в натуральном выражении на российском рынке гепатопротекторов, относящихся к различным подгруппам классификации по механизму действия, в 2012-2020 гг.

Из рис. 2 видно, что доля растительных препаратов заметно уменьшилась, поскольку уменьшились продажи подавляющего большинства препаратов данной группы, и несмотря на увеличение продаж препаратов Карсил и Хофитол на 3,8 и 1,4 млн упаковок в год соответственно, суммарные продажи растительных препаратов в 2020 году по сравнению с 2012 годом уменьшились на 3,3 млн упаковок. Препараты животного происхождения также потребляются значительно меньше, что отражает общую тенденцию к снижению использования подобных средств в медицине. Доля препаратов, содержащих ЭФЛ, уменьшилась незначительно. Увеличение продаж препарата Фосфоглив почти в полном объеме скомпенсировало уменьшение продаж препаратов Эссенциале и Эсслиевер, однако суммарные продажи данной группы уменьшились на 930 тыс. упаковок в год.

Препараты с преимущественно детоксицирующим действием увеличили свою долю на рынке, поскольку возрастает потребление абсолютного большинства препаратов этой группы. Наибольший вклад внесло увеличение продаж препаратов Гептрал, Ремаксол и Гептор, потребление которых в 2020 году по сравнению с 2012 годом возросло на 1,3, 0,8 и 0,8 млн упаковок соответственно. Наблюдается тенденция к учащению применения данных препаратов пациентами и стремительному развитию данного сегмента рынка гепатопротекторов.

Доля препаратов разных групп также заметно увеличилась за счет появления на рынке 46 новых наименований, что также обуславливает существенные структурные сдвиги. Кроме того, следует отметить, что потребление препаратов этой группы преимущественно возрастает. Разработке и производству препаратов разных групп уделяется особое внимание, использование новых технологий и актуальные медицинские исследования позволяют создавать инновационные препараты с высокой эффективностью и безопасностью для пациента.

Таким образом, по результатам исследования установлено, что на российском фармацевтическом рынке препаратов для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей в 2012-2020 гг. произошли существенные структурные изменения, которые наблюдаются при рассмотрении динамики продаж групп препаратов как по АТХ-классификации, так и по классификации по механизму действия. Это свидетельствует о том, что производителям данных лекарственных препаратов следует уделять повышенное внимание своей маркетинговой стратегии и изучению рынка, чтобы глубже понимать происходящие на нем процессы. Проведение более подробного анализа структурных изменений является обязательным условием получения информации, необходимой для принятия взвешенных и обоснованных управленческих решений, касающихся продуктовой стратегии компании.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.01.11 Современное состояние и перспективы развития
76.01.14 Коммерческие вопросы, маркетинг, конъюнктура, реклама в медицине и здравоохранении
76.01.73 Медицинская статистика

ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральная служба государственной статистики [Электронный ресурс]. URL: https://rosstat.gov.ru/folder/12781 (Дата обращения: 15.01.2022).
2. Статистические материалы Министерства здравоохранения Российской Федерации [Электронный ресурс]. URL: https://minzdrav.gov.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/statisticheskie-i-informatsionnye-materialy/statisticheskie-materialy (Дата обращения: 15.01.2022).
3. Маркетинговое агентство DSM Group. [Электронный ресурс]. URL: https://dsm.ru/ (Дата обращения: 15.11.2021).
4. Бусалаева Е.И., Тарасова Л.В., Матвеева Т.С. Гепатопротекторы в клинической практике // Здравоохранение Чувашии, 2015. N 2. С. 56–64. [Электронный ресурс]. URL: https://zdravch.ru/2020/11/23/gepatoprotektory-v-klinicheskoj-praktike-algoritm-vybora/ (Дата обращения: 04.03.2022).
5. Елхина И.А. Структурные сдвиги и структурные различия хозяйственных систем в России // Вестник Саратовского государственного социально-экономического университета. 2014. N 4(53).

SUMMARY

STRUCTURAL ANALYSIS OF THE RUSSIAN PHARMACEUTICAL MARKET OF DRUGS FOR THE TREATMENT OF LIVER AND BILARY TRACT DISEASES

Nesterova D.I., 4th year student
Academic advise: **Orlov A.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, chairholder of Economics and Management (ORCID: 0000-0002-1467-6234)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: darya.nesterova@spcpu.ru

The results of a structural analysis of sales in the Russian pharmaceutical market of drugs for the treatment of diseases of the liver and biliary tract are presented. The dynamics of changes in the proportions of various subgroups of liver preparations is presented in accordance with the anatomical-therapeutic-chemical classification (ATC-classification) and classification according to the mechanism of action. It has been established that this market segment is characterized by significant structural shifts, which makes this analysis relevant for pharmaceutical companies present in this market.

Keywords: *Russian pharmaceutical market, drugs for the treatment of diseases of the liver and biliary tract, ATC-classification, classification of hepatoprotectors according to the mechanism of action, structural analysis, Ryabtsev index.*

REFERENCES

1. Federal State Statistics Service. [Internet]. URL: https://rosstat.gov.ru/folder/12781 (Accessed: 15.01.2022). (in Russian)
2. Statistical materials of the Ministry of Health of the Russian Federation. [Internet]. URL: https://minzdrav.gov.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/statisticheskie-i-informatsionnye-materialy/statisticheskie-materialy (Accessed: 15.01.2022). (in Russian)
3. Marketing agency DSM Group. [Internet]. URL: https://dsm.ru/ (Accessed: 15.11.2021). (in Russian)
4. Busalaeva E.I., Tarasova L.V., Matveeva, T.S. Hepatoprotectors in clinical practice. Selection algorithm // Journal Health of Chuvashia. 2015. N 2. P. 56–64. [Internet]. URL: https://zdravch.ru/2020/11/23/gepatoprotektory-v-klinicheskoj-praktike-algoritm-vybora/ (Accessed: 04.03.2022). (in Russian)
5. Elkhina I.A. Structural shifts and structural differences of economic systems in Russia // Bulletin of the Saratov State Socio-Economic University. 2014. N 4(53). (in Russian)

УДК 504.5

РИСКИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА: ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Нурзай С.Н., студ. 4 курса
Руководитель: **Сушкова М.С.**, старший преподаватель
Алтайский государственный медицинский университет
656038, Барнаул, Ленина пр., д.40, Российская Федерация
E-mail: idklax@gmail.com

В статье приведены данные анализа основных рисков, возникающие на фармацевтических производствах; а также анализа проекта нововведенной политики по Московской области и действующих нормативных актов, регулирующих обращение отходов фармацевтических производств в Российской Федерации. Выявленные недочеты свидетельствуют о недостаточности государственного регулирования в исследуемой сфере и требуют доработки на законодательном

уровне. Изучены научные подходы, касающиеся проблемы переработки лекарственных отходов и предложены методы по усовершенствованию регулирования обращения с отходами.

Ключевые слова: *отходы фармацевтических производств, фармацевтическая экология, обращение с отходами, экологическое законодательство, экологические риски.*

Изготовление лекарственных средств – сложный, многоступенчатый процесс, имеющий свои особенности на каждой стадии и операции, которые отличают его от других производств своей точностью и требовательностью к качеству и безопасности продукции. Как и для любого производства, риски для фармацевтических предприятий являются одной из важных составляющих, и представляют из себя общие риски любой отрасли и риски, характерные исключительно для сферы фармацевтического производства.

Целью работы являлся выделение и анализ основных рисков фармацевтических производств, выявление возможных недочетов и предложение мер по их исправлению.

Задачи исследования. Проанализировать нормативную документацию и открытые литературные источники, выявить основные виды рисков на фармацевтических предприятиях и определить роль экологических рисков, их влияние на окружающую среду.

В ходе исследования проведен контент-анализ литературных источников, анализ нормативно-правовых актов, данных отчетов из открытых источников.

Основные ошибки на фармацевтических предприятиях возникают по следующим причинам: ошибки рабочего персонала, некачественный исходный материал, несоответствие/выведение из строя технологического оборудования, несоответствие предприятия требованиям правил надлежащей производственной практики (GMP)

Исходя из этих причин риски фармпроизводств могут быть разделены на следующие категории:

1) Экономические риски,
2) Производственно-технологические риски,
3) Микробиологические риски,
4) Политические риски,
5) Риски обеспечения и контроля качества, в т.ч. фармакологические,
6) Экологические риски;

Нельзя исключать также и влияние данных рисков друг на друга и их тесную взаимосвязь, определяющих дальнейшее существование и функционирование целого предприятия. [3; 13; 17]

В наше время большая часть из существующих на фармацевтических предприятиях рисков минимизируется за счет постоянного повышения квалификации персонала, усовершенствования и модернизации технологий и оборудования, детализации документации, действующей на предприятии и анализа изготавливаемой продукции от приобретения и поступления сырья до целевого продукта. Но по мере повышения спроса на фармацевтическую продукцию и, соответственно, по мере повышения уровня ее производства, возрастает степень влияния экологических рисков производства на человека и окружающую среду. А значит возрастает значимость грамотного управления экологическими рисками.

На всех этапах производства лекарственных препаратов присутствуют критические точки, на момент достижения которых возникает опасность воздействия на производственный персонал и среду.

Так, на стадии подготовки исходного сырья выделяют растительное, минеральное и химическое сырье, неправильное хранение которого может приводить к выделению веществ в рабочую среду (пыль), а на стадии непосредственного изготовления критическими будут операции от измельчения до получения готовой лекарственной формы, также критическими будут стадии введения вспомогательных веществ, используемых при производстве. На заключительных стадиях производства опасность представляют собой не только продукт, но и материалы для упаковки. Хранение готовой продукции, дистрибьюция и степень оснащенности технологиями для переработки отходов также являются параметрами, определяющими влияние данного производства на экологию.

Основные пути загрязнения окружающей среды фармацевтическими производствами:

- сточные воды от предприятий,
- выщелачивание мест захоронения отходов и проникновение в почву,
- несовершенство технологических процессов (неэффективное очистка воздуха от пыли, выделение аэрозолей в воздух),
- использование химически активных веществ для дезактивации (хлор).

Таблица – Основные группы ЛС, обнаруживающиеся в сточных водах

Группа ЛС	Наименование ЛС	Фактическое содержание в неочищенных сточных водах, мг/дм3	Фактическое содержание в очищенных сточных водах, мг/дм3	Фактическое содержание в поверхностных водах, мг/дм3	Фактическое содержание в почве, мг/дм3
Антибактериальные	Кларитромицин	50-950	100	ниже предела количественного определения	300 – 1000
	Эритромицин	100-500	250	26	
	Сульфаметоклсазол	400	300	3	

Группа ЛС	Наименование ЛС	Фактическое содержание в неочищенных сточных водах, мг/дм3	Фактическое содержание в очищенных сточных водах, мг/дм3	Фактическое содержание в поверхностных водах, мг/дм3	Фактическое содержание в почве, мг/дм3
Нестероидные противовоспалительные	Парацетамол	1400	ниже предела количественного определения	2	нет данных
	Ибупрофен	40-800	175	11	
	Диклофенак	200-500	134	6	
Противоэпилептические	Карбамазепин	500-1500	1187	227	нет данных
Бета-адреноблокаторы	Атенолол	42	277	ниже предела количественного определения	нет данных
	Метопролол	250-1000	842	25	
	Пропранолол	0-200	нет данных	нет данных	

Как видно, несмотря на требования GMP и существующее многообразие методов очистки используемой на фармацевтических производствах воды, значимые концентрации лекарственных веществ обнаруживаются даже в очищенных пробах. Большую опасность представляют неочищенные сточные воды от фармацевтических производств, в которых преимущественно находятся противомикробные препараты (антибиотики широкого спектра действия: ципрофлоксацин, офлоксацин и др.) [4], а также нестероидные противовоспалительные препараты (дротаверин, диклофенак натрия, ибупрофен) [6-8; 16].

Антибактериальные препараты обнаруживаются также и в почвах за счет микробиологической стабильности [2].

При своевременном управлении экологическими рисками попадание используемых лекарственных веществ в окружающую среду и влияние их на компоненты среды можно было бы значительно снизить при использовании различных методов по обращению.

На сегодняшний день фармацевтические производства в РФ не имеют детализированной системы по обращению с отходами, которая регулировалась бы конкретным перечнем нормативной документации и каждая организация, осуществляющая вышеперечисленные виды деятельности, должна бы разработать собственную программу по сбору, хранению, вывозу и утилизации отходов в соответствии с перечнями классов отходов в зависимости от их опасности.

Единственной законодательной инициативой в области регулирования обращения с отходами за последнее время стал опубликованный в 2020 году проект закона «О проведении эксперимента по организации и осуществлению централизованного обращения с медицинскими и биологическими отходами в Московской области (далее – МО) и о внесении изменений в отдельные законодательные акты РФ». Он предусматривает внедрение дополнительных мер по защите здоровья граждан и обеспечению экологической безопасности, а также формирование централизованной системы обращения с медицинскими и биологическими отходами по МО; создание высокотехнологичной инфраструктуры для обращения с отходами.

Основные задачи проекта: разработка и принятие нового комплекса законов, касающихся обращения с отходами в МО, апробация новой системы обращения с отходами производств и оценка ее эффективности.

Направлениями регулирования в данном проекте стали:

1. Утверждение правил коммерческого учета отходов в МО, формирование нормативов по накоплению отходов;

2. Утверждение тарифов на оказание услуг по обращению с отходами. Тарифное регулирование данной деятельности не осуществляется. Как следствие, отсутствует источник инвестиций для создания современной высокотехнологичной и безопасной отрасли по утилизации медицинских и биологических отходов. В связи с этим, возникают экологические и эпидемиологические риски в местах их утилизации и размещения;

3. Утверждение порядка разработки и корректировки инвестиционной программы, которая включает в себя показатель эффективность программы, а также ее контроля;

4. Устанавливаются требования к обращению с отходами: публичный договор по оказанию услуг с региональным оператором; принятие мер по созданию инфраструктуры; допуск юридических и физических лиц, а также индивидуальных предпринимателей к осуществлению деятельности по обращению с отходами; установление единой классификации отходов согласно ФЗ №323; составление территориальной карты отходов с данными об операторе и его деятельности. [12, с. 4-30]

Проанализировав пункты проводимого проекта, можно найти много недочетов, касающихся более полной детализации каждого этапа внедрения эксперимента, а именно:

1) Нехватка информации о том, на какой документации базируется отходообращение;

2) Какие вещества и технологические инструменты должны использоваться для дезактивации и утилизации;

3) Какие меры будут предприняты в отношении компаний, не соблюдающих правила по обращению;

4) Возможные методы регулирования взаимодействия в звене «государство-организация-региональный» оператор;

5) Не рассматривается возможность создания и внедрения программ по переработке вторсырья.

Большое количество вопросов в данной сфере заставляет обратиться к законодательной нормативной документации для того, чтобы найти возможные методы по устранению недочетов на уровне государства.

При анализе нормативных документов, имеющих законную силу в РФ, были выявлены несоответствия:

1) ни один из существующих документов не дает точного понятия отходов медицинского производства и потребления

2) медицинские отходы выведены из сферы отходов производства, и положение о лицензировании этой деятельности на них не распространяется. При этом, согласно проекту закона о централизованном обращении с медицинскими отходами, деятельно по сбору, транспортировке, обработке и утилизации должны лицензироваться для отходов классов I-IV опасности [11 с. 3-10; 18]

3) нет однозначных критериев, по которым можно было бы классифицировать все медицинские и фармацевтические отходы; [15]

4) указано, что обязательные требования к обращению с отходами с мед/фарм деятельности должны быть соблюдены на всех предприятиях в зависимости от установленной правилами классификации отходов по классу опасности. [15] Но многие высокотехнологические производства (иммунологические, генные, биологические, взрывоопасные препараты) не вписываются в существующие классификации, в связи с чем, применение к ним описанных требований неэффективно;

5) указанная нормативная документация не регулирует такие детали обращения с медицинскими отходами, как: особенности хранения отходов в зависимости от их агрегатного состояния, физико-химических свойств; возможность частичного обезвреживания используемой отходной продукции непосредственно на предприятиях, либо в вспомогательных помещениях; возможность перехода на экологическое потребление отходов – политика внедрения вторсырья;

6) большинство актов не регулируют сферу обращения с отходами в полной мере. Так, не уточняется перечень средств, которые можно использовать для одномоментной дезактивации медицинских отходов класса «Г» [11-12; 15;18]

7) политика, установленная проектом закона на законодательном уровне могла бы увеличить масштабы эксперимента, что значительно увеличило бы данные о результативности мероприятия, способствовало выделению недочетов и преимуществ по обращению с отходами в разных регионах а при утверждении в нормативной документации на основе полученных результатов на уровне государства могла бы улучшить регулирование утилизации отходов. [12]

Результаты. Таким образом, можно сделать вывод, что сфера регулирования обращения с медицинскими отходами, а именно отходами фармацевтической промышленности, несовершенна и не может в настоящее время в полной мере решить проблемы утилизации данного типа отходов.

Для более безопасного в экологическом плане и разумного обращения с фарм. отходами могут быть поставлены следующие задачи: детальная проработка законодательных актов, основанная на токсикологических, физико-химических характеристиках производимых веществ и отходов.

Некоторые из методов, которые можно предложить для усовершенствования системы обращения с фармацевтическими отходами в РФ, являются:

1. Применение зарубежных практик по внедрению отдельного понятия «фармацевтические отходы» [5,9, 20 с. 2-26];

2. Введение фармацевтических отходов в существующие классификации, либо разработка отдельной классификации отходов фармацевтических отходов;

3. Разработка программ по переработке растительных отходов производства [9];

4. Развитие фармацевтической отрасли в области исследований по внедрению химических реагентов-дезактиваторов и утилизаторов лекарственных препаратов [1, 6-7, 16].

В наши дни основой системы управления отходами является «концепция управления отходами и принципы устойчивого развития». Согласно положениям этой концепции, которые входят в стратегии ЕС по управлению отходами и законодательно закреплены Рамочной директивной 2008/98/ЕС «Об отходах и отмене ряда директив», выделяется 7 основных принципов, применяемых в ЕС в области обращения с отходами:

1. Использование «иерархии отходов». Приоритетное решение – предотвращение образования отходов, наименее востребованное – размещение на специальных полигонах и захоронение. Внедрение этой системы в РФ позволит вернуть/разработать новую, усовершенствованную классификацию фарм. отходов (т.к. иерархия подразумевает качественный и количественный учет отходов). Вещества, используемые на производстве, при использовании иерархии также можно будет ранжировать по виду переработки и степени вовлеченности в циклическое производство (прим. шроты лекарственного растительного сырья)

2. Достаточность производственных мощностей и усовершенствование методик производства, технологической аппаратуры. На многих предприятиях в РФ используются отечественные машины, имеющие низкий показатель КПД и характеризующиеся большим выходом отходов. Усовершенствование системы производства в данном случае вопрос не только экологического, но и финансового характера.

3. Методика приближенности производственных мощностей для утилизации отходов к источникам их образования. Систему можно считать технологически исполнимой в случае, если будут проведены достаточные научные разработки и внедрена классификация отходов, которые, например, не могут быть переработаны в черте городов (где часто и расположены фарм. производства). Здесь встает вопрос о разработке специальных полигонов/зданий для переработки потенциально опасных отходов.

4. Проведение превентивных мероприятий. С целью предотвращения нанесения ущерба среде и здоровью человека, персонал предприятия обязан использовать все возможности для устранения рисков. Такие правила регулируются GMP (ГОСТ Р 52249-2009).

5. Штрафная система «загрязнитель платит». Устанавливается физическая и финансовая ответственность производителя за жизненный цикл средства. Утилизация и переработка продукции также остается на производителе, что должно мотивировать его разрабатывать менее продукты, либо подвергаемые переработке.

6. Культурная переориентация. Косвенно затронута в GMP и может быть реализуема с точки зрения производств. Постоянное повышение квалификации в области экологической безопасности производства должно базироваться на доказанных исследованиях – вновь затрагивается вопрос о повышении научных разработок. [10]

7. Некоторые методики строго регулируют способы утилизации тех или иных веществ, с точностью до целых указывая температуру, время, типы и виды фильтров, скорость используемого воздуха и типы выделяемых газов. Такие условия ставятся только при условии должного уровня исследования данного типа отхода и его происхождения. Подобная специфика распространяется только на ту страну, в которой она разработана. Так, US EPA не будет эффективна в ЕС, так как нормативы различных выбросов в атмосферу будут иметь другие значения. В РФ также должны быть регламентированы собственные нормативы выбросов, значения которых собраны с максимального количества производств и полигонов переработки. [14]

8. Отдельно от европейских методик, после иерархии отходов можно рассмотреть повышение активности в области научных исследований, т.к. в нашей стране эта сфера активно развивается и приносит свои плоды. Немало исследований на эту тему сделаны в последние 5 лет [1,9]. Но это вопрос уже и финансовой стороны, т.к. исследования должны иметь возможность получать большее спонсирование и простор для работы с возможностью интерпретации результатов и их рассмотрении как потенциально эффективных на более высоких уровнях, помимо научных журналов.

Одна из международных лидирующих фармацевтических компаний, имеющая дочерние производства и в России, одним из своих приоритетных направлений выделяет экологическую ответственность, ограничивает воздействие деятельности группы на окружающую среду. Так, на производстве отмечается повторное использование (рециклизация), а также преобразование энергии примерно от 60-70% всех выделяемых отходов, что привело к закрытию полигонов на 59% производственных точек; контроль сточных вод ведется как на водоочистных сооружениях компании, так и на муниципальных. Компания также ведет тесные работы с научно-исследовательскими институтами для оптимизации производств, участвует в сборе неиспользованных лекарств. [19]

Заключение. В результате исследования выявлены основные виды рисков, возникающих на фармацевтических производствах, и определено влияние экологических рисков на окружающую среду. Обобщая полученные данные можно прийти к заключению, что вопрос регулирования отходов фармацевтических производств стоит остро и требует многогранного подхода и многоступенчатого пути решения. Государство должно иметь большое количество сведений о ведении производства фарм. продукции и о том, где, как, и какими методами осуществляется переработка и/или утилизация отходов, и на основе этих данных базировать различные методы по разрешению проблемы, начиная от проработки соответствующей терминологии и заканчивая изменением подходов к непосредственному производству фарм. продуктов. Должен вестись строгий контроль за движением исходных веществ, полу- и готовых продуктов, ведение документации и её составление для базирования на ней всех видов производств. Многоуровневый подход, базирующийся на уже имеющихся разработках и усовершенствованный под российские условия, может обеспечить качество производства и снижение влияние на окружающую среду.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

87.00.00 Охрана окружающей среды. Экология человека

87.17.15 Источники загрязнения атмосферы. Контроль загрязнения

ЛИТЕРАТУРА

1. Авсейко М.В., Яранцева Н.Д. Химический способ утилизации фармацевтических отходов группы ингибиторов АПФ // Вестник Витебского ГМУ. 2021. Т. 20. N 1. С. 99-110.

2. Экологические последствия загрязнения почв антибиотиками / Ю.В. Акименко [и др.] // Известия Самарского научного центра РАН. 2013. Т. 15. N 3. С. 1196-1199.

3. Габидова А.Э., Галынкин В.А. Анализ рисков в производстве лекарственных препаратов // Формулы фармации. 2019. Т.1. N 1. 2019. С. 32-37.

4. Иерархия отходов, гл. 1. ст.4 // Директива Европейского Парламента и Совета Европейского Союза 2008/98/ЕС от 19 ноября 2008 г. об отходах и отмене ряда Директив. [Электронный ресурс]. URL: https://base.garant.ru/2568519/1b93c134b90c6071b4dc3f495464b753/ (Дата обращения: 17.02.2022)

5. Европейская практика обращения с отходами: проблемы, решения, перспективы [Электронный ресурс]. URL: https://www.waste.ru/uploads/library/wb2.pdf (Дата обращения: 24.02.2022)

6. Механизмы бактериальной конверсии и деградации фармполлютантов группы НПВС / И.Б Ившина [и др.] // Вестник ПФИЦ. 2020. N 3. С. 6-21.

7. Фармацевтические соединения на основе азотсодержащих гетероциклов - новый класс загрязнителей окружающей среды (обзор) / А.Н. Мухутдинова [и др.] // Вестник Пермского университета. 2015. N 1. С. 65-76.

8. Новикова Ю.А., Маркова О.Л., Фридман К.Б. Основные направления минимизации рисков здоровью населения, обусловленных загрязнением поверхностных источников питьевого водоснабжения лекарственными средствами // Гигиена и санитария. 2018. N 97(12). С. 1166-1170.

9. Оганесян Э.Т., Андреева О.А. Отходы фармацевтического производства - перспективные источники БАВ // Вестник ВолГМУ. 2005. N 4(16). С. 3-5.

10. Подходы к законодательному и нормативному регулированию в области обращения отходов в странах Европейского союза [Электронный ресурс]. URL: https://www.waste.ru/modules/section/item.php?itemid=413 (Дата обращения: 17.02.2022).

11. Постановление Правительства РФ от 03.10.2015 №1062 «О лицензировании деятельности по сбору, транспортированию, обработке, утилизации, обезвреживанию, размещению отходов I - IV классов опасности» [Электронный ресурс]. URL: http://static.government.ru/media/files/m27LwAkhl1jzdxjRhhMG4uOfHjPXqM9a.pdf (Дата обращения: 12.02.2022)

12. Проект закона №53-02.129/АР «О проведении эксперимента по организации и осуществлению централизованного обращения с медицинскими и биологическими отходами в МО и о внесении изменений в отдельные законодательные акты РФ» [Электронный ресурс]. URL: https://sozd.duma.gov.ru/bill/1006365-7 (Дата обращения: 12.02.2022)

13. Риски в фармацевтике [Электронный ресурс] URL: https://student.zoomru.ru/men/riski-v-farmacevtike/78737.643417.s1.html (Дата обращения 27.02.2022)

14. Руководство EMEP/EEA по инвентаризации выбросов загрязняющих веществ [Электронный ресурс]. URL: https://www.eea.europa.eu/ru/publications/rukovodstvo-emep-eaos-po-inventarizacii (Дата обращения: 16.02.2022)

15. СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» [Электронный ресурс]. URL: https://rg.ru/2010/12/12/sanpin-medothody-site-dok.html (Дата обращения: 12.02.2022)

16. Тюмина Е.А., Мигачева К.А., Мухутдинова А.Н. Поиск новых путей утилизации непригодных к медицинскому использованию лекарственных средств // Вестник РУДН. Экология и безопасность жизнедеятельности. 2015. N 4. С. 68-73.

17. Управление рисками фармацевтического предприятия [Электронный ресурс] URL: https://pandia.ru/text/78/224/66391.php (Дата обращения: 14.02.2022)

18. ФЗ от 24.06.1998 г. N 89-ФЗ «Об отходах производства и потребления» // Гарант. [Электронный ресурс] URL: https://base.garant.ru/12112084/ (Дата обращения: 12.02.2022)

19. Environmental sustainability [Электронный ресурс] URL: https://www.sanofi.com/en/our-responsibility/environmental-sustainability (Дата обращения: 28.02.2022)

20. Waste Classification Guidelines Part 1: Classifying waste [Электронный ресурс] URL: https://www.epa.nsw.gov.au/~/media/EPA/Corporate Site/resources/wasteregulation/140796-classify-waste.ashx (Дата обращения: 28.02.2022)

SUMMARY

RISKS OF PHARMACEUTICAL PRODUCTION: ENVIRONMENTAL ASPECTS

Nurzai S.N., 4th year student
Head: **Sushkova M.S.**, senior lecturer
Altai State Medical University
40 Lenina ave., Barnaul, 656038, Russian Federation
E-mail: idklax@gmail.com

The article presents data on the analysis of the main risks arising in pharmaceutical industries; as well as an analysis of the draft of the new policy for the Moscow region and the current regulations governing the circulation of pharmaceutical waste in the Russian Federation. The identified shortcomings indicate the insufficiency of state regulation in the area under study and require improvement at the legislative level. The scientific approaches concerning the problem of processing medicinal waste have been studied and methods for improving the regulation of waste management have been proposed.

Keywords: *pharmaceutical waste, pharmaceutical ecology, waste management, environmental legislation, environmental risks.*

REFERENCES

1. Avseiko M.V., Yarantseva N.D. Chemical method of utilization of pharmaceutical waste of the ACE inhibitor group // Bulletin of the Vitebsk State Medical University. 2021. Vol. 20(1). P. 99-110. (in Russian)

2. Ecological consequences of soil contamination with antibiotics / Akimenko Yu.V. [et al.] // Izvestiya Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2013. Vol. 15(3). P. 1196-1199. (in Russian)

3. Gabidova A.E., Galynkin V.A. Risk analysis in the production of medicines // Formulas of pharmacy. 2019. Vol. 1(1) 2019. P. 32-37. (in Russian)

4. Hierarchy of waste, ch. 1. article 4 // Directive of the European Parliament and of the Council of the European Union 2008/98/EC of November 19, 2008 on waste and the repeal of a number of Directives. [Internet]. URL: https://base .garant.ru /2568519/1b93c134b90c6071b4dc3f495464b753 / (Accessed: 17.02.2022). (in Russian)

5. European practice of waste management: problems, solutions and prospects [Internet] URL: https://www.waste.ru/uploads/library/wb2.pdf (Accessed: 24.02.2022). (in Russian)

6. Mechanisms of bacterial conversion and degradation formalitates group of NSAIDs / Ivshina I. B. [et al.] // journal PFIC. 2020. N 3. P. 6-21. (in Russian)

7. Pharmaceutical compounds based on nitrogen-containing heterocycles - a new class of environmental pollutants (review) / A.N. Mukhutdinova [et al.] // Bulletin of Perm University. 2015. N 1. P. 65-76. (in Russian)

8. The main directions for minimizing the risks to public health caused by contamination of surface sources of drinking water supply with medicines / Novikova Yu.A. [et al.] // Hygiene and Sanitation. 2018. N. 97(12). P. 1166-1170. (in Russian)

9. Oganesyan E.T., Andreeva O.A. Pharmaceutical production waste - promising sources of BAS // Bulletin of VolGMU. 2005. N. 4 (16). P. 3-5. (in Russian).

10. Approaches to legislative and normative regulation in the field of radioactive waste in the European Union [Internet] URL: https://www.waste.ru/modules/section/item.php?itemid=413 (Accessed: 17.02.2022). (in Russian).

11. The resolution of the RF Government dated 03.10.2015 No. 1062 "On licensing of activities involving the collection, transportation, processing, utilization, neutralization, and disposal of waste of I and II classes of danger" [Internet] URL: http://static.government.ru/media/files/m27LwAkhl1jzdxjRhhMG4uOfHjPXqM9a.pdf (Accessed: 12.02.2022). (in Russian).

12. Draft Law No. 53-02.129/AR «On conducting an experiment on the organization and implementation of centralized management of honey and biol waste in the Ministry of Defense and on Amendments to Certain Legislative Acts of the Russian Federation» [Internet]. URL: https://sozd.duma.gov.ru/bill/1006365-7 (Accessed: 12.02.2022). (in Russian).

13. Risks in pharmaceuticals [Internet]. URL: https://student .zoomru.ru/men/riski-v-farmacevtike/78737.643417.s1.html (Accessed: 27.02.2022). (in Russian).

14. The EMEP Manual/EEA on the inventory of emissions of pollutants [Internet]. URL: https://www.eea.europa.eu/ru/publications/rukovodstvo-emep-eaos-po-inventarizacii (Accessed: 16.02.2022). (in Russian).

15. SanPiN 2.1.7.2790-10 «Sanitary and epidemiological requirements for the treatment of medical waste» [Internet]. URL: https://rg.ru/2010/12/12/sanpin-medothody-site-dok.html (Accessed: 12.02.2022). (in Russian).

16. Tyumina E.A., Migacheva K.A., Mukhutdinova A.N. Search for new ways of utilization of medicines unsuitable for medical use // Bulletin of the RUDN. Ecology and life safety. 2015. N 4. P. 68-73. (in Russian).

17. Risk management of a pharmaceutical enterprise [Internet]. URL: https://pandia.ru/text/78/224/66391.php (Accessed: 14.02.2022). (in Russian).

18. Federal Law No. 89-FZ dated 06/24/1998 «On Production and Consumption waste» [Internet] URL: https://base .garant.ru/12112084 / (Accessed: 12.02.2022). (in Russian).

19. Environmental sustainability [Internet]. URL: https://www.sanofi.com/en/our-responsibility/environmental-sustainability (Accessed: 28.02.2022). (in Russian).

20. Waste Classification Manual Part 1: Waste classification [Internet] URL: https://www.epa.nsw.gov.au /~/media/EPA/Corporate website/resources/waste management/140796-classify-waste.ashx (Accessed: 28.02.2022). (in Russian).

УДК 61:615.1

ИССЛЕДОВАНИЕ МИНИМАЛЬНОГО АССОРТИМЕНТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ

Озерова Д.В., студ. 1 курса, **Карепина И.А.**, студ. 1 курса
Руководитель: **Афанасьева Т.Г.,** д.ф.н., проф.
Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко
394036, Воронеж, ул. Студенческая, д. 10, Российская Федерация
E-mail: d.korina2013@yandex.ru

В статье представлены результаты проведенного анализа минимального ассортимента лекарственных препаратов (ЛП), необходимых для оказания медицинской помощи. Проведена классификация ЛП по АТХ и лекарственным формам, а также результаты сравнительного анализа минимального ассортимента аптеки, аптечного пункта, аптечного киоска и индивидуального предпринимателя.

Ключевые слова: *минимальный ассортимент, лекарственные препараты, лекарственные формы, аптечные организации, фармацевтическая помощь, лекарственное обеспечение.*

Для оказания населению качественной фармацевтической помощи аптечным организациям необходимо знать и учитывать минимальный ассортимент ЛП. Поэтому каждая аптека обязана иметь в наличии определенный минимальный ассортимент ЛП, согласно действующему законодательству Российской Федерации.

Цель. Проведение анализа минимального ассортимента ЛП, необходимых для оказания медицинской помощи.

Материалы и методы. Материалом для изучения стала классификация ЛП актуальных на 2021 год по распоряжению Правительства РФ от 12.10.2019 N 2406-р (ред. от 23.12.2021) «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших ЛП, а также перечней ЛП для медицинского применения и минимального ассортимента ЛП, необходимых для оказания медицинской помощи». При проведении анализа использованы следующие методы: контент-анализ, описательный, сравнительный и математический.

Результаты и обсуждение. Ассортимент аптечной организации – это совокупность лекарственных средств и других товаров медицинского (аптечного) назначения, которые сгруппированы по определенным признакам. В соответствии с п. 6 ст. 55 Федерального закона от 12.04.2010 года №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» аптечные организации и индивидуальные предприниматели, имеющие лицензию на фармацевтическую деятельность, обязаны обеспечить утвержденный Правительством РФ и формируемый в установленном им порядке минимальный ассортимент ЛП, необходимых для оказания медицинской помощи [1, 4, 5].

Нами было отмечено, что в минимальный ассортимент входят ЛП из перечня жизненно необходимых и важнейших ЛП.

В постановлении Правительства РФ от 28.08.2014 N 871 (ред. от 03.12.2020) выделены следующие правила для формирования минимального ассортимента ЛП: ЛП должен быть зарегистрирован в установленном порядке в Российской Федерации, должен входить в перечень важнейших ЛП, иметь не менее 2 соответствующих ему по МНН воспроизведенных или биоаналоговых ЛП в аналогичных лекарственных формах и дозировках, производимых двумя или более производителями (за исключением ЛП, производимых единственным отечественным производителем). В минимальный ассортимент не включаются: ЛП, находящиеся в перечне наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих предметно-количественному учету; входящие в списки сильнодействующих и ядовитых веществ; лекарственные средства в лекарственных формах для инъекционного, инфузионного введения, имплантации, кроме растворителей; лекарственные средства, применение которых предназначено для оказания специализированной медицинской помощи [2, 3].

Изучив распоряжение Правительства РФ N 2406-р от 12.10.2019 (разделы: I. Для аптек (готовых лекарственных форм, производственных, производственных с правом изготовления асептических ЛП), II. Для аптечных пунктов, аптечных киосков и индивидуальных предпринимателей, имеющих лицензию на фармацевтическую деятельность), можно утверждать, что минимальный ассортимент для аптеки и аптечного пункта, аптечного киоска, индивидуального предпринимателя различен.

Общее количество ЛП – 72, в том числе для аптек – 51 ЛП, для аптечного пункта, аптечного киоска и ИП – 21 ЛП. В 2021 году из минимального ассортимента исключили только одну позицию – глазные капли «Пилокарпин». Новых ЛП в списке не появилось (таблица).

Таблица – Общая характеристика лекарственных препаратов, входящих в минимальный ассортимент

Наименование ЛП	Аптеки	АП, АК и ИП	Оригинальные	Дженерики	Рецептурные	Безрецептурные
Ранитидин	+		+		+	
Фамотидин	+		+		+	
Омепразол	+		+		+	
Висмута трикалия дицитрат	+	+	+			+
Дротаверин	+	+		+		+
Бисакодил	+	+	+			+
Сеннозиды А и В	+			+		+
Лоперамид	+	+	+			+
Бифидобактерии бифидум	+	+	+			+
Панкреатин	+	+	+			+
Аскорбиновая кислота	+	+	+			+
Изосорбида динитрат	+		+		+	
Изосорбида мононитрат	+		+		+	
Нитроглицерин	+	+	+		+	
Гидрохлоротиазид	+		+		+	
Фуросемид	+		+		+	
Спиронолактон	+		+		+	
Атенолол	+		+		+	
Амплодимин	+		+		+	
Нифедипин	+			+	+	
Верапамил	+		+		+	
Каптоприл	+		+		+	
Эналаприл	+		+		+	
Лозартан	+		+		+	
Аторвастатин	+		+		+	
Клотримазол	+	+		+		+
Гидрокортизон	+	+	+			+
Дексаметазон	+		+		+	
Доксициклин	+		+		+	
Хлорамфеникол	+		+		+	
Амоксициллин	+		+		+	
Ко-тримоксазол	+		+		+	
Ципрофлоксацин	+		+		+	

Наименование ЛП	Аптеки	АП, АК и ИП	Оригинальные	Дженерики	Рецептурные	Безрецептурные
Флуконазол	+			+	+	
Ацикловир	+		+		+	
Осельтамивир	+		+			+
Имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты	+	+	+			+
Кагоцел	+	+	+			+
Умифеновир	+	+	+			+
Диклофенак	+	+	+		+	
Ибупрофен	+	+	+			+
Ацетилсалициловая кислота	+	+	+			+
Парацетамол	+	+	+			+
Сальбутамол	+		+		+	
Беклометазон	+		+		+	
Аминофиллин	+		+		+	
Ацетилцистеин	+	+	+			+
Хлоропирамин	+		+			+
Лоратадин	+	+	+			+
Тетрациклин	+	+	+			+
Тимолол	+		+		+	

Нами выявлено, что в минимальном ассортименте для аптек оригинальных ЛП – 46 (90%), дженериков – 5 (10%), из них рецептурных ЛП – 30 (59%), безрецептурных ЛП – 21 (41%), ЛП отечественного производства – 33 (65%), импортных ЛП – 18 (35%). Для аптечного пункта, аптечного киоска и индивидуальных предпринимателей получены следующие результаты: оригинальных ЛП – 18 (86%), дженериков – 3 (14%), рецептурных ЛП – 2 (10%), безрецептурных ЛП – 19 (90%), ЛП отечественного производства – 14 (67%), импортных ЛП – 7 (33%) (рисунок).

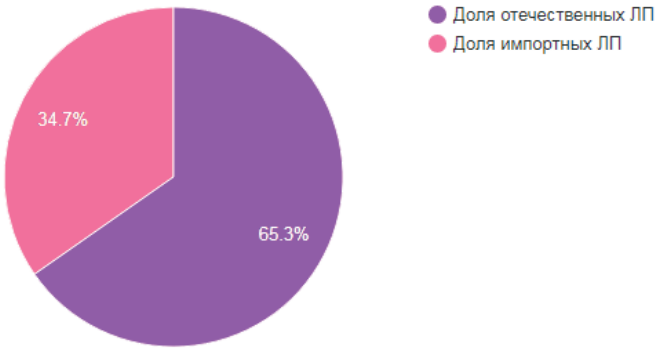


Рисунок. Доля отечественных и импортных ЛП в минимальном ассортименте за 2021 год (%)

Анатомо-терапевтическо-химическая классификация представляет собой международную классификацию, в которой помимо фармакологической группы учитывается также химическая природа ЛП и его терапевтическое действие.

Сравнивая минимальный ассортимент ЛП для аптек и аптечных киосков, аптечных пунктов, можно констатировать, что по классификации АТХ для аптек насчитывается 9 групп ЛП: A – пищеварительный тракт и обмен веществ (11 ЛП), C – сердечно-сосудистая система (14 ЛП), G – мочеполовая система и половые гормоны (1 ЛП), H – гормональные препараты системного действия, кроме половых гормонов и инсулинов (2 ЛП), J – противомикробные препараты системного действия (11 ЛП), M – костно-мышечная система (2 ЛП), N – нервная система (2 ЛП), R – дыхательная система (6 ЛП), S – органы чувств (2 ЛП).

Для аптечных пунктов, аптечных киосков и индивидуальных предпринимателей, имеющих лицензию на фармацевтическую деятельность насчитывается также 9 групп, но с другим количеством ЛП: A – пищеварительный тракт и обмен веществ (8 ЛП), C – сердечно-сосудистая система (1 ЛП), G- мочеполовая система и половые гормоны (1 ЛП), H – гормональные препараты системного действия, кроме половых гормонов и инсулинов (1 ЛП), J – противомикробные препараты системного действия (3 ЛП), M – костно-мышечная система (2 ЛП), N – нервная система (2 ЛП), R – дыхательная система (2 ЛП), S – органы чувств (1 ЛП).

Далее нами проведен анализ перечня минимального ассортимента по лекарственным формам.

Лекарственная форма представляет собой лекарственное вещество в наиболее удобной форме для приема пациентом. В связи с этим мы изучили классификацию лекарственных форм и получили следующие результаты для аптек: твердая лекарственная форма – 61 ЛП (71,8%), например, таблетки – 37 ЛП (60,7%) (ранитидин, фамотидин, омепразол, дротаверин, бисакодил и др.), капсулы – 14 ЛП (23%) (омепразол, лоперамид, бифидобактерии бифидум, панкреатин, изосорбида мононитрат и др.), таблетки, покрытые пленочной оболочкой – 2 ЛП (3,3%) (висмута трикалия дицитрат, аторвастатин), порошок для приема внутрь- 1 ЛП (1,6%) (бифидобактерии бифидум), драже – 1 ЛП (1,6%) (аскорбиновая кислота), таблетки, покрытые оболочкой – 2 ЛП (3,3%) (лозартан, аторвастатин), таблетки вагинальные 1 ЛП (1,6%) (клотримазол), порошок для приготовления суспензии для приема внутрь – 1 ЛП (1,6%) (амоксициллин), гранулы для приготовления раствора – 1 ЛП (1,6%) (ацетилцистеин), порошок для приготовления раствора – 1 ЛП (1,6%) (ацетилцистеин); мягкие лекарственные формы – 9 ЛП (10,6%), например, суппозитории ректальные – 2 ЛП (22,2%) (бисакодил, парацетамол), гель вагинальный – 1 ЛП (11,1%) (клотримазол), суппозитории вагинальные – 1 ЛП (11,1%) (клотримазол), крем для наружного применения – 2 ЛП (22,2%) (гидрокортизон, ацикловир), мазь для наружного применения – 2 ЛП (22,2%) (гидрокортизон, ацикловир), мазь глазная – 1 ЛП (11,1%) (тетрациклин); жидкие лекарственные формы – 12 ЛП (14,1%), например, суспензия для приема внутрь – 3 ЛП (25%) (ко-тримоксазол, ибупрофен, парацетамол), капли глазные – 3 ЛП (25%) (ципрофлоксацин, диклофенак, тимолол), капли ушные – 1 ЛП (8,3%) (ципрофлоксацин), раствор для приема внутрь – 1 ЛП (8,3%) (парацетамол), раствор для приема внутрь (для детей) – 1 ЛП (8,3%) (парацетамол), суспензия для приема внутрь (для детей) – 1 ЛП (8,3%) (парацетамол), сироп – 1 ЛП (8,3%) (лоратадин), раствор для ингаляций – 1 ЛП (8,3%) (сальбутамол); газообразные лекарственные формы – 3 ЛП (3,5%), например, спрей подъязычный дозированный – 1 ЛП (33,3%) (нитроглицерин), аэрозоль для ингаляций дозированный – 2 ЛП (66,7%) (сальбутамол, ацетилцистеин). Таким образом, в минимальном ассортименте для аптеки насчитывается 26 вариантов лекарственной формы, наибольшее количество ЛП представлены в форме таблеток.

Минимальный ассортимент для аптечных пунктов, аптечных киосков и ИП содержит в твердой лекарственной форме – 19 ЛП (52,8%), например, таблетки, покрытые пленочной оболочкой – 1 ЛП (5,3%) (висмута трикалия дицитрат), на таблетки – 13 ЛП (68,4%) (дротаверин, бисакодил, сеннозиды А и В, лоперамид, панкреатин и др.), капсулы – 6 ЛП (31,6%) (лоперамид, бифидобактерии бивидум, панкреатин, имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты, умифеновир, ибупрофен), порошок для приема внутрь – 1 ЛП (5,3%) (бифидобактерии бифидум), драже – 1 ЛП (5,3%) (аскорбиновая кислота), таблетки вагинальные – 1 ЛП (5,3%) (клотримазол), гранулы для приготовления раствора для приема внутрь – 1 ЛП (5,3%) (ацетилцистеин), порошок для приготовления раствора для приема внутрь – 1 ЛП (5,3%) (ацетилцистеин); мягкие лекарственные формы – 7 ЛП (19,4%), например, суппозитории ректальные – 2 ЛП (28,6%) (бисакодил, парацетамол), гель вагинальный – 1 ЛП (14,3%) (клотримазол), суппозитории вагинальные – 1 ЛП (14,3%) (клотримазол), крем для наружного применения – 1 ЛП (14,3%) (гидрокортизон), мазь для наружного применения – 1 ЛП (14,3%) (гидрокортизон), мазь глазная – 1 ЛП (14,3%) (тетрациклин); жидкие лекарственные формы – 9 ЛП (25%), например, капли глазные – 1 ЛП (11,1%) (диклофенак), сироп – 1 ЛП (11,1%) (лоратадин), суспензия для приема внутрь (для детей) – 1 ЛП (11,1%) (парацетамол), раствор для приема внутрь (для детей) – 1 ЛП (11,1%) (парацетамол), раствор для приема внутрь – 1 ЛП (11,1%) (парацетамол), суспензия для приема внутрь – 2 ЛП (22,2%) (ибупрофен, парацетамол) суспензия для приема внутрь – 2 ЛП (22,2%) (ибупрофен, парацетамол); газообразные лекарственные формы – 1 ЛП (2,8%), например, спрей подъязычный дозированный – 1 ЛП (100%) (нитроглицерин). Таким образом, вариантов лекарственной формы всего 21, из которых в таблетках содержится наибольшее количество лекарственных веществ.

На сегодняшний день аптечным организациям необходимо учитывать ЛП, входящие в состав минимального ассортимента, так как важным направлением сохранения здоровья населения является государственная политика в области лекарственного обеспечения.

Заключение. Таким образом, с целью обеспечения возможности доступа потребителей к наиболее востребованным ЛП Правительством РФ разработан минимальный ассортимент ЛП для оказания медицинской помощи, который включает в себя в настоящее время 72 наименования, из них 47 ЛП (65,3%) – отечественного производства.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.31.00 Фармакология

ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 N 61-ФЗ

2. Постановление Правительства РФ от 28.08.2014 N 871 (ред. от 03.12.2020) «Об утверждении Правил формирования перечней ЛП для медицинского применения и минимального ассортимента ЛП, необходимых для оказания медицинской помощи»

3. Распоряжение Правительства РФ от 12.10.2019 N 2406-р (ред. от 23.12.2021) «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших ЛП, а также перечней ЛП для медицинского применения и минимального ассортимента ЛП, необходимых для оказания медицинской помощи».

4. Совершенствование системы формирования перечней лекарственных препаратов для медицинского применения: анализ изменений Постановления Правительства РФ N 871 / В.В. Омельяновский [и др.] // Фармакоэкономика. Современная Фармакоэкономика и Фармакоэпидемиология. 2020. Т. 13. N 2. С. 113-122.

5. Перечень жизненно необходимых и важнейших ЛП как объект регулирования доступности ЛП / Т.Г. Афанасьева [и др.] // Сборник: Актуальные вопросы лекарственного обеспечения и контроль качества препаратов. 2021. С. 44-49.

SUMMARY

THE STUDY OF THE MINIMUM RANGE OF MEDICINES NECESSARY FOR THE PROVISION OF MEDICAL CARE.

Ozerova D.V., 1st year student, **Karepina I.A**., 1st year student
Supervisor**: Afanasyeva T. G**., Ph.D., Prof.
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
«Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko**»** of the Ministry of Health of the Russian Federation
394036, Voronezh, Studentskaya str., 10, Russian Federation
E-mail: d.korina2013@yandex.ru

The article presents the results of the analysis of the minimum range of medicines (LP) necessary for the provision of medical care. The classification of medicinal products by ATX and dosage forms, as well as the results of a comparative analysis of the minimum assortment of pharmacies, pharmacy points, pharmacy kiosks and individual entrepreneurs.

Keywords: *minimum assortment, medicines, dosage forms, pharmacy organizations, pharmaceutical assistance, drug provision.*

REFERENCES

1. Federal Law «On Circulation of medicines» dated 12.04.2010 N 61-FZ. (in Russian).
2. Decree of the Government of the Russian Federation of 28.08.2014 N 871 (ed. of 03.12.2020) «On approval of the Rules for the formation of lists of medicines for medical use and the minimum range of medicines necessary for the provision of medical care». (in Russian).
3. Order of the Government of the Russian Federation dated 12.10.2019 N 2406-r (ed. dated 23.12.2021) «On approval of the list of vital and essential medicines, as well as lists of medicines for medical use and the minimum range of medicines necessary for medical care». (in Russian).
4. Improving the system for the formation of lists of medicinal products for medical use: analysis of changes in Decree of the Government of the Russian Federation N 871 / V.V. Omelyanovsky [et al.] // Pharmacoeconomics. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology. 2020. Vol. 13(2). P. 113-122. (in Russian).
5. The list of vital and essential medicines as an object of regulation of the availability of medicines / T.G. Afanasyeva [et al.] // Collection: Topical issues of drug supply and quality control of drugs. 2021. C. 44-49. (in Russian).

УДК 615.1:334.01+615.12

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ СТРУКТУРЫ ТОВАРОВ АПТЕЧНОГО АССОРТИМЕНТА, РЕАЛИЗУЕМЫХ ДИСТАНЦИОННЫМ СПОСОБОМ

Основа М.Д., студ. 4 курса фармацевтического факультета
Миронова Д.В., студ. 4 курса фармацевтического факультета
Научный руководитель: **Егорова А.В.,** к.фарм.н., старший преподаватель кафедры (ORCID: 0000-0002-3145-6786)
Самарский государственный медицинский университет
443099, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89, Российская Федерация
E-mail: zulini@yandex.ru

В настоящей статье рассмотрена особенность структуры товаров аптечного ассортимента в сегменте электронной коммерции для формата маркетплейсов. Изучены изменения, предлагаемые действующим российским законодательством для реализации товаров аптечного ассортимента дистанционным способом.

Ключевые слова: *электронная коммерция, лекарственные средства, изменения законодательства, реализация дистанционным способом.*

В настоящее время фармацевтический сектор активно встраивается в систему электронной коммерции. Это открывает дополнительные возможности для всех участников фармацевтического рынка, связанных с получением оперативной информации и приобретением необходимых для лечения и профилактики лекарственных препаратов и других товаров аптечного ассортимента. В каталогах маркетплейсов и электронных аптек представлены различные виды продукции. В этой связи, актуальным является мониторинг структуры товаров аптечного ассортимента, реализуемых дистанционным способом.

Целью настоящего исследования является изучение особенностей структуры товаров аптечного ассортимента в сегменте дистанционной реализации для формата маркетплейсов.

В задачи исследования входили: анализ товаров аптечного ассортимента в сегменте дистанционной реализации на маркетплейсах, анализ поставщиков товаров аптечного ассортимента на маркетплейсах, исследование особенностей формирования ассортиментных групп на маркетплейсах.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось с использованием законодательных актов, данных электронных аналитических инструментов Moneyplace, Wordstat, Similarweb, каталогов товаров аптечного ассортимента маркетплейсов «Ozon», «Wildberries». В работе использовались аналитический, описательный, сравнительный методы.

Результаты и их обсуждение. В сентябре 2021 года, в связи с обновленным законодательством, начал действовать новый порядок дистанционной реализации и доставки товаров аптечного ассортимента неспециализированными агрегаторами – маркетплейсами [1,2,3,5]. Согласно поправкам, внесенным в действующее законодательство, в каталоги электронных ресурсов возможно включать любые товары аптечного ассортимента, за исключением лекарственных препаратов рецептурного отпуска. Поскольку маркетплейсы являются платформой реализации множества различных товаров, особое внимание необходимо уделить структуре товаров аптечного ассортимента, которая сформирована на маркетплейсах в настоящее время.

В аптечной организации ассортиментная матрица формируется исходя из разных факторов: тип аптечной организации, портрет потенциального покупателя, товарных категорий. В ассортимент аптечной организации средней категории входит не менее 20 тысяч товарных позиций. Вопрос формирования аптечного ассортимента на маркетплейсах является неизученным.

В рамках настоящей работы было проведено исследование особенностей структуры товаров аптечного ассортимента на наиболее популярных электронных площадках маркетплейсов «Ozon» и «Wildberries» [4]. В октябре 2021 года Маркетплейс «Ozon» получил лицензию на фармацевтическую деятельность и разрешение на реализацию лекарственных препаратов безрецептурного отпуска в сегменте электронной коммерции. Поэтому, в каталоге компании выделена отдельная категория «Аптека». В каталоге «WILDBERRIES» выделена категория «Здоровье», т.к. компания является агрегатором. Особенностью формирования ассортиментных групп на маркетплейсах является отсутствие прямого контакта с пациентом напрямую.

Основным способом представления ассортиментных позиций является страница или карточка товара и отзывы клиентов на ней. В настоящее время информация в карточках товаров в категориях «Аптека и «Здоровье» представлена в неполном объеме. Имеется лишь описание формы выпуска, способа применения и состава. Зачастую отсутствует информация о показаниях и противопоказаниях (особенно для наружных форм), об условиях хранения. Такое представление сведений создает у пациентов ощущение возможности бесконтрольного приема. В связи с тем, что категоризация товаров аптечного ассортимента для форматов маркетплейсов не регламентирована в настоящее время, сильно варьирует количество ассортиментных позиций в данной группе. Так при запросах информации о количестве товарных позиций в категориях «Здоровье» и «Аптека» аналитическая система Moneyplace предоставляет следующие данные: на маркетплейсе «Вайлдберриз» количество товаров в категории «Здоровье» насчитывает 72708 единиц. Однако, при запросе количественного выражения продаж результаты оказываются сопоставимыми (рис. 1).

Рисунок 1. Количественные показатели категорий «Здоровье» и «Аптека» в структуре маркетплейсов по данным аналитической системы Moneyplace

Отсутствие регламентации категоризации товаров аптечного ассортимента наибольшее затруднение в выборе товара испытывает конечный потребитель. В результате анализа категорий были выявлены отличия между наполнением категорий. На сегодняшний день категории товаров аптечного ассортимента наполняются по принципу популярности запросов. Товары могут относиться к нескольким разделам и в зависимости от того, какое количество запросов поступает в той или иной категории, происходит выбор для расположения позиции. Категория «Здоровье» на маркетплейсе «Вайлдберриз» содержит большее количество разделов, чем категория «Аптека» на маркетплейсе «Озон» (таблица). Именно поэтому количественные показатели имеют такую существенную разницу. Расширенная категория «Здоровье» позволяет привлечь большее количество покупателей и обеспечить максимальную конверсию просмотров в продажу. Более специализированная категория «Аптека» помогает покупателю сформировать точный запрос и, таким образом, избежать напрасной потери времени. Вероятно, этим объясняются сопоставимые количественные показатели продаж.

Таблица. Категории товаров аптечного ассортимента на разных маркетплейсах

Вайлдберриз	Озон
Антисептики и средства защиты	нет
Витамины и БАДы	Витамины и ДАБ
Гигиена и уход	нет
Диетические продукты	нет
Для малышей	нет
Контрацептивы и лубриканты	нет
Лекарственные препараты	лекарства
Медицинские изделия	медицинские изделия
Медицинские приборы	медицинские приборы

Одним из инструментов управления ассортиментом по товарным категориям является составление товарного классификатора, что позволяет оптимизировать товарные остатки, увеличить объем продаж и в конечном итоге – повысить маржинальность всей категории. В ходе исследования ассортимента на данных ресурсах особое внимание было обращено на категорию «Лекарственное растительное сырье». Лекарственное растительное сырье размещается в разделе «Продукты – Чай и кофе – Травяные сборы». В настоящее время на агрегаторах в сегменте «Лекарственные травы» продукцию представляют различные производители, в т.ч. не относящиеся к фармацевтическим компаниям (рис. 2).

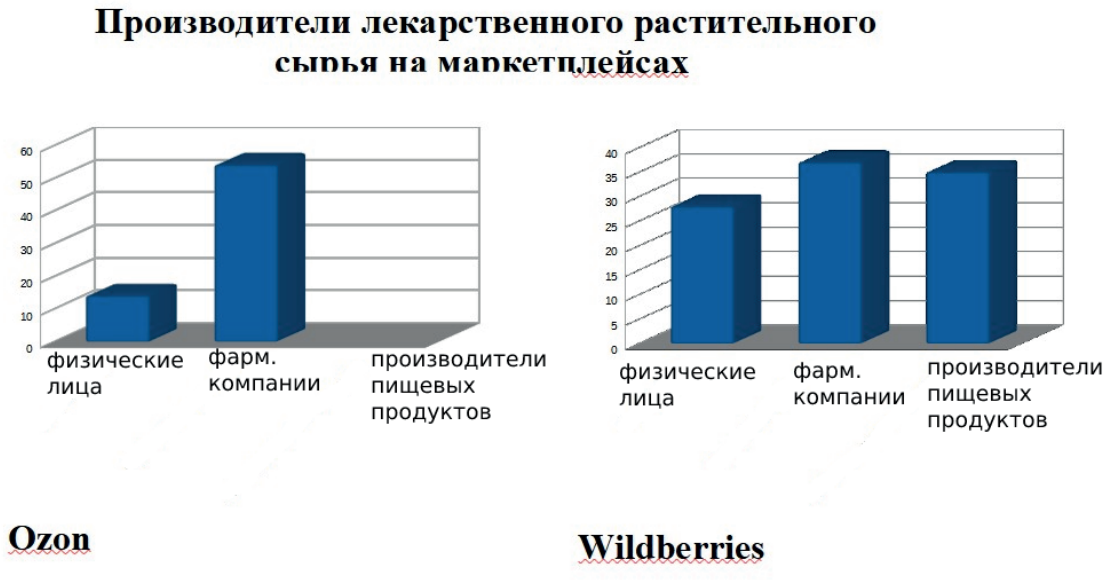


Рисунок 2. Производители лекарственного растительного сырья на маркетплейсах

На маркетплейсе «Ozon» более 50% производителей лекарственного растительного сырья относится к фармацевтическим компаниям, около 11% производителей являются физическими лицами. В каталоге маркетплейса «Wildberries», помимо фармацевтических компаний и физических лиц, представлены производители пищевых продуктов, реализующие лекарственное растительное сырье под маркировкой «Сборы для здоровья». Особенности электронной коммерции позволяют реализовывать лекарственное растительное сырье в категории пищевых продуктов, что может быть опасным для конечного потребителя. Кроме того, на площадках дистанционной реализации не регламентируются требования к поставщикам лекарственного растительного сырья. Таким образом, реализация лекарственного растительного сырья в сегменте дистанционной реализации требует пристального внимания, мониторинга и введения норм законодательного регулирования.

Заключение.

В ходе настоящего исследования установлено, что:

• Механизм формирования ассортимента аптечных товаров на маркетплейсах не регламентируется законодательно и является малоизученным

• Отсутствие правил категоризации товаров аптечного ассортимента создает предпосылки для размещения данной категории товаров в неспециализированных разделах, что вызывает затруднения у конечного потребителя при совершении покупки

• При дистанционной реализации некоторых групп товаров аптечного ассортимента не регламентируются требования к поставщикам, что является опасным для конечного потребителя

• На основе проведенного исследования составлены рекомендации для категоризации ассортимента аптечных товаров на маркетплейсах.

Исследование реализации товаров аптечного ассортимента дистанционным способом является важным и актуальным для мониторинга качества предоставляемых услуг, а также соблюдения требований нормативной документации.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения
06.56.21 Рыночная структура. Концентрация. Конкуренция. Предпринимательство

ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральный закон от 12.04.2010 N 61-ФЗ (ред. от 27.12.2019) «Об обращении лекарственных средств» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.03.2020)

2. Федеральный закон от 27.07.2006 N 149-ФЗ (ред. от 02.12.2019) «Об информации, информационных технологиях и о защите информации» (с изм. и доп., вступ. в силу с 13.12.2019)

3. Подготовлены поправки к законопроекту о дистанционной торговле лекарствами [Электронный ресурс] URL: https://www.rbc.ru/business/08/05/2019/5cd1621e9a7947d5df58ded9 (Дата обращения: 29.02.2020)

4. Законопроект N 285949-7. Система обеспечения законодательной деятельности. [Электронный ресурс]. URL: https://sozd.duma.gov.ru/bill/285949-7 (Дата обращения: 29.02.2021)

5. Владимир Путин утвердил изменения в порядок обращения лекарств. Pharmvestnik.ru. [Электронный ресурс]. URL: https://pharmvestnik.ru/content/news/Vladimir-Putin-utverdil-izmeneniya-v-poryadok-obrasheniya-lekarstv.html (Дата обращения: 29.02.2021)

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE FEATURES OF THE STRUCTURE OF THE PHARMACY ASSORTMENT IN SEGMENT OF E-COMMERCE

Osnova M.D., 4th year student, **Mironova D.V.,** 4th year student
Scientific advisers: Egorova A.V., Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department Samara State Medical University, the Department of Management and Economy in Pharmacy
Samara State Medical University
443099, Samara, ul. Chapaevskaya, 89, Russian Federation
E-mail: zulini@yandex.ru

This article discusses the features of the structure of pharmacy assortment products in the e-commerce segment for the marketplace format, the features of product categorization. The changes proposed by the current Russian legislation for the sale of pharmacy assortment goods remotely have been studied.

Keywords: *e-commerce, medicines, legislative changes, remote implementation.*

REFERENSES

1. Federal`ny`j zakon ot 12.04.2010 N 61-FZ (red. ot 27.12.2019) «Ob obrashhenii lekarstvenny`x sredstv» (s izm. i dop., vstup. v silu s 01.03.2020). (in Russian)

2. Federal`ny`j zakon ot 27.07.2006 N 149-FZ (red. ot 02.12.2019) «Ob informacii, informacionny`x texnologiyax i o zashhite informacii» (s izm. i dop., vstup. v silu s 13.12.2019). (in Russian)

3. Podgotovleny` popravki k zakonoproektu o distancionnoj torgovle lekarstvami. [Internet]. URL: https://www.rbc.ru/business/08/05/2019/5cd1621e9a7947d5df58ded9 (Accessed: 29.02.2020). (in Russian)

4. Zakonoproekt № 285949-7. Sistema obespecheniya zakonodatel`noj deyatel`nosti [Internet]. URL: https://sozd.duma.gov.ru/bill/285949-7(Accessed: 29.02.2020). (in Russian)

5. Vladimir Putin utverdil izmeneniya v poryadok obrashheniya lekarstv // Pharmvestnik.ru. [Internet]. URL: Available at: https://pharmvestnik.ru/content/news/Vladimir-Putin-utverdil-izmeneniya-v-poryadok-obrasheniya-lekarstv.html (Accessed 29.02.2020). (in Russian)

УДК 331.101.38

ФОРМИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ НЕМАТЕРИАЛЬНОГО СТИМУЛИРОВАНИЯ ТРУДА РАБОТНИКОВ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРЕДПРИЯТИИ

Палагина А.А., студ. 4 курса
Научный руководитель: **Орлов А.С.**, канд. фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой экономики и управления
(ORCID: 0000-0002-1467-6234)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anastasiya.palagina@gmail.com

В реальной практике управления персоналом наряду с материальным не менее важную роль выполняет нематериальное стимулирование труда. В данной статье подробно рассмотрены формы нематериального стимулирования трудовой деятельности и возможности их применения на предприятиях фармацевтической отрасли. Приведены результаты анкетирования студентов и выпускников Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета, которые продемонстрировали важность нематериального стимулирования труда для представителей фармацевтической отрасли.

Ключевые слова: *мотивация и стимулирование труда, персонал, нематериальное стимулирование труда, фармацевтическое предприятие, разработка системы стимулирования.*

Любое фармацевтическое предприятие стремится обеспечить повышение эффективности и производительности труда работников, так как замотивированные сотрудники выполняют свою работу качественнее тех, кто не видит заинтересованности в работе. В связи с этим в системе управления персоналом значимую роль играет формирование системы стимулирования работников труда. Для повышения производительности и достижения наилучших результатов руководство должно ответственно подходить к вопросу грамотного создания системы стимулирования работников. В настоящее время данная система основывается преимущественно на материальных формах стимулирования, но при этом не стоит забывать про немаловажную роль нематериального стимулирования.

Формирование на предприятии системы нематериального стимулирования труда основано на том, что сотрудники перестают ощущать ценность регулярных денежных выплати начинают воспринимать их как обязательную часть зарплаты за свою деятельность. Для поддержания заинтересованности работников в рабочий процесс необходимо комплексно подходить к вовлечению стимулирующих методов [1, с.272].

Актуальность вопроса основана на разностороннем подходе организации стимулирования труда персонала, ведущим к повышению эффективности труда. Помимо материальных методов стимулирования, можно выделить большую группу методов нематериальных стимулов и социальные льготы. Если повысить качество стимулирующих методов, можно добиться снижения текучести кадрового состава, повышения вовлеченности в трудовой процесс, повысить эффективность, работоспособность и производительность работников. Стимулирование труда – это обеспечение успешной работы, формирование системы которого нужно проводить с учетом личностных особенностей персонала.

Целью данного исследования является изучение современных подходов к формированию системы нематериального стимулирования труда работников на фармацевтических предприятиях.

Выделяют материальные и нематериальные формы стимулирования труда (рисунок).

Рисунок. Формы стимулирования труда

Нематериальное стимулирование включает в себя моральное, трудовое, партисипативное, организационное, должностное и принудительное. Характеристика различных форм нематериального стимулирования труда приведена в таблице [2, с.67].

Таблица – Формы нематериального стимулирования

Форма стимулирования	Характеристика	Примеры
Организационное стимулирование	Стимулирование путем создания организационных условий труда	• удобный график работ; • условия труда: приятная обстановка, территориальная близость, использование качественных современных материалов для отделки помещений, красивый дизайн и удобная мебель, современная техника, личная безопасность; • психологический климат в коллективе; • двухстороннее стимулирование труда – наставничество: для наставника ощущение своей значимости, авторитет в глазах нового сотрудника, а для него в свою очередь получение опыта, поддержка в адаптации; • грамотный руководитель.
Моральное стимулирование	Стимулирование путем выражения общественного признания	• вручение благодарностей; • награждение почетными грамотам, значками; • объявление правительственных наград, званий; • периодическая актуализация размещения фотографий сотрудников на Доске почета; • организация внутренних соревнований в компании и награждение победителей.
Трудовое стимулирование	Стимулирование основывается на осознании важности выполняемой работы	• понимание значимости работы; • автономия: предоставление возможности принятия самостоятельных решений и установленных задач; • поддержание интереса при выполнении работы; • возможность пользоваться собственными умениями и умениями на практике; • наличие обратной связи.
Должностное стимулирование	Комплексная форма стимулирования: • материально-денежное стимулирование: увеличение заработной платы; • трудовое стимулирование: предоставление более интересных задач; • моральное стимулирование: признание авторитета и заслуг специалиста.	• продвижение по карьерной лестнице; • режим усложнения задач.
Принудительное стимулирование	Стимулирование на основе отрицательного воздействия на работников	• замечания, выговоры; • штрафы; • понижение в должности; • запугивание увольнением с работы.
Партисипативное стимулирование (от англ. participant – участник)	Предполагает, что работник работает более качественно с большей отдачей в связи с тем, что получает удовлетворение от своего труда. Сотрудник получает удовлетворение от процесса труда, поэтому работает с большей отдачей, более качественно	• самостоятельное решение сотрудников по осуществлению их трудовых обязанностей; • в решениях по вопросам производства сотрудники принимают непосредственное участие (выбор формы стимулирования труда, составление проектов, использование ресурсов); • сотрудники могут вносить предложения по совершенствованию их работы; • специалисты могут сформировать рабочие группы, исходя из собственных пожеланий коллектива (отделы, службы, бригады).

К преимуществам нематериального стимулирования относятся:

• Формирование возможности проявления инициативы;

• Гибкая система;

• Снижается сопротивляемость различным изменениям и как следствие формируется психологическая готовность к изменениям;

• На предприятии снижаются материальные затраты;

• Позиционирование компании и ее внутренней культуры как открытой системы;

• На производстве наблюдается значительный рост производительности и эффективности труда.

Недостатки:

• Нематериальные потребности не удовлетворены;

• Для выявления потребностей персонала требуется значительное время;

• Система требует периодического внесения корректировок для повышения ее эффективности [3].

Для того, чтобы оценить роль, выполняемую в профессиональной деятельности материальными и нематериальными формами стимулирования, было проведено анкетирование студентов и выпускников Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета, которые уже успели воспользоваться своими профессиональными навыками на фармацевтическом предприятии в рамках производственной практики или устроившись официально на работу.

В опросе приняло участие 114 человек в возрасте от 18 до 43 лет. Среди опрошенных 98 человек являются студентами СПХФУ, а 16 человек – представители таких предприятий как Полисан, Фармсинтез и Вертекс. Анкетирование было проведено по авторской методике Потемкиной О.Ф. [4], вопросы были направлены на оценку значимости власти или свободы, содержания работы и денег. В каждой мотивационной сфере у респондента была возможность набрать от 0 до 10 баллов. Высокие значения в установке на труд свидетельствуют о том, что человек получает удовлетворение и радость от самого процесса труда, время используется на что-то, не жалея выходных и отпускных дней. Человек желает чувствовать важность самого процесса, но при этом результат не столь важен, как то, что его действия будут одобрены общество, а тем более руководством. Таким образом, ориентация на труд – причина существования рабочего процесса, когда зарплата не так высока.

В современном мире практически каждый человек нацелен на увеличение своего благосостояния. Когда денег нет, появляется стремление их заработать, а когда есть – начинаешь думать, как их сохранить и преумножить. Деньги сами по себе являются ценностью, а не как средства приобретения товаров и услуг. При выборе работы такой человек в первую очередь обратит внимание на заработную плату, чем на заинтересованность в работе.

Главная ценность для человека была и останется свобода. Такой человек будет отстаивать свою независимость и не потерпит никаких ограничений. Чаще всего эта установка идет рядом с установкой на труд, реже сопутствует ориентацию на деньги.

Человеку с установкой на власть необходимо ощущать контроль над другими работниками и готов многое делать для этого. Чаще всего это люди, занимающие руководящие должности. Ведущей ценностью для такого человека является влияние на общество.

По результатам проведенного опроса были получены следующие усредненные баллы по различным установкам, а их значимость для респондентов выражена в процентном соотношении ниже:

Ориентация на труд – 6,1;

Ориентация на деньги – 3,1;

Ориентация на свободу – 7,3;

Ориентация на власть – 2,3.

Исходя из полученных результатов, можно сделать следующие выводы:

1) Нынешнее поколение по большей части является высокомотивированными с гармоничными ориентациями. Все установки выражены относительно в равной степени.

2) Молодые кадры в начале своей профессиональной деятельности больше заинтересованы в приобретении навыков, приобретении полезных связей, для них важно, чтобы работодатель мог сполна оценить их успехи и быть замеченным.

3) Денежное стимулирование трудового процесса является важной частью, но не целеполагающей для большинства опрашиваемых.

Для формирования грамотной системы нематериального стимулирования перед руководителем стоит немаловажная цель – выявление первостепенных ценностей путем проведения детального анализа. Чтобы добиться наилучшего эффекта, необходимо комплексно сформировать систему, ориентируясь на приоритеты каждого сотрудника.

Можно выделить главные правила, применимые к созданию системы нематериального стимулирования [5]:

1) «Комплексность». Использование комплекса подходов помогает достигать наилучшего эффекта в повышении производительности труда.

2) «Выбор подходящего момента». Чтобы, сотрудник стремился достигать поставленные цели, нужно поддерживать его интерес к работе.

3) «Готовность вносить корректировки» Реагирование на различные формы нематериального стимулирования может быть различно, ведь каждый человек индивидуален. Необходимо быть готовым к корректирующим действиям в случае отторжения, пресыщения и обратного эффекта.

Система нематериального стимулирования требует планомерной разработки и упорядоченности. Выделим основные этапы разработки:

1. Определение цели внедрения данной системы стимулирования. Провести необходимые расчеты по введению системы и издержек на нее. Значительно скажутся на затратах введение бесплатного питания, оплата обучения и повышение квалификации персонала, и наоборот существуют экономичные средства, например, упоминание на Доске почета или выдача благодарностей.

2. Выяснение потребностей персонала. Важно определить наиболее эффективные стимулы для данного коллектива, важно ориентироваться на своих сотрудников. Определение потребностей можно посредством проведения опроса, анкетирования, включив в анкету как материальные, так и нематериальные стимулы. Анализ потребностей покажет реальную картину пожеланий коллектива. Это поможет избежать многочисленного пересмотра системы с целью актуализации методов, которые будут неэффективны и снизят стремление к поощрениям в целом.

Так же стоит учитывать, что для персонала разных классов одни и те же методы стимулирования не подойдут. Например, для вспомогательного и обслуживающего персонала, чей уровень заработка находится на среднем уровне, вполне подойдет оплата путевок в лагеря и санатории для их детей и самого персонала, но для руководящего состава, такие методы будут малоэффективны по причине высокого уровня дохода.

Чтобы избежать разногласий в коллективе и повысить уровень удовлетворенности можно предложить работникам самостоятельно выбрать вид поощрения, тем самым повышая его мотивацию к его достижению.

3. Определение оптимальных методов стимулирования, составление четко определенного плана их получения. Важно помнить, что поощрения не производятся за выполнение своих оговоренных должностных обязанностей. Чтобы заслужить вознаграждение необходимо выйти за рамки деятельности в допустимых пределах, именно такой подход дает ощутимый эффект роста производительности для компании. Это необходимо оговаривать для того, чтобы сотрудники со временем не стали воспринимать любые свои действия как подвиг, который требует обязательного поощрения и признания.

4. После утверждения вводимой системы стимулирования, коллектив должен быть ознакомлен с Положением. Информация является открытой и может быть размещена на официальном сайте организации, в личных кабинетах сотрудников, расположение на доске объявлений, распространение информации через заведующих в соответствующие структурные подразделения.

5. Отслеживание изменений в эффективности сотрудников после внедрения нематериальных стимулов, проведение корректирующих действий в случае, если тот или иной метод не приносят результата. Сотрудники теряют интерес к системе, если на протяжении долгого времени вид поощрений не изменяется, происходит привыкание, появляется восприятие вознаграждение как должного [6, с. 163].

Изменение целей организации, высокая текучесть кадрового состава ведут к изменению политики стимулирования, ведь это показывает, что у персонала утерян интерес к выполняемой работе, а это в свою очередь приведет к поиску нового рабочего места, способное и материально, и нематериально удовлетворить потребности и амбиции работника. Стоит периодически проводить анализ эксплуатируемой системы, оценивая долгосрочные достижения масштабно, в период внедрения раз в 5-6 месяцев, а в случае успешно устоявшейся – раз в год.

Необходимо отметить, что денежные стимулы теряют свою ценность и со временем вызывают привыкание, этот факт свидетельствует о том, что работники перестают это ценить. Для достижения наиболее высоких показателей производительности и эффективности важно создать многофункциональную систему стимулирования работников, включая и материальные, и нематериальные стимулы.

Система нематериального стимулирования способна долгое время удерживать интерес к выполняемым обязанностям, уменьшит вопрос текучести кадров и станет хорошим основанием для привлечения сотрудников высокой квалификации. Каждый работник имеет право быть осведомлен о существовании такой системы. В ходе анализа потребностей коллектива выявляются необходимые потребности, способные быть удовлетворены различными методами. Система стимулирования должна быть ясна абсолютно каждому работнику фармацевтического производства и периодически обновляться новыми стимулами, заменяя неактуальные. Внедрение нематериального стимулирования имеет малую распространенность среди российских предприятий, но ответственный подход и грамотные действия руководящего состава способны повысить преданность компании, повысить производительность и уровень отечественной фармации в целом.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

06.81.65. Кадры предприятия. Организация труда. Условия труда. Оплата труда. Заработная плата на предприятии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Озерникова Т.Г. Системы мотивации и стимулирования трудовой деятельности. Иркутск: Изд-во БГУ, 2016. 183 с.

2. Палагина А.А. Формирование системы нематериального стимулирования труда работников на фармацевтическом предприятии // Фундаментальные научные исследования как условие долгосрочного устойчивого развития России: сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции 10.12.22. Белгород: ООО Агентство перспективных исследований (АПНИ). 2021. С. 66-70.

3. Кардапольцев К.В., Романова Е.Д. Реализация системы мотивации через систему управления персоналом // Научный журнал. 2016. N 6. С. 187.

4. Методика диагностики социально-психологических установок в мотивационно-потребностной сфере О.Ф. Потемкиной [Электронный ресурс]. URL: http://psy-resultat.ru/page176. (Дата обращения: 17.12.2021).

5. Жевнерчук В.Л., Фомин А.А. Концепция разработки системы стимулирования труда рабочих // Труд и социальные отношения. 2014. N 9. С. 138.

6. Мотивация и стимулирование трудовой деятельности. М.: Проспект, 2012. 419 с.

SUMMARY

FORMATION OF A SYSTEM OF NON-MATERIAL INCENTIVES FOR THE WORK OF EMPLOYEES AT A PHARMACEUTICAL ENTERPRISE

Palagina A.A., 4nd year student
Academic advise: **Orlov A.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences,
Associate Professor, chairholder of Economics and Management.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: anastasiya.palagina@gmail.com

In the actual practice of personnel management, along with the material, non-material incentives play an equally important role. This article discusses in detail the forms of non-material stimulation of labor activity and the possibility of their application

at the enterprises of the pharmaceutical industry. The results of a survey of students and graduates of the St. Petersburg Chemical and Pharmaceutical University, which demonstrated the importance of non-material labor incentives for representatives of the pharmaceutical industry, are presented.

Keywords: *labor motivation and stimulation, personnel, non-material stimulation of labor, pharmaceutical enterprise, development of an incentive system.*

REFERENCES

1. Ozernikova T.G. Systems of motivation and stimulation of labor activity: textbook. allowance. Irkutsk: Publishing House of BSU, 2016. 183 p. (in Russian)

2. Palagina A.A. Formation of a system of non-material incentives for the work of workers at a pharmaceutical enterprise // Fundamental scientific research as a condition for the long-term sustainable development of Russia: a collection of scientific papers based on the materials of the International Scientific and Practical Conference 10.12.22. Belgorod: LLC Agency for Advanced Study (APNI). 2021. P. 66-70. (in Russian)

3. Kardapoltsev K.V., Romanova E.D. Implementation of the motivation system through the personnel management system // Nauchnyi journa. 2016. N 6. P. 187. (in Russian)

4. Methods for diagnosing socio-psychological attitudes in the motivational-demand sphere O.F. Potemkina [Internet]. URL: http://psy-resultat.ru/page176. (Accessed: 17.12.2021). (in Russian)

5. Zhevnerchuk V.L., Fomin A.A. The concept of developing a system for stimulating the work of workers // Labor and social relations. 2014. N 9. P. 138. (in Russian)

6. Motivation and stimulation of labor activity. Moscow: Prospekt, 2012. 419 p. (in Russian)

УДК 616.379

ТРАДИЦИОННЫЕ И ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Пелтола М.А., магистрант 1 года обучения
Научный руководитель: **Орлов А.С.**, канд. фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой экономики и управления
(ORCID: 0000-0002-1467-6234)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: peltola.margarita@pharminnotech.com

В настоящей статье рассматриваются современные подходы к лечению сахарного диабета. Приведено описание существующих лекарственных препаратов для ведения пациентов с подобным диагнозом. Описаны инновационные методы терапии и показана важность их внедрения в широкую медицинскую практику.

Ключевые слова: *сахарный диабет, поджелудочная железа, инсулин, методы лечения, инновационные разработки, заболеваемость*

Сахарный диабет (СД) относится к одному из наиболее распространенных и социально значимых заболеваний в настоящее время. В нашей стране за последние несколько лет число пациентов, страдающих сахарным диабетом, увеличилось в 1,3 раза: по данным Государственного регистра больных сахарным диабетом в 2013 году было зарегистрировано 3,7 млн. пациентов, а в 2021 году – уже 4,9 млн. человек. При этом число больных сахарным диабетом первого типа, нуждающихся в ежедневных инъекциях инсулина, составляет 268 248 человек, среди которых в 2021 г. было зарегистрировано 8 945 новых случаев заболевания. Сахарный диабет является общемировой проблемой здравоохранения. По оценкам Международной Федерации Диабета, ежегодно в мире от сахарного диабета умирает около 4 миллионов человек, а количество больных должно увеличиться на 25% к 2030 году. При этом от осложнений, вызванных сахарным диабетом, умирает больше людей, чем от многих других серьезных недугов, включая рак, туберкулез, СПИД и COVID-19. В соответствии с официальными статистическими данными в России в 2017 г. смертность составила: СД1 – 2,3/100 тыс., СД2 – 68,4/100 тыс., другие типы СД – 0,8/100 человек/тыс. населения. Также можно привести данные динамики причин смерти за период с 2013 по 2017 годы: СД1: диабетические комы – 2,0→1,5%, инфаркт миокарда – 4,0→4,4%, нарушения мозгового кровообращения – 8,2→7,6%, сердечно-сосудистая недостаточность – 18,5→16,4%, хроническая почечная недостаточность – 6,1→6,0%; СД2: 0,2→0,2%, 4,5→4,5%, 12,7→12,2%, 29,0→28,6%, 1,2→1,8%, соответственно. Принимая во внимание статистические данные, которые демонстрируют, что количество людей, страдающих диабетом, неуклонно растет, а вместе с тем растет и преждевременная смертность от диабета, то все это свидетельствует о том, что сахарный диабет является одним из важнейших социально значимых заболеваний [1 2].

Целью данного исследования является изучение современных методов лечения сахарного диабета в разрезе их деления на традиционные и инновационные.

Сахарным диабетом люди страдают уже очень долгое время. Впервые об этом заболевании упоминается древнегреческими врачами Аретеем и Парацельсом. Сахарный диабет представляет собой патологию, характеризующуюся

хроническим повышением уровня сахара в крови вследствие нехватки инсулина в организме. Согласно современной классификации Всемирной организации здравоохранения, выделяют несколько видов диабета:

• Сахарный диабет 1 типа;

• Сахарный диабет 2 типа;

• Другие специфические типы: генетические дефекты, болезни поджелудочной железы, некоторые эндокринные заболевания (гипофиза, надпочечников, щитовидной железы), диабет, вызванный лекарственными препаратами;

• Диабет беременных (гестационный диабет).

При первом типе поджелудочная железа практически полностью перестает вырабатывать гормон инсулина. Единственное лечение в таком случае – регулярные, каждодневные инъекции инсулина. При диабете второго типа количество вырабатываемого инсулина может снижаться или оставаться в пределах нормы, но уровень глюкозы повышается из-за того, что ткани организма не реагируют на инсулин в крови. Если говорить о механизме возникновения данной патологии, то следует отметить, что поджелудочная железа организма человека состоит из экзокринных ациноцитов (клетки пирамидальной формы, вырабатывающие пищеварительные ферменты) и клеток протоковой системы, а также особых эндокринных клеток, скопления которых образуют островки Лангерганса. Островковые клетки можно классифицировать на 5 типов:

• альфа;

• бета;

• дельта;

• эпсилон;

• F-клетки.

Важно обратить внимание на β-клетки, основная функция которых определять потребность в инсулине и секретировать его в необходимом количестве. Ученые сходятся во мнении, что процессы развития диабета запускаются как раз тогда, когда уровень инсулина недостаточен для нормализации показателей глюкозы крови и развивается гипергликемия. Сахарный диабет 1 типа возникает вследствие аутоиммунного разрушения β-клеток. Ведение таких пациентов основано на заместительной инсулинотерапии. Причина развития СД 2 типа представляет комбинацию уменьшения β-клеточной массы, а также увеличение инсулинорезистентности (ткани попросту становятся не восприимчивы к инсулину). Особый интерес представляют больные первым типом, которые нуждаются в ежедневных инъекциях инсулина.

Для более полной характеристики сахарного диабета необходимо отметить функции и механизм действия инсулина. Инсулин представляет собой гормон поджелудочной железы, отвечающий за превращение глюкозы в гликоген печени и препятствующий образованию кетоновых тел в организме. Глюкоза поступает в организм с углеводами, а также из печени. Из крови глюкоза распределяется по клеткам всего организма, но самостоятельно проникнуть в клетки не может. Для этого в организме и есть гормон инсулин. Он вырабатывается бета-клетками островков поджелудочной железы и поступает оттуда непосредственно прямо в кровь (эндокринная функция).

Поджелудочная железа вырабатывает инсулин в двух режимах:

1) постоянном фоновом режиме (базальный инсулин)

2) в ответ на приемы пищи (болюсный инсулин).

Молекула инсулина состоит из двух полипептидных цепей. Одна из них содержит 21 аминокислотный остаток (цепь А), вторая – 30 (цепь В). Наиболее близкий по структуре к инсулину человека – бычий инсулин, который отличается только одной аминокислотой [3].

Согласно анатомо-терапевтическо-химической классификации (АТХ) различают инсулины короткого, среднего и длительного действия.

Инсулины короткого действия обычно принимают непосредственно перед едой или во время еды. Эти инсулины действуют очень быстро, ограничивая повышение уровня сахара в крови после еды. Важно избегать передозировки, чтобы свести к минимуму риск низкого уровня сахара в крови (гипогликемии).

• инсулин аспарт

• инсулин глулизин

• инсулин лизпро

Инсулины средней продолжительности действия обычно принимают перед едой. Эти инсулины также называют обычными или нейтральными инсулинами. Они действуют не так быстро, как инсулины быстрого действия, и поэтому могут быть более подходящими для некоторых людей.

• инсулин-изофан

Инсулины средней продолжительности действия или длительного действия в комбинации с инсулинами короткого действия. Инсулины средней продолжительности действия начинают действовать в течение первого часа после инъекции, после чего следует период пиковой активности, продолжающийся до 7 часов.

• инсулин аспарт

• инсулин двухфазный

• инсулин деглудек + инсулин аспарт

• инсулин лизпро двухфазный

Инсулины длительного действия инсулины, которые постоянно выделяются и могут сохраняться в организме до 24 часов. Их обычно принимают утром или вечером перед сном.

• инсулин гларгин

• инсулин деглудек
• инсулин детемир [4].

На мировом рынке общепризнан человеческий инсулин. Его широкое внедрение в практику, начиная с 1982 г., исключило все осложнения, характерные для животных аналогов. Многолетние исследования показали, что потребность в инсулине у пациентов, получавших человеческий инсулин, ограничена стабильной дозой, в то время как доза свиного монокомпонентного инсулина в тот же период увеличивалась примерно вдвое. Также стоит отметить, что при применении инсулинов животного происхождения может возникнуть аллергия, т.к. это чужеродный белок. Открытию инсулина мы обязаны Дж. Маклауду и Ф. Бантингу, которые были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине за свое изобретение в 1923 г. Несомненная важность этого открытия состояла в том, что раньше людям с сахарным диабетом был вынесен «смертный приговор», а сегодня такие пациенты живут, работают, занимаются спортом и ведут полноценную активную жизнь.

Человеческий инсулин можно получить двумя способами. Первый заключается в том, что в свином инсулине заменяют одну аминокислоту. Это полусинтетический метод. При втором методе с помощью генной инженерии заставляют кишечную палочку синтезировать аналог человеческого инсулина. Это биосинтетический метод.

Как уже было отмечено ранее, пациенты с диабетом первого типа нуждаются в каждодневных инъекциях инсулина. Ученые пытаются решить эту проблему всевозможными способами. Первые попытки лечения людей с данным диагнозом предпринимали еще до нашей эры. В настоящее время существуют и подвергаются клиническим и доклиническим испытаниям различные методы доставки данного гормона.

Одним из прорывов в лечении сахарного диабета послужила разработка имплантов. Разработками в этом направлении занимались такие компании, как Vertex и Viacyte. В контейнер помещаются стволовые клетки-предшественники поджелудочной железы. В организме эти клетки превращаются в островковую ткань. Это открытие внесли серьезный вклад в практику лечения диабета, однако по-прежнему актуальной является проблема отторжения организмом данного устройства, т.к. он воспринимает клетки как чужеродные. Пациенты должны постоянно принимать иммуносупрессивные препараты. Но новые задачи выдвигают и новые подходы к их решению: американские ученые предложили использовать для доставки клеток поджелудочной железы оболочку из пористых нановолокон. Оболочка в данном случае будет нести не только транспортную, но и защитную функцию.

Еще одной инновацией является инсулиновый патч, который клеится на плечо. На поверхности патча находится множество микроиголочек из полимера, которые способны реагировать на повышение уровня сахара в крови и выпускать дозу инсулина. На данный момент ожидается одобрение на проведение клинических испытаний на людях. Испытание на мышах и свиньях прошло успешно – патч смог следить за уровнем сахара при первом типе диабета в течение 20 часов.

Пероральный способ доставки инсулина неэффективен, поскольку обычные таблетки инсулина разрушаются желудком. Принципиально новое решение проблемы было предложено компанией Novo Nordisk, разработавшей «умную» таблетку, прикрепляемую к стенке желудка с помощью микроиглы, через которую осуществляется выпуск инсулина прямо в кровеносные сосуды. После этого процесса иголка открепляется и выходит через пищевод.

Некоторым больным трансплантируют клетки поджелудочной железы. Основная трудность в применении этого способа состоит в том, что пациенты опять же сталкиваются с необходимостью принимать иммунодепрессанты в течение всей жизни, как и в случае с инсулиновым патчем.

Инсулиновая помпа представляет собой медицинский прибор, с помощью которого осуществляется введение инсулина в кровь пациентам с сахарным диабетом пациентов. Инсулин подается в организм через систему гибких тонких трубочек. Они связывают резервуар с инсулином внутри прибора с подкожной жировой клетчаткой. Современная инсулиновая помпа не только осуществляет ввод инсулина, но и производит замер глюкозы примерно каждые пять минут и подает сигналы тревоги, когда сахар выходит за рамки нормы. Сегодня приборы очень маленькие и вводят инсулин через тонкую трубочку (катетер) и иглу, находящуюся под кожей больного. Помпы обладают целым рядом преимуществ, главным из которых является постоянный мониторинг уровня сахара в крови и как следствие непрерывный контроль гликемии в режиме реального времени. Также устройство позволяет растянуть введение болюсной дозы инсулина во времени. Многие помпы снабжены специальными программами, которые, учитывая индивидуальные параметры пациента (углеводный коэффициент и чувствительность к инсулину в разное время суток, целевую гликемию, время действия инсулина и др.).

Подкожные инъекции инсулина с помощью шприц-ручек. В 1922 году была первая произведена попытка инсулинотерапии. На сегодняшний день этот метод является самым изученным и «доработанным». Можно предположить, что он еще долго будет оставаться незаменимым. Схема терапии включает совмещение базального и болюсного инсулина. Дозы подбираются индивидуально в зависимости от уровня сахара в крови и объемов принимаемой пищи (рассчитывают количества хлебных единиц в порции). Шприц ручка – это прибор, который заполняется инсулином в специальных флаконах – картриджах.

Инъекционный порт используется с целью сокращения количества инъекций, уменьшения частоты образования синяков. При его использовании выполняется 1 прокол при установке самого айпорта, который можно носить 72 часа. Конструкция довольно простая: устройство крепится на кожу с помощью пластыря. На верхней части находится специальная мембрана, через которую производятся инъекции инсулина при помощи шприца или шприц-ручки. Лекарство поступает через специальную мягкую гибкую трубочку – канюлю.

Необходимо отметить, что несмотря на то, что человечество столкнулось с проявлениями диабета много лет назад, причины и механизмы этого заболевания еще изучаются, а лечить его начали только в первой четверти прошлого столетия. Нельзя не заметить, что при кажущейся многоаспектности и обширности исследований еще многие свойства недостаточно изучены. Тем не менее, в настоящее время сегодня активно ведутся разработки в этой области, что позволяет больным иметь надежду на более качественное лечение [5].

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение
76.01.11 Современное состояние и перспективы развития
76.01.14 Коммерческие вопросы, маркетинг, конъюнктура, реклама в медицине и здравоохранении
76.01.73 Медицинская статистика

ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральный Регистр сахарного диабета РФ [Электронный ресурс]. URL: http://sd.diaregistry.ru/ (Дата обращения: 07.09.2021).

2. Сахарный диабет в Российской Федерации: распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным Федерального регистра сахарного диабета, статус 2017 г. / И.И. Дедов // Сахарный диабет. 2018. Т. 21. N 3. С. 144-159. https://doi.org/10.14341/DM9686

3. Кудряшова Е. β-клетки поджелудочной железы при сахарном диабете [Электронный ресурс]. URL: http://actendocrinology.ru/archives/4914 (Дата обращения: 18.10.2021).

4. Анатомо-терапевтическо-химическая классификация АТХ. [Электронный ресурс]. URL: https://med.rnx.ru/db/db-atx/class451.html?#selectcl (Дата обращения: 10.09.2021).

5. Современные методы лечения диабета – обзор [Электронный ресурс]. URL: https://www.livemd.ru/tags/lechenie_diabeta/ (Дата обращения: 05.02.2022).

SUMMARY

TRADITIONAL AND INNOVATIVE METHODS FOR THE TREATMENT OF DIABETES

Peltola M.A., 1st year undergraduate
Academic advise: **Orlov A.S.**, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor,
chairholder of Economics and Management
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: peltola.margarita@pharminnotech.com

This article discusses modern approaches to the treatment of diabetes mellitus. A description of existing drugs for the management of patients with a similar diagnosis is given. Innovative methods of therapy are described and the importance of their introduction into wide medical practice is shown.

Keywords: *diabetes mellitus, pancreas, insulin, methods of treatment, innovative developments, morbidity.*

REFERENCES

1. Federal Register of Diabetes Mellitus of the Russian Federation. [Internet]. URL: http://sd.diaregistry.ru/ (Accessed: 07.09.2021). (in Russian).

2. Diabetes mellitus in the Russian Federation: prevalence, morbidity, mortality, parameters of carbohydrate metabolism and the structure of hypoglycemic therapy according to the Federal Register of Diabetes Mellitus, status 2017. / I.I. Dedov [et al.] // Diabetes mellitus. 2018. Vol. 21(3) P. 144-159. [Internet]. URL: https://doi.org/10.14341/DM9686 (Accessed: 07.09.2021). (in Russian).

3. Kudryashova E. β-cells of the pancreas in diabetes mellitus [Internet]. URL: http://actendocrinology.ru/archives/4914 (Accessed: 18.10.2021). (in Russian).

4. Anatomical-therapeutic-chemical classification of ATC. [Internet]. URL: https://med.rnx.ru/db/db-atx/class451.html?#selectcl (Accessed: 10.09.2021). (in Russian).

5. Modern methods of treatment of diabetes - an overview. [Internet]. URL: https://www.livemd.ru/tags/lechenie_diabeta/ (Accessed: 05.02.2022). (in Russian).

УДК 331.108

ИССЛЕДОВАНИЕ УДОВЛЕТВОРЕННОСТИ СИСТЕМОЙ ОБУЧЕНИЯ И ПОВЫШЕНИЕМ КВАЛИФИКАЦИИ ПЕРСОНАЛА АО «ФАРМАСИНТЕЗ-НОРД»

Петрова В.А., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Сафронова Ж.С.**, кандидат педагогических наук, доцент кафедры экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: petrova.valeriya@pharminnotech.com

Целью данного исследования было выявление удовлетворенности системой обучения и повышения квалификации персонала АО «Фармасинтез-Норд». В результате проведенного исследования были проанализированы данные, полученные в ходе опроса персонала. Было выявлено, что существенная часть персонала не удовлетворена имеющейся системой обучения и повышения квалификации АО «Фармасинтез-Норд».

Ключевые слова: *внутреннее обучение, внешнее обучение, повышение квалификации.*

На сегодняшний день фармацевтическая отрасль испытывает дефицит кадров и нуждается в высококвалифицированных специалистах. Для обеспечения предприятия высококвалифицированными кадрами необходима эффективная система обучения и повышения квалификации, направленная на своевременное обучение персонала, а также поддержание необходимого уровня знаний [2,3].

Цель исследования: выявление удовлетворенности системой обучения и повышения квалификации персонала на АО «Фармасинтез-Норд» [1].

Задачи:

1. Проанализировать основные документы компании по системе обучения;
2. Разработка вопросов анкеты для выявления удовлетворенности системы обучения;
3. Определить выборку участников опроса подразделений фармацевтического предприятия АО «Фармасинтез-Норд»;
4. Провести опрос сотрудников подразделений и проанализировать результаты;
5. Представить результаты опроса и сделать выводы.

В качестве методов исследования были использованы: опрос-анкетирование, метод сравнения, системного анализа.

Анкета состояла из 13 вопросов, включающая 6 закрытых вопросов с вариантами ответов и 7 открытых вопросов для уточнения ответов на закрытые вопросы. Выборка составлена путем случайных чисел. В результате выборку составили сотрудники производственных подразделений, службы качества, дирекции главного инженера, проходившие обучение и имеющие опыт работы в АО «Фармасинтез-Норд» не более 3 лет. В исследовании приняло участие 49 сотрудников. Результаты опроса об удовлетворенности персонала системой обучения и повышения квалификации представлены ниже.

По результатам опроса было выявлено, что лишь 51% респондентов ранее имел опыт работы на фармацевтическом предприятии (рис. 1).

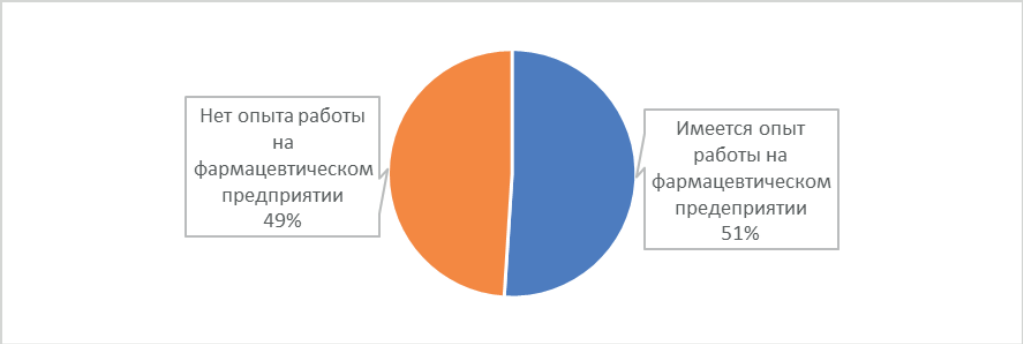


Рисунок 1. Опыт работы на фармацевтическом предприятии

Ответы на вопрос, ваш опыт работы в АО «Фармасинтез-Норд» показали, что 24% респондентов имеют опыт работы свыше двух лет, 41% респондентов от полугода до двух лет, 35% респондентов менее полугода. Данные ответы представлены на рисунке 2.

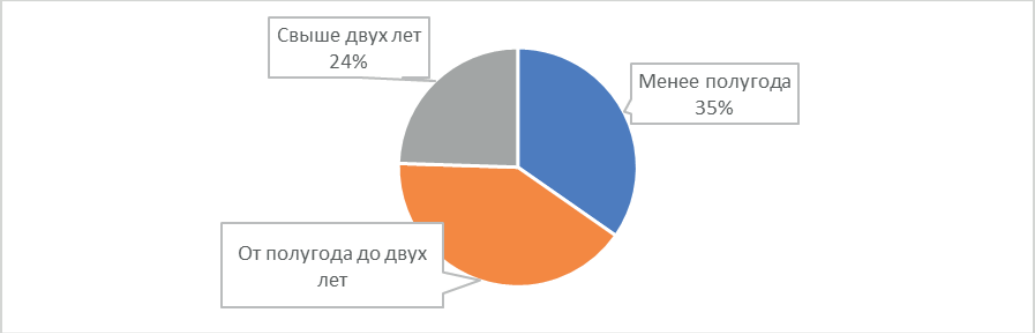


Рисунок 2. Опыт работы в АО «Фармасинтез-Норд»

Ответы на вопросы об образовании распределились следующим образом: 87% опрошенных имеет высшее образование, остальные 13% – имеют среднее специальное образование (рис. 3).

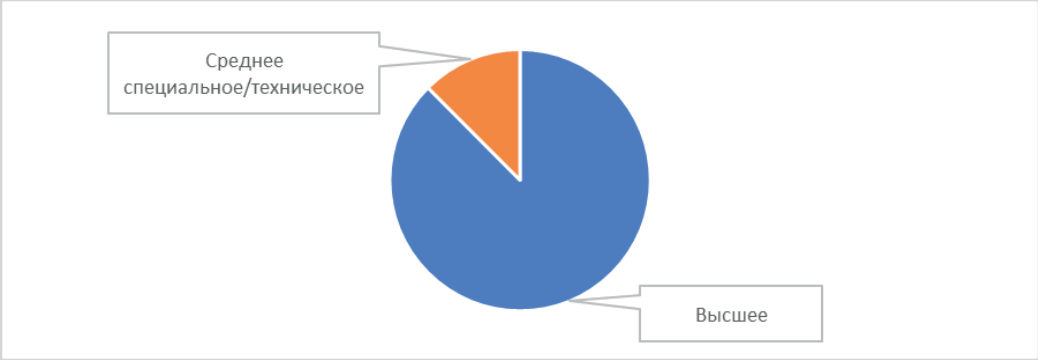


Рисунок 3. Уровень образования

Результаты ответов показали, что предприятие располагает высоко образованными кадрами, занимающими различные должности, имеет высокий научный потенциал.

Ответы на вопросы об участии во внутреннем обучении следующие: 94% сотрудников принимали участие во внутреннем обучении на предприятии, 6% сотрудников не принимали участие во внутреннем обучении компании, заметим, что из них 4% сотрудников находятся на испытательном сроке и еще не успели посетить внутренние обучения, а 2% опрошенных – руководящие должности, которые обычно меньше всего вовлечены в процесс внутреннего обучения (рис. 4).

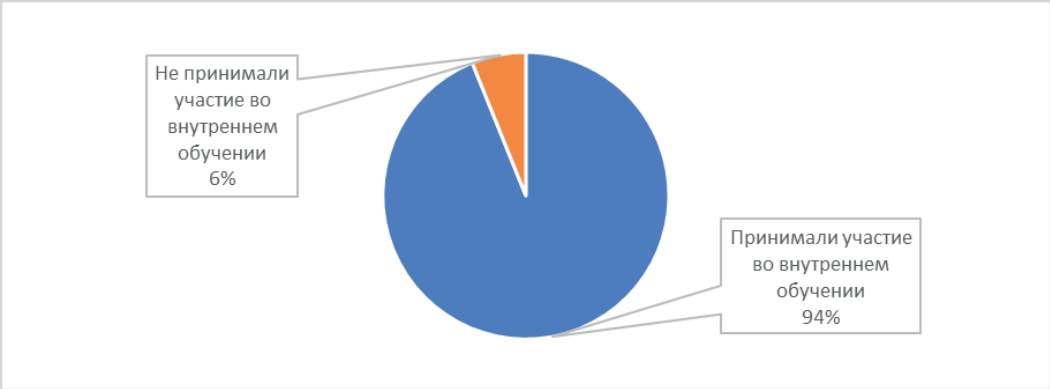


Рисунок 4. Участие во внутренних обучениях

На вопрос о том, проходили ли сотрудники обучение от предприятия в других учебных заведениях, были получены следующие ответы: 67% сотрудники предприятия проходили обучение только на базе АО «Фармасинтез-Норд», 33% проходили внешнее обучение от АО «Фармасинтез-Норд» на базе иного учебного заведения (рис. 5).

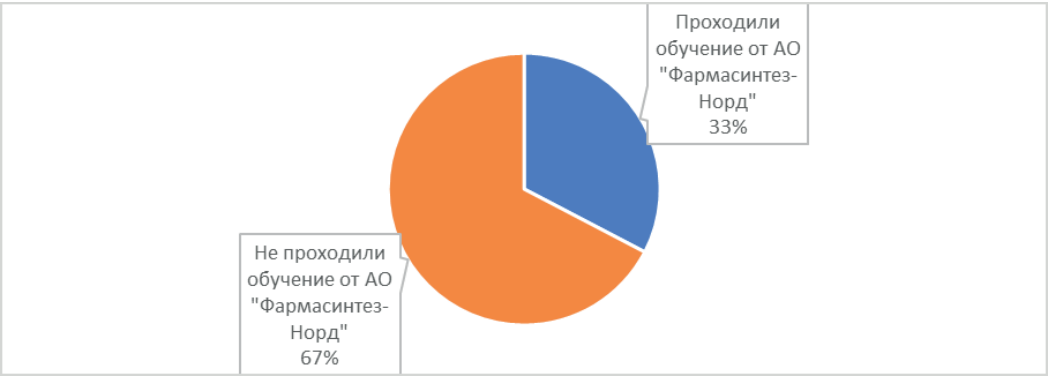


Рисунок 5. Участие во внешнем обучении

Анализ ответов показал, что большинство сотрудников вовлечены только во внутреннее обучение предприятия, которое заинтересовано в систематическом обучении на производстве.

При этом, исходя из открытых ответов на вопросы анкеты о достаточности внутреннего обучения, всего 31% опрошенных считает, что внутреннего обучения на АО «Фармсинтез-Норд» недостаточно, 23% из них утверждают, что обучения крайне недостаточно, 35% опрошенных затрудняются ответить на данный вопрос, а 34% опрошенных считают достаточным объем внутреннего обучения (рис. 6).

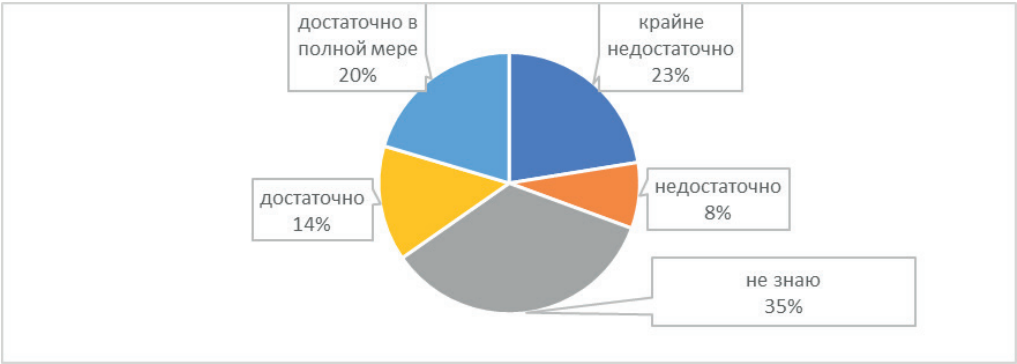


Рисунок 6. Достаточность обучения на АО «Фармасинтез-Норд»

По видам обучения 43% опрошенных отдают предпочтение лекциям, 37% семинарам, 8% видео и столько же тренингам. Только 4% опрошенных предпочитают самообучение (рис. 7).

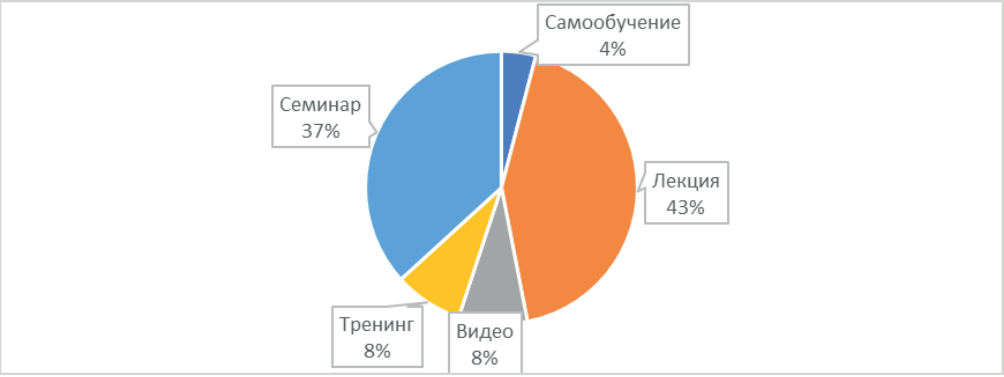


Рисунок 7. Предпочтение видов обучения

Поскольку на предприятии одним из ключевых направлений обучения является соблюдение стандартов GMP, одним из них является обучение правилам переодевания и поведения персонала в чистых/неконтролируемых/контролируемых помещениях, респондентам был задан вопрос об удовлетворенности данным обучением. Результат опроса показал, что 84% опрошенных удовлетворены данным обучением, 12% – не удовлетворены, 4% – не дали четкого ответа на поставленный вопрос (рис. 8).

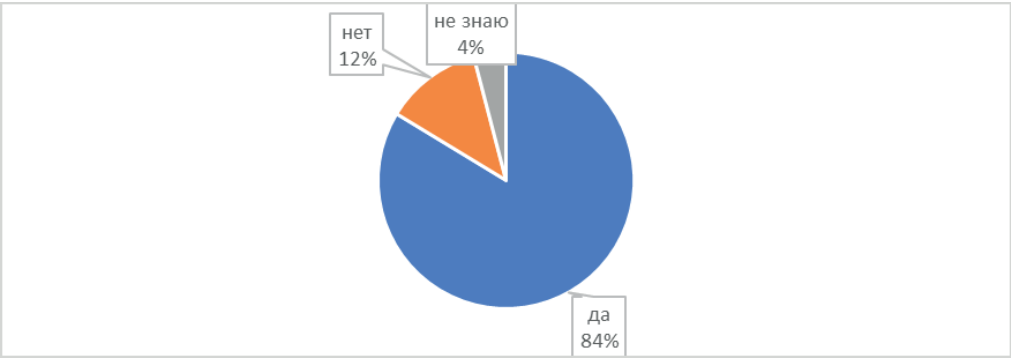


Рисунок 8. Удовлетворенность обучением правилам переодевания и поведения персонала в чистых/неконтролируемых/контролируемых помещениях (стандарт GMP)

Результаты исследования показали, что 50% опрошенных имеют опыт работы на других фармацевтических предприятиях и предположительно имеют опыт обучения и повышения квалификации в профессиональной сфере, а значит могут выделить особенности системы обучения.

Несмотря, на то, что предприятие функционирует с 2016 года лишь 24% персонала, проходившего обучение, имеют опыт работы на АО «Фармасинтез-Норд» от 2 до 3 лет.

87% опрошенных имеют высшее образование, что может свидетельствовать о том, что предприятие располагает высоко образованными кадрами.

Лишь 6% опрошенных не участвовали во внутренних обучениях компании, что может свидетельствовать о том, что процент вовлеченности сотрудников во внутреннее обучение высокий. Однако, лишь 33% опрошенных проходили внешние обучения, либо курсы повышения квалификации.

На вопрос о достаточности внутреннего обучения лишь 34% опрошенных ответили удовлетворительно, из которых 20% считает, что обучения достаточно в полной мере, 14% – считает достаточным. Остальные 66% опрошенных считают, что внутреннего обучения в компании недостаточно.

Необходимо помнить о том, что система обучения на фармацевтическом предприятии занимает особое место в системе качества. Персоналу фармацевтического предприятия необходимо регулярно проходить обучения, обновлять и поддерживать свои знания. Однако, полученные в ходе опроса данные могут свидетельствовать о том, что система обучения и повышения квалификации на предприятии не достаточно развита, и требует совершенствования. На данный момент на предприятии ведется совершенствование системы обучения и повышения квалификации, также ведется разработка и внедрение модели геймификации в системе обучении и повышения квалификации для производственного персонала, которая способна повысить удовлетворенность работников обучением на АО «Фармасинтез-Норд».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

06.00.00 Экономика и экономические науки

06.77.67 Организация труда. Нормирование труда

ЛИТЕРАТУРА

1. Фармасинтез. [Электронный ресурс]. URL: https://pharmasyntez.com (Дата обращения 25.02.2022).

2. Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 N 916 (ред. от 18.12.2015) «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики». [Электронный ресурс]. URL: https://www.vgnki.ru/assets/files/normativy/916.pdf (Дата обращения 25.02.2022).

3. Сафронова Ж.С., Генкин И.О. Разработка модели геймификации системы обучения и повышения квалификации производственного персонала фармацевтического предприятия // Вестник Евразийской науки. 2022. Т. 14. N 1.

SUMMARY

RESEARCH OF SATISFACTION WITH THE TRAINING SYSTEM AND ADVANCED TRAINING OF THE STAFF OF JSC «PHARMASYNTHESIS-NORD»

V.A. Petrova, 2-year master's student

Supervisor: **Safronova Zh.S.**, Candidate of Pedagogical Sciences, Associate Professor

St. Petersburg State Chemistry and Pharmaceutical University

197376, St. Petersburg, Prof. Popova, 14, Russian Federation

E-mail: petrova.valeriya@pharminnotech.com

The purpose of this study was to identify satisfaction with the system of training and advanced training of personnel of JSC «Pharmasynthesis-Nord». As a result of the conducted research, the data obtained during the staff survey were analyzed. It

was revealed that a significant part of the staff is not satisfied with the existing system of training and advanced training of JSC «Pharmasintez-Nord».

Keywords: *internal training, external training, professional development.*

REFERENCES

1. The official website of the Pharmasynthesis group of companies. [Internet]. URL: https://pharmasyntez.com (Accessed 25.02.2022). (in Russian)

2. Order of the Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation dated 14.06.2013 N 916 (ed. dated 18.12.2015) «On approval of the Rules of Good Manufacturing Practice». [Internet]. URL: https://www.vgnki.ru/assets/files/normativy/916.pdf (Accessed: 25.02.2022). (in Russian).

3. Safronova Zh.S., Genkin I.O. Development of a gamification model for the system of training and advanced training of production personnel of a pharmaceutical enterprise // Bulletin of Eurasian Science. 2022. Vol. 14(1). (in Russian)

УДК 61:615.15-378.147

ПОДХОДЫ К РАЗВИТИЮ ПРОЕКТНЫХ КОМПЕТЕНЦИЙ В РАМКАХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ ВЫСШЕГО И ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО И МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Пимонова Е.Э., студ. 3 курса
Руководитель: **Ильинова Ю.Г.**, канд. фарм. наук, доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А, Российская Федерация
E-mail: elizaveta.pimonova@spcpu.ru

В статье рассматриваются вопросы формирования умений управления проектами у обучающихся медицинских и фармацевтических ВУЗов. Современный выпускник, для повышения своей ценности на рынке труда, должен быть способен к формулированию проблем и поиску их решения, корректировке и контролю работ. Для развития этих умений необходимо освоение универсальной компетенции управления проектами. Проведен анализ образовательных программ медицинских и фармацевтических ВУЗов России по направлениям подготовки 33.05.01 «Фармация», 31.05.01 «Лечебное дело» и 33.08.02 «Управление и экономика фармации». Из 42 рассмотренных учреждений проектные дисциплины представлены в 12%. Сделан вывод об отсутствии базовой учебной дисциплины, формирующей проектные компетенции. По результатам сравнения полученных данных с аналогичными ведущих фармацевтических университетов мира, установлена недостаточность внедрения проектных дисциплин в современном медицинском и фармацевтическом образовании в Российской Федерации.

Ключевые слова: *управление проектами, фармацевтическое образование, проектные компетенции, формирование компетенций, университет.*

Сфера здравоохранения и фармации характеризуется непрерывным стремительным развитием, направленным на повышение качества медицинских и фармацевтических услуг, предоставляемых потребителям [1]. Для подготовки конкурентоспособных фармацевтических специалистов, обладающих современными навыками, необходима непрерывная актуализация образовательных программ. По данным международной фармацевтической федерации существует десять основных направлений занятости людей, имеющих фармацевтическое образование [2]. В каждом из них могут быть применены навыки проектного менеджера: умение планировать и организовывать, анализировать проблему и находить пути их решения; навыки коммуникации и сотрудничества, адаптивность, лидерство [3].

В данный момент на мировом рынке труда создается большое количество вакансий проектных менеджеров и проектных исполнителей. По данным международного сайта для поиска вакансий PharmiWeb на 21 января 2022 года представлено 844 вакансии в области проектного менеджмента[4]. Распределение вакансий проектного менеджмента в фармации по сферам деятельности представлено на рисунке:

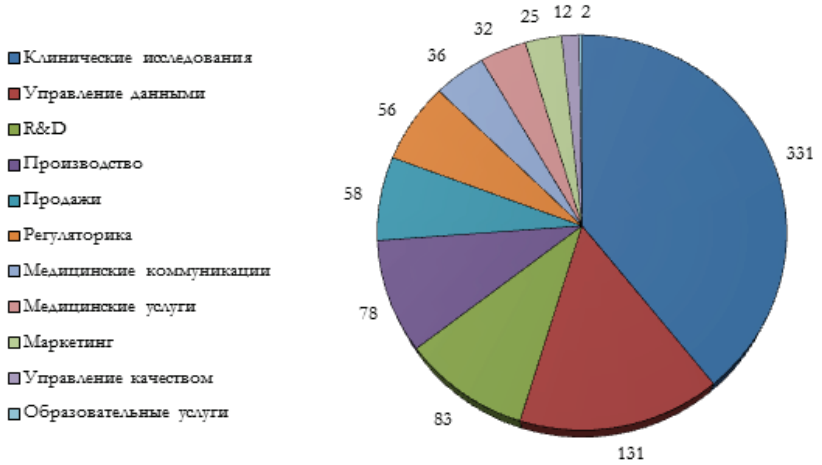


Рисунок. Распределение количества вакансий проектного менеджмента в фармации по сферам деятельности

Специалисты с проектными умениями востребованы в сфере фармации и здравоохранения. Исследовательские работы, написание статей также могут быть рассмотрены в качестве проекта, что позволяет оптимизировать реализации идеи с помощью применения проектных навыков. Это позволяет сделать вывод об актуальности формирование проектных компетенций при подготовке фармацевтических специалистов.

Цель настоящего исследования – изучение образовательных программ и особенности формирования проектных компетенций в медицинских и фармацевтических ВУЗах.

В рамках данной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Изучение наименований компетенций выпускника медицинских и фармацевтических ВУЗов Российской Федерации, индикаторов их достижения;
2. Формирование и анализ перечня дисциплин, в рамках которых представлена компетенция;
3. Сравнительный анализ полученных данных по Российским медицинским и фармацевтическим ВУЗам с ведущими университетами мира.

Материалы и методы

Был проведен логический и контент-анализ основных профессиональных образовательных программ по направлениям подготовки 33.05.01 «Фармация», 31.05.01 «Лечебное дело» и 33.08.02 «Управление и экономика фармации», представленных на официальных сайтах университетов. Образовательные программы надлежащий материал для исследования, так как содержат информацию о наименовании компетенций, индикаторах их достижения, а также отражают распределение компетенций по дисциплинам. Были исключены образовательные организации, не осуществляющие подготовку специалистов по указанным направлениям. Образовательные учреждения были отобраны согласно перечню подведомственных организаций – учреждений высшего профессионального образования Министерства Здравоохранения Российской Федерации [5].

Результаты обсуждения

Количество медицинских и фармацевтических высших учебных заведений России – 46. На сайтах 42 из них были найдены основные профессиональные образовательные программы специальностей 33.05.01. «Фармация» – 26, 31.05.01. «Лечебное дело» – 39, 33.08.02. «Управление и экономика фармации» – 16. Компетенциями, необходимыми для получения навыков управления проектами являются: универсальная компетенция 2 (УК-2) – «Способен управлять проектами на всех этапах его жизненного цикла» для уровня образования «Специалитет» и УК-2 – «готовностью к управлению коллективом, толерантно воспринимать социальные, этнические, конфессиональные и культурные различия» для уровня образования «Ординатура». Проведен анализ формирования компетенции в изучаемых дисциплинах. Принято во внимание, что компетенция может реализовываться через несколько дисциплин. Результаты представлены в таблице.

Таблица – Распределение проектных компетенций по дисциплинам

Наименование дисциплины, формирующей компетенцию	Количество вузов, реализующих дисциплину		
	33.05.01 «Фармация»	31.05.01 «Лечебное дело»	33.08.02 «Управление и экономика фармации»
Аналитическая химия	3	-	-
Биология	4	5	-
Биоэтика	2	9	-
Общественное здоровье и здравоохранение	2	4	1
Педагогика	-	-	4
Проектная деятельность в здравоохранении	-	1	-

Наименование дисциплины, формирующей компетенцию	Количество вузов, реализующих дисциплину		
	33.05.01 «Фармация»	31.05.01 «Лечебное дело»	33.08.02 «Управление и экономика фармации»
Проектная деятельность в фармации	1	-	-
Проектное управление	-	1	-
Управление инновациями в фармации	-	-	1
Управление и экономика фармации	6	-	14
Управление проектами	1	1	-
Управление проектами и командообразование	2	-	-
Фармацевтическая технология	11	-	-
Фармацевтическая химия	11	-	-
Философия	5	16	-
Прочие дисциплины	14	35	17

Полученное распределение говорит об отсутствии лидирующей дисциплины, через которую проектные компетенции реализовали более 50% рассмотренных ВУЗов.

Из приведенного перечня выделены дисциплины, непосредственно связанные с проектной деятельностью:

• проектная деятельность в здравоохранении,
• проектная деятельность в фармации,
• проектное управление, управление проектами,
• управление проектами и командообразование,
• управление инновациями в фармации

Их реализуют 5 учебных заведений из 42 рассмотренных. Доля медицинских фармацевтических ВУЗов России, реализующих проектные компетенции через соответствующие дисциплины, по всем рассматриваемым направлениям подготовки составляет 12%. По направлению подготовки 33.05.01 «Фармация» – 15%.

В учебные планы ведущих мировых фармацевтических университетов по рейтингу Quacquarelli Symonds, оценивающей уровень образования [6] включены дисциплины «Управление проектами» и «Командообразование». В целях исследования были приняты к изучению только университеты со специальностью «фармация», исключая специальность «фармакология». Результаты показали, с использованием проектных дисциплин производят подготовку специалистов в области фармации 76% указанных университетов. Это значительно превышает долю направленной подготовки по управлению проектами и командообразованию в Российских медицинских и фармацевтических ВУЗах.

Заключение

По результатам проведенного исследования можно выделить следующие ключевые положения: в Российских медицинских и фармацевтических ВУЗах присутствуют учебные компетенции, результатом и индикатором достижения является способность выпускника управлять проектами на всех этапах его жизненного цикла, причем задача по формированию проектных компетенций распределена между различными предметами, то есть компетенция могут реализовываться в рамках курса дисциплины лишь частично. Такой подход отличает Российские медицинские и фармацевтические ВУЗы от ведущих зарубежных университетов, которые уделяют большее внимание подготовке фармацевтических специалистов в области управления проектами (76% к 15%).

Анализ мирового рынка труда показывает востребованность специалистов по управлению проектами. В то же время изучение образовательных программ и особенностей формирования проектных компетенций в медицинских ВУЗах России показывает недостаточность унификации проектного образования в России, при наличии современных образовательных программ, включающих проектные и управленческие компетенции, то есть отвечающих спросу на квалифицированных специалистов в данной области.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.75.33 Медицинское и фармацевтическое образование

ЛИТЕРАТУРА

1. Трофимова Е.О., Наркевич И.А., Карасавиди А.О. Образовательная инициатива международной фармацевтическом федерации. Тенденции в развитии фармацевтического образования // Ремедиум. 2013. N 12. P. 40-46.

2. Transforming the global pharmaceutical workforce. [Internet]. URL: https://www.fip.org/workforce (Accessed: 20.02.2022)

3. Ильинова Ю.Г. Пухакайнен Ю.А., Давыдова Е.М. Управление проектами в фармацевтической индустрии (обзор литературы) // Инновационные технологии, экономика и менеджмент в промышленности : сборник научных статей XI международной научной конференции. Волгоград. 18–19 ноября 2021 года. 2021. С. 72-75.

4. Pharmiweb.Jobs. [Internet]. URL: https://www.pharmiweb.jobs/jobs/ (Accessed: 16.01.2022).

5. Перечень федеральных государственных бюджетных учреждений, находящихся в ведении Министерства здравоохранения Российской Федерации. [Электронный ресурс]. URL: https://minzdrav.gov.ru/ministry/informatsiya-o-podvedomstvennyh-ministerstvu-zdravoohraneniya-rossii-organizatsiyah. (Дата обращения 02.02.2020)

6. QS World University Rankings by Subject 2021: Pharmacy & Pharmacology // [Internet]. URL: https://www.topuniversities.com/university-rankings (Accessed: 18.01.2022).

SUMMARY

APPROACHES TO THE DEVELOPMENT OF PROJECT COMPETENCIES WITHIN THE EDUCATIONAL PROGRAMS OF HIGHER AND ADDITIONAL PHARMACEUTICAL EDUCATION

Pimonova E.Je. 3nd year student
Academic advise: **Il'inova Ju.G**. Candidate of Pharmaceutical Sciences, docent.
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov, St. Petersburg, 1970022, Russian Federation.
E-mail: elizaveta.pimonova@spcpu.ru

The article deals with the issue of the formation of project management skills among specialists in the field of medicine and healthcare in the learning process. A modern graduate must be able to formulate problems and find solutions to them, adjust and control working processes in order to increase his worth in the labor market. The analysis of educational programs of medical and pharmaceutical higher educational institutions (universities) of Russia in the areas of training 33.05.01 «Pharmacy», 31.05.01 «Medical business» and 33.08.02 «Management and economics of pharmacy» was carried out. Of the 42 reviewed project disciplines are represented in 12%. It is concluded that there is no prevailing academic discipline that forms project competencies. According to the results of comparing the data obtained with those of the leading pharmaceutical universities of the world, the insufficiency of project disciplines in modern medical and pharmaceutical education in the Russian Federation has been established.

Keywords: *Project management, pharmaceutical education, project competencies, competence formation, university.*

REFERENCES

1. Trofimova E.O., Narkevich I. A., Karasavidi A.O. Pharmacy education initiative of the International pharmaceutical Federation. Trends in pharmaceutical education // Remedium. 2013. N 12. P. 40-46. (in Russian).

2. Transforming the global pharmaceutical workforce. [Internet]. URL: https://www.fip.org/workforce (Accessed: 20.02.2022)

3. Ilinova Yu.G., Puhakainen Yu.A., Davydova E.M. Project management in the pharmaceutical industry (literature review) // Innovative technologies, economics and Management in Industry : Collection of scientific articles of the XI International Scientific Conference. Volgograd. November 18-19. 2021. 2021. P. 72-75. (in Russian).

4. Pharmiweb.Jobs. [Internet]. URL: https://www.pharmiweb.jobs/jobs/ (Accessed: 16.01.2022).

5. List of federal state budgetary institutions under the jurisdiction of the Ministry of Health of the Russian Federation. [Internet]. URL: https://minzdrav.gov.ru/ministry/informatsiya-o-podvedomstvennyh-ministerstvu-zdravoohraneniya-rossii-organizatsiyah. (Accessed: 02.02.2020). (in Russian).

6. QS World University Rankings by Subject 2021: Pharmacy & Pharmacology // [Internet]. URL: https://www.topuniversities.com/university-rankings (Accessed: 18.01.2022).

УДК 338.001.36

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКОСИСТЕМЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СТАРТАПОВ НА ПРИМЕРЕ ИННОВАЦИОННОГО ЦЕНТРА «СКОЛКОВО» И КРЕМНИЕВОЙ ДОЛИНЫ

Полякова Ю.Ю., магистрант 1 года обучения
Научный руководитель: **Коваленко А.В.**, к.экон.н., доцент кафедры экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: polyakova.yuliana@pharminnotech.com

В работе представлен обзор истории возникновения и развития инновационных центров в Кремниевой Долине в Соединенных Штатах Америки и инновационного центра «Сколково» в России. В результате проведенного анализа были сопоставлены две экосистемы фармацевтических стартапов.

Ключевые слова: *стартап, экосистема стартапов, фармацевические стартапы, венчурные фонды, инвестиции, инновации.*

Инновационные стартапы – это одна из важнейших движущих сил развития экономики, которыми уже давно активно занимаются во многих современных городах мира. В России тоже, особенно в последнее время, приобретают боль-

шую популярность инновационные стартапы. Их известность вызвана тем, что помимо научно-технического развития они привносят новые продукты, товары и услуги, которые значительно упрощают и улучшаю жизнь людей.

Целью данной работы является анализ экосистемы фармацевтических стартапов в России и Соединенных Штатах Америки на примере инновационного центра «Сколково» и Кремниевой Долины соответственно.

Задачи:

1. Изучить историю возникновения и источники финансирования центра «Сколково» и Кремниевой долины.
2. Изучить особенности экосистем инноваций в сфере фармацевтики в России и Америке.
3. Сравнить полученные в ходе изучения результаты.

Впервые термин «экосистема» был применен относительно экономической деятельности в 1993 году Джеймсом Муром. После этого он прочно закрепился, и его часто используют в таких выражениях, как «инновационная экосистема», «предпринимательская экосистема», «бизнес-экосистема». Экосистема в экономической деятельности означает экономическое сообщество, в котором производители и потребители, поставщики и конкуренты, производимые товары и услуги – все не просто взаимосвязаны, но еще и дополняют друг друга, и вектор которых направлен в сторону развития.

Одной из разновидностей бизнес-экосистем является стартап-экосистема. Стартап – это проект, основанный на инновационной идеи и находящийся в поисках финансирования для развития. Экосистема применительно для стартапов означает систему или условия, стимулирующие разработки и инновации, а также оказывающие значительную поддержку на начальных этапах бизнеса. Стартап-экосистему составляют как недавно появившиеся стартапы, так и ранее существующие бизнесы, которые активно им помогают. К системе относятся создатели идей и инвесторы, а также условия, созданные государством и владельцами частных бизнесов. [1]

На сегодняшний день во многих современных городах мира есть свои стартап-экосистемы. [2] На первом месте рейтинга лучших городов для стартапа находится Кремниевая Долина, второе место делят Нью-Йорк и Лондон, за ними идут Пекин, Бостон, Лос-Анджелес, Тель-Авив, Шанхай, Токио и Сиэтл. [3]

Рассмотрим подробнее процесс формирования экосистем стартапов на примере самой известной экосистемы – Кремниевой Долины в Соединенных Штатах Америки и инновационного центра «Сколково» в России.

Понятие «Кремниевая Долина» довольно условно, и на карте Америки никак не обозначается. Впервые это название использовал журналист Дон Хефлер в 1971 году в серии статей «Кремниевая долина США». Дело в том, что в то время там производили полупроводники из кремния. А индустрия производства полупроводниковых приборов стала основополагающей в истории развития долины как технологического центра. Сегодня к территории Кремниевой Долины принято относить северную часть долины Санта-Клара и прилегающей к ней с северо-запада районы Сан-Франциско и восточный берег залива Сан-Франциско. Негласно столицей Кремниевой Долины называют Сан-Хосе. Стартап-экосистема начала свое формирование со Стэнфордского университета. Университет был основан по очень трагичной причине – смерти единственного сына в семье сенатора и экс-губернатора Калифорнии Лиланда Стэнфорда. Открытие состоялось в 1891 году. В качестве девиза университета была выбрана фраза «Веет ветер свободы». И это не случайно. С самого основания университет был неподвластен делению по религиозному и гендерному признакам, там преподавались гуманитарные и точные науки, и университет был открыт для новых течений развивающейся страны.

В истории Стэнфорда есть два ключевых момента, значительно повлиявших на развитие долины – это создание Стэнфордского индустриального парка и возникновение полупроводниковой индустрии. Первое событие связано с Фредериком Терманом – профессором и деканом инженерного факультета Стэнфорда. В связи с возросшей потребностью у студентов в финансах он предлагал им основывать собственные компании, получая прибыль с исследований. Помимо этого было известно, что у университета есть большой участок земли, который нельзя было продать. Терман выступил с предложением о сдаче в аренду территории для офисных зданий. Его идею поддержали, и так образовался Стэнфордский технопарк. Студенты смогли работать неподалеку от места учебы, а университет получал дополнительный доход.

Другой важной фигурой долины является физик Уильям Шокли, который с группой ученых открыл транзисторный эффект. После он основал собственную компанию Shockley Semiconductor Laboratory, в которую привлек молодых специалистов. Их основной задачей стала замена германия при производстве транзисторов на кремний, как на менее дорогой и более температуроустойчивый материал. Но в результате определенных недопониманий восемь сотрудников покинули компанию Шокли и основали свою – Fairchild Semiconductor. Компания Шокли была убыточной, в то время как Fairchild Semiconductor оказалась очень успешным проектом, который удачно реализовывал производство транзисторов из кремния. По сути, с этой компании началась история той Кремниевой Долины, которую мы знаем сейчас. [4]

После этих двух событий на территории Стэнфорда стало появляться все больше компаний. Это те, которые основывали сами студенты, или те, которые просто решили переехать ближе к университету. На сегодняшний день на территории Кремниевой Долины расположены штаб-квартиры таких крупных компаний как Apple, Google, Visa, Netflix, Intel и другие.

Важным является вопрос финансирования стартапов в Кремниевой Долине. Основной поддержкой и источником инвестирования проектов в Долине являются венчурные фирмы, которые выдают венчурный капитал молодым компаниям, а взамен получают долю в компании. Венчурный от английского слова «venture» означает рискованный, то есть это капитал, который имеет повышенный риск. Практически каждый человек, находящийся на территории Кремниевой

Долины, вынашивает в голове идеи для стартапа. Конечно, большая часть их них окажется провальной, но будут и те, которые добьются больших успехов. Сложность и высокорискованность венчурного капитала и заключается в том, что не всегда можно сразу разглядеть успешную бизнес-идею. Но при этом эффективность венчурного капитала высока, так как, в свое время, он помог в развитии таким компаниям, как Starbuks, Fedex и Microsoft.

Однако помощь венчурные компании начинают оказывать не на самых первых этапах образования компании. В начале основатели компаний могут надеяться лишь на себя, семью и своих друзей в вопросах финансирования. В дальнейшем им, если они смогли перейти на следующий раунд, могут помочь финансовой поддержкой бизнес-ангелы и акселераторы. Бизнес-ангелы – это частные инвесторы, вкладывающие часть своих средств в стартапы. А акселераторы – это компании, поддерживающие инновационные компании. Поддерживать они могут путем обучения, предоставления рабочего пространства, финансирования, а также сотрудничества со специалистами в разных сферах. И только в том случае, когда стартап смог пережить все эти этапы развития компании, он обращается за помощью к венчурным капиталистам. После этого, «выжившие» компании смогут выйти на IPO (процесс размещения акций на бирже) или начать процесс слияния и поглощения корпорациями. Этот процесс называется цикл венчурного капитала. [5]

Важно отметить то, что венчурные капиталисты тесно взаимодействуют с основателями стартапов, в которые они вложились. Это одна из основных отличительных черт по сравнению с частными инвесторами. И их взаимодействие не ограничено лишь отчетами о проделанной работе и финансовой сводке, они действительно заинтересованы в проектах и хотят им помочь.

И еще об одной важной составляющей – о налогах в Кремниевой Долине. Калифорния – штат, на территории которого как раз и располагается Долина, – имеет одни из высоких налоговых ставок. Это распространяется на подоходный налог. Ставка составляет 13,3% и 8% для физических лиц с доходом от 45,7 до 57,8 тысяч долларов. Например, в другом штате США Техасе подоходного налога нет вообще. В Калифорнии также есть корпоративный налог, ставка которого – 8,84%, и налог с продаж со ставкой 7,25% против Техаса с 6,25%. В настоящее время высокие налоговые ставки являются одной из весомых причин, по которой некоторые крупные предприятия стремятся переехать в места с более низкими налогами.

Теперь об инновационном центре «Сколково». Впервые мысли о создании технопарков на территории России появились в девяностые годы. Нужно было выбрать территорию для строительства. Как возможные площадки были предложены Сибирь, Приморье, Ленинградская область, Дубна и Черноголовка. Далее президент Владимир Путин разрешил начать строительство инновационных центров в разных частях России. Вопреки всем ожиданиям, площадки не показали эффективных результатов. Тогда было принято решение о строительстве единого инновационного центра, который смог бы обеспечить соответственные условия для развития технологий в стране. Такое место было найдено в Одинцовском районе Московской области – деревня Сколково. Об этом сообщил 18 марта 2010 года Дмитрий Медведев. А 14 декабря 2010 года было объявлено о начале строительства центра.

К моменту начала строительных работ было привлечено уже большое количество известных людей из сфер науки и бизнеса, поэтому был организован виртуальный старт центра. Это давало возможность резидентам Сколково получать налоговые льготы еще до того, как были построены офисы. [6] За такой короткий промежуток, к концу 2010 года уже набралось 28 резидентов Сколково, а 11 из них смогли получить гранты. На данный момент у Сколково насчитывается 3240 резидентов. [7]

В Сколково сейчас есть четыре сферы инновационных разработок: биомедицины (Биомед), информатики и компьютеров (ИТ), энергоэффективности (Энерготех) и передовых промышленных инноваций (Промтех).

На базе Фонда Сколково реализуется несколько образовательных проектов. Это Открытый университет – программа с бесплатным образованием для всех желающих, которая предоставляет различные курсы, лекции, семинары, практики, стажировки. Сколковский институт науки и технологий, который принимает всех желающих, имеющих степень бакалавра или проходящих обучение по программам аспирантуры в любых вузах России и зарубежья. По окончании университета выпускнику вручается диплом государственного образца. Еще одним проектом является международная гимназия Сколково, принимающая детей работников технопарка от 7 до 17 лет.

Также Сколково предоставляет своим резидентам налоговые льготы. А именно, в момент становления участником Фонда происходит освобождение от уплаты НДС на период до 10 лет. Но это относится к тем участникам, которые осуществляют оборот товаров внутри страны. Если же товары из-за рубежа, то такие резиденты обязаны выплачивать налог полностью. Льготы коснулись и налога на прибыль. В том случае, когда у компании выручка за год оказалась больше миллиарда рублей, ставка налога становится 0%. Но и здесь есть один важный нюанс – общая прибыль за период не может превышать трехсот миллионов рублей. В ином случае ставка налога на прибыль становится стандартной, и участник должен уплачивать его в полной мере. Помимо этого у резидента есть возможность освободится от уплаты налога на имущество.

Сколково – это государственная программа поддержки. Соответственно основная часть средств идет от государства в виде микрогрантов. Максимальная сумма выплаты в одной заявке не превышает 1,5 миллиона рублей. Также поддержка осуществляется при помощи цифровой экономики. В этом случае разработчики смогут получить помощь в виде цифровой валюты. Помимо этого на базе Сколково был создан венчурный фонд Skolkovo Ventures. Его основные задачи – привлечение сторонних инвесторов, управление венчурными фондами, а также помощь в успешной реализации стартапов. И еще одним направлением является возмещение инвестиций. Это программа, по которой Сколково обещает вернуть стороннему инвестору сумму вложенных им денег. Это поможет привлечь как можно больше инвесторов со стороны. [8]

Далее рассмотрим особенности экосистем фармацевтических стартапов. На мировом фармацевтическом рынке сейчас большой популярностью пользуются компании малого бизнеса. Дело в том, что крупные фармацевтические компании обладают значительно меньшей подвижностью и инновационным потенциалом, так как для них приоритетным являются направления производства, маркетинга и продаж. А для расширения своего портфеля они прибегают к услугам молодых инновационных компаний, оказывают им финансовую поддержку на начальных стадиях исследований, а в дальнейшем могут полностью выкупить перспективный стартап. Для молодых компаний процесс разработки нового лекарства проходит значительно проще. Они тратят меньше времени и денег на это. Для них не нужно, например, тратить деньги на покупку нового оборудования для исследований. Вместо этого они могут провести все необходимые им работы на базе хорошо оборудованных исследовательских компаний. [9]

В связи с наметившейся тенденцией в Америке и в частности в Кремниевой Долине есть большое количество исследовательских центров, которые предоставляют свое оборудование и условия для проведения необходимых испытаний. Аренда таких центров оказывается более выгодным вариантом, чем создание собственной лаборатории. В России с этим обстоит пока хуже. Количество исследовательских центров немногочисленно, и одним из основных таких площадок как раз является центр Сколково. Конечно, постепенно люди начинают открывать подобные компании, но пока этого еще не достаточно, поэтому многие прибегают к помощи R&D центров за рубежом.

Немногочисленность исследовательских сервисов в России вполне объяснима. Отечественная фармацевтическая отрасль пока не так изобилует стратапами как, например, IT-сфера. В связи с небольшим количеством инновационных идей наблюдается дефицит R&D центров и, соответственно, недостаток венчурного капитала. [10] И все происходит вполне логично: при отсутствии спроса на исследовательские сервисы нет необходимости их создания. Но при таких условиях развитие индустрии может занять долгое время. Поэтому в данном случае без помощи государства и открытии дополнительных R&D-центров не обойтись. Когда появятся условия для исследований, появятся и желающие ими воспользоваться.

Создание инновационной площадки Сколково – один из важнейших шагов в сторону развития и поддержки стартапов в России. Резидентам предоставляются льготы, налоговая поддержка, финансирование в различных формах, а также площадки для проведения исследований – все то, что так необходимо молодым компаниям. Но есть еще одно препятствие, которое может встать на пути создания компании – это процесс регистрации компании. Законодательство России пока не позволяет сделать это по упрощенной программе, поэтому процесс оказывается долгим и запутанным. А у молодых компаний зачастую нет возможности иметь в штате юристов и бухгалтеров, которым можно было бы поручить работу с бумагами. Поэтому разработчикам приходится самим разбираться в административных вопросах, а тем самым фокус их внимания смещается с работы над проектом. [11] В США, например, пользуются упрощенными схемами. Сейчас зарегистрировать компанию можно используя компьютер, сама процедура регистрации занимает около 20 минут, а отчеты в налоговую службу им нужно отправлять лишь раз в год.

Рассмотрим подробнее направления трендов и инноваций в фармотрасли. В связи со всем известными событиями – пандемией коронавирусной инфекции – фармацевтическая индустрия развивается со стремительной скоростью. Более того сейчас стало возможным внедрение новых технологий в отрасль, поэтому особенную популярность обретают стартапы на стыке двух отраслей: фармацевтической и информационных технологий. [12] Наиболее популярным трендом в фармацевтических стартапах стал искусственный интеллект. [13] При помощи него ускоряются процессы исследований, разработки и производства лекарств, а также становится возможной медицинская визуализация. Далее по популярности идет Big data и аналитика – внедрение программных решений в отрасль. Ввиду отсутствия во многих стран доступа к лекарственным средствам все еще популярно направление гибкого фармацевтического производства, которое легко подстраивается к изменяющимся условиям современного рынка. Точная медицина, аддитивное производство, блокчейн, расширенная реальность и еще множество разных направлений появилось в связи с развитием фармотрасли. [14] Рассмотрим подробнее, над какими стартапами велась работа в течение последнего года в Кремниевой Долине и в Сколково.

Как упоминалось выше, наиболее популярным направлением в фармацевтических стартапах сейчас является использование искусственного интеллекта. Так, совсем недавно при поддержке Кремниевой Долины была образована компания Pangaea Data. Продуктом компании является программное обеспечение, которое собирает информацию о фенотипе пациента по медицинским записям и формирует определенные группы пациентов. В дальнейшем, на основе сформированных групп появляется возможность для создания лекарств для конкретного типа людей, проведения клинических испытаний и исследований в реальном мире. [15] Другим успешным стартапом стал проект по созданию 3D-принтера FLUX-1. Его создала компания Frontier Bio. Принтер специализируется на печати человеческих тканей, на которых можно будет проводить тестирования новых лекарственных препаратов. И нужно сказать про еще один важный стартап, который использует виртуальную реальность в своих разработках – это компания Nanome. Они создали продукт, который визуализирует атомы, молекулы и белки, что позволит работать с 3D-структурами, проектировать белки и совместно работать с членами команды над разработками в виртуальной реальности.

Теперь подробнее о фармацевтических стартапах в Сколково. Одним из резидентов сегодня является компания Биософт.ру – это интернет-биржа научных услуг. Идея состоит в том, чтобы на одном сайте собрать все сервисы научно-исследовательских центров. Это поможет клиентам сайта с легкостью найти нужный им сервис среди большого количества, только лишь выбрав подходящую им категорию. Другой важной задачей компании является разработка лекарственных препаратов с новыми механизмами действия. Предполагается, что это возможно будет сделать, объединив последовательно несколько сервисов различных исследовательских компаний. Другим резидентом является компания

«Энсим», которая разрабатывает медицинские стимуляторы. Стимуляторы в виртуальном мире создают модели пациентов, на которых можно репетировать хирургические вмешательства. И еще одной важной компанией, значительную поддержку которой оказал Сколково, является компания Webiomed. Это первая компания в России, использующая искусственный интеллект в сфере здравоохранения. Она собирает и анализирует медицинские данные людей, для того, чтобы спрогнозировать возможное заболевание и предотвратить его на начальном этапе.

Таким образом, изучив истории возникновения, структуру и источники финансирования Кремниевой Долины и инновационного центра Сколково, а также проанализировав особенности экосистем фармацевтических стартапов в США и России, можно сделать следующие выводы. Экосистема в Долине начала свое формирование с самого начала открытия Стэнфорда, который сразу позиционировал себя как университет с прогрессивными взглядами и всячески поощрял разностороннее развитие своих студентов. Профессоры помогали и даже настаивали на том, чтобы молодежь не боялась открывать свои компании и выходить с ними на рынок. Плюс ко всему Долина тесно связана и с другими крупными университетами. В итоге, это привело к тому, что там сконцентрировалось большое количество инновационных компаний. Положение дел еще и поддерживает наличие в Долине инвесторов и хорошо развитых венчурных фондов, поддерживающих молодых разработчиков. Поэтому количество стартапов с каждым днем там неумолимо растет. Важно то, что все финансирование исходит от частных лиц, которые активно разворачивают там свою деятельность. Помимо финансовой поддержки там есть различные бизнес-инкубаторы, акселераторы, R&D-центры и другие площадки, предоставляющие молодым ученым условия и оборудование для разработок. Также на территории США действует упрощенная схема регистрации молодых компаний, что значительно упрощает этот процесс. Но в Калифорнии – штате, в котором располагается Кремниевая Долина, – очень большие налоговые ставки. На данный момент это является одной из важных проблем, из-за которой компании задумываются о переезде в другие места. Таким образом, можно сказать, что экосистема фармацевтических стартапов в Долине очень развита. И там создана благоприятная среда, в которой молодым ученым разработчикам, особенно в фармацевтической сфере, будет проще создать и исследовать новый продукт.

Инновационный центр Сколково был создан по инициативе государства, и он еще достаточно молодой и только начинает свое развитие. Но даже на данный момент он достиг больших результатов. Уже в первые месяцы своего существования резидентам были выделены гранты. У участников проекта есть хорошие налоговые льготы. Основной источник финансирования – это государство. Но на базе Сколково создан венчурный фонд, который занимается привлечением сторонних инвесторов. Инновационный центр предоставляет различные образовательные программы – это открытый университет, институт науки и технологий, а также международная гимназия для детей резидентов. Как и в Долине здесь имеются бизнес-инкубаторы, акселераторы и исследовательские лаборатории. Центр Сколково – это уникальная государственная программа по поддержке стартапов разных отраслей, и в частности фармацевтической, в России. Благодаря ей многие молодые разработчики и ученые смогли реализовать свои идеи по созданию новых технологий или лекарственных средств. И, на мой взгляд, нужно продолжать намеченные планы, но делать упор на привлечение внешних отечественных и зарубежных инвесторов и развитие индустрии венчурного капитала. Это поможет сделать экосистему стартапов в России самостоятельной и эффективной.

Таким образом, был проведен анализ экосистем фармацевтических стартапов в России и Соединенных Штатах Америки на примере инновационного центра «Сколково» и Кремниевой Долины соответственно. Оба центра – это мощные генераторы инновационных идей. Они помогают молодым ученым сделать первые шаги в сторону создания собственных компаний, а уже сформировавшимся предприятиям – найти перспективные разработки и коммерциализировать их. И, конечно же, вносят огромный вклад в развитие экономик и фармацевтических промышленностей обеих стран.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. химическая промышленность

61.01.11 Современное состояние и перспективы развития

ЛИТЕРАТУРА

1. Мирошниченко М.А. Сорокин М.А. Стартапы - наиболее динамичный элемент новой экономики // Управление инновационной экосистемой региона и коммерциализацией нововведений. Организационное, аналитическое и информационно-документационное сопровождение деятельности инфраструктуры: сборник трудов V Всероссийской (национальной) научно-практическая конференции с международным участием, Краснодар, 24–29 мая 2021 года 2021. С. 413-419.

2. Девяткина А.М. Кремниевая долина и ее мировые аналоги // Актуальные вопросы современной экономики. 2020. N 9. С. 64-70.

3. Rankings 2021: Top 30 + Runners-up // Startup Genome [Internet]. URL: https://startupgenome.com/article/rankings-2021-top-30-plus-runners-up (Accessed: 26.02.2022)

4. Ишбаева А.Р. Развитие технологического стартапа на мировой арене // Экономика и управление: теория, методология, практика: сборник материалов XIV Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Республики Башкортостан, 110-летию Башкирского государственного университета и 15-летию кафедры «Инновационная экономика», Уфа, 28 ноября 2019 года. Уфа: Башкирский государственный университет, 2019. С. 135-137.

5. Алиев О.М. Стартапы: анализ и оценка рисков // Экономика и предпринимательство. 2021. N 4(129). С. 783-787. DOI 10.34925/EIP.2021.129.4.149.

6. Котельников Н.В. Дружинин П.Ю. Деятельность инновационных кластеров и бизнес-инкубирование но « Сколково» // Байкальская наука: идеи, инновации, инвестиции: сборник материалов всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Иркутск, 26 марта 2021 года. 2021. С. 118-122.

7. Инновационный центр «Сколково» [Электронный ресурс]. URL: https://sk.ru/ (Дата обращения 26.02.2022)

8. Ишмуратова А.Р., Шеина А.Ю. Анализ источников финансирования стартап-компаний // Дневник науки. 2019. N 4(28). С. 116.

9. Коваленко А.В., Халимова А.А. Особенности инвестирования в биофармацевтические стартапы и их вклад в развитие фармацевтической отрасли // Медико-фармацевтический журнал Пульс. 2020. Т. 22. N 8. С. 81-85. DOI 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-8-81-85.

10. Коваленко А.В., Лушникова Ю.О. Коммерционализация инновационных разработок фармацевтических стартапов // StudNet. 2020. Т. 3. N 10. С. 92.

11. Кантаева С.П. Стандарты как инструмент цифровой трансформации // Комплексные исследования в рыбохозяйственной отрасли: материалы VII Международной научно-технической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Владивосток, 26 ноября 2021 года. Владивосток: Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, 2022. С. 185-190.

12. Сайганова Е.В. Мурашева К.А., Жолудева А.А. Развитие и поддержка молодежных стартапов в России // Актуальные проблемы гуманитарных и социально-экономических наук. 2020. N 3(74). С. 98-100.

13. Топ – 10 трендов и инноваций в фарминдустрии в 2021: // CT CONSULTING. [Электронный ресурс]. URL: https://ctconsult.ru/blog/top-10-trendov-i-innovaczij-v-farmindustrii-v-2021/ (Дата обращения 02.03.2022)

14. Коваленко А.В., Екшикеев Т.К. Актуальные вопросы финансирования сетевых r&d разработок в фармацевтической отрасли России // Медико-фармацевтический журнал Пульс. 2020. Т. 22. N 6. С. 111-114. DOI 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-6-111-114.

15. Лушникова Ю.О. Вклад стартапов в инновационное развитие мировой фармацевтической промышленности // Инновации в здоровье нации: сборник материалов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 07–08 ноября 2019 года. СПб., 2019. С. 276-279.

SUMMARY

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE ECOSYSTEM OF PHARMACEUTICAL STARTUPS ON THE EXAMPLE OF THE SKOLKOVO INNOVATION CENTER AND SILICON VALLEY

Polyakova Y.Y., 1st year undergraduate
Scientific supervisor: **Kovalenko A.V.**, Candidate of Economics, Associate Professor
Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: polyakova.yuliana@pharminnotech.com

The history of the emergence and development of innovation centers in Silicon Valley and in Skolkovo were studied. As a result of the analysis, two ecosystems of pharmaceutical startups were compared. Conclusions were drawn that the ecosystem in Silicon Valley is currently more developed.

Keywords: *startup, startup ecosystem, pharmaceutical startups, venture funds, investments, innovations.*

REFERENCES

1. Miroshnichenko M. A. Startups are the most dynamic element of the new economy / M. A. Miroshnichenko, M. A. Sorokin // Management of the innovation ecosystem of the region and commercialization of innovations. Organizational, analytical and information and documentation support of infrastructure activities: in the Proceedings of the All-Russian (National) Scientific and Practical Conference with International participation, Krasnodar, May 24-29, 2021. 2021. P. 413-419. (in Russian).

2. Devyatkina A.M. Silicon Valley and its world analogues // Topical issues of modern economics. 2020. N 9. P. 64-70. (in Russian).

3. Rankings 2021: Top 30 + Runners-up // Startup Genome [Internet]. URL: https://startupgenome.com/article/rankings-2021-top-30-plus-runners-up (Accessed: 26.02.2022)

4. Ishbaeva A.R. The development of a technological startup on the world stage // Economics and Management: theory, methodology, practice: collection of materials of the XIV International Scientific and Practical Conference dedicated to the 100th anniversary of the Republic of Bashkortostan, the 110th anniversary of Bashkir State University and the 15th anniversary of the Department of Innovative Economics, Ufa, November 28, 2019. Ufa: Bashkir State University, 2019. P. 135-137. (in Russian).

5. Aliyev O.M. Startups: risk analysis and assessment // Economics and entrepreneurship. 2021. N 4(129). P. 783-787. DOI 10.34925/EIP.2021.129.4.149. (in Russian).

6. Kotelnikov N.V., Druzhinin P.Yu. Activity of innovative clusters business incubation and NO «Skolkovo» // Baikal Science: ideas, innovations, investments: collection of materials of the All-Russian scientific and practical conference with international participation, Irkutsk, March 26, 2021. Irkutsk: Irkutsk National Research Technical University. 2021. P. 118-122. (in Russian).

7. Innovation Center «Skolkovo» [Internet]. URL: https://sk.ru / (Accessed: 26.02.2022). (in Russian).

8. Ishmuratova A.R., Sheina A.Y. Analysis of sources of financing for startup companies // Diary of Science. 2019. N 4(28). P. 116. (in Russian).

9. Kovalenko A.V., Halimova A.A. Features of investing in biopharmaceutical startups and their contribution to the development of the pharmaceutical industry // Medical and Pharmaceutical Journal Pulse. 2020. Vol. 22(8). P. 81-85. DOI 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-8-81-85. (in Russian).

10. Kovalenko, A.V., Lushnikova Yu.O. Commercialization of innovative developments of pharmaceutical startups // StudNet. 2020. Vol. 3(10). P. 92. (in Russian).

11. Kantaeva S.P. Standards as a tool of digital transformation // Integrated research in the fisheries industry : materials of the VII and Scientific-technical International Conference of Students, postgraduates and Young scientists, Vladivostok, November 26, 2021. Vladivostok: Far Eastern State Technical Fisheries University, 2022. P. 185-190. (in Russian).

12. Saiganova E. V., Murasheva K.A., Zholudeva A.A. Development and support of youth startups in Russia // Actual problems of humanities and socio-economic sciences. 2020. N 3(74). P. 98-100. (in Russian).

13. Top - 10 trends and innovations in the pharmaceutical industry in 2021: [Electronic resource] // CT CONSULTING. [Internet]. URL: https://ctconsult.ru/blog/top-10-trendov-i-innovaczij-v-farmindustrii-v-2021 / (Accessed: 02.03.2022). (in Russian).

14. Kovalenko A.V., Ekshikeev T.K. Topical issues of financing R&D developments in the pharmaceutical industry of Russia // Medico-pharmaceutical journal Pulse. 2020. Vol. 22(6). P. 111-114. DOI 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-6-111-114 . (in Russian).

15. Lushnikova Yu.O. The contribution of startups to the innovative development of the global pharmaceutical industry // Innovations in the health of the nation : A collection of materials of the VII Charter of the All-Russian Scientific and Practical Conference with International participation, St. Petersburg, November 07-08, 2019. Saint Petersburg, 2019. P. 276-279. (in Russian).

УДК 658.5.011

ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ УПРАВЛЕНИЕ РИСКАМИ ДЛЯ КАЧЕСТВА НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРЕДПРИЯТИИ

Понамарева А.И., магистрант 1 года обучения
Научный руководитель: **Полякова И.Н.,** кандидат хим. наук, доцент НОЦ ИБТ
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, Российская Федерация
E-mail: ponamareva.anastasiya@spcpu.ru

В статье рассмотрены основные принципы формирования процесса управления рисками для качества, определены сильные и слабые стороны процесса управления рисками, приведены рекомендации по организации процесса управления рисками.

Ключевые слова: *управление рисками, анализ, оценка, процесс, эффективность, метод.*

В современных условиях рыночной экономики, жёсткой конкуренции производителей фармацевтической продукции и постоянно меняющихся покупательских предпочтений невозможно представить успешную компанию, в которой должным образом не налажен процесс управления рисками.

В первую очередь управление рисками необходимо для принятия взвешенных управленческих решений в условиях, которые требуют выбора одного из нескольких вариантов в условиях неопределенности и неоднозначности преимуществ какого-либо из них.

Правила надлежащей производственной практики (GMP – Good Manufacturing Practice) в обязательном порядке требуют от производителей лекарственных средств применения принципов управления рисками.

В связи с этим, представляется актуальным рассмотреть единый подход к управлению рисками для качества в рамках общей системы управления предприятием.

Цель данной работы: определить системный подход к управлению рисками для качества на фармацевтическом предприятии.

Для достижения цели необходимо решить следующие задачи:

1. рассмотреть подход для интеграции процесса управления рисками для качества в общую систему управления предприятием.

2. рассмотреть сильные и слабые стороны управления рисками для качества;

3. определить шаги эффективного внедрения процесса управления рисками на предприятии.

Основная часть

Существует множество определений понятия «Риск». В переводе со староитальянского «risicare» означает «отважный».

Риск – сочетание вероятности и последствий наступления событий. Также риском часто называют непосредственно предполагаемое событие, способное принести ущерб или убыток [1].

Риск – характеристика ситуации, имеющей неопределённость исхода, при обязательном наличии неблагоприятных последствий. Риск в узком смысле – количественная оценка опасностей, определяется как частота одного события при наступлении другого [2].

Риск – комбинация вероятности причинения вреда и тяжести этого вреда [3].

В фармацевтической области под понятием «Риск» понимается потеря качества лекарственного средства (в полном его понимании, т.е. соответствие требованиям/эффективность/безопасность).

Основная цель, которую преследует любая коммерческая компания, независимо от своей сферы деятельности – это эффективное использование вложений, ресурсов, снижение потерь и увеличение доходов, а также укрепление позиций компании на рынке.

Целью оценки риска является предоставление на основе объективных свидетельств информации для принятия обоснованного решения относительно способов обработки риска [2].

Методом оценки риска является определение потенциальных опасных факторов и взаимодействия их последствий на достижения целей предприятия.

Любой бизнес-процесс является составной частью общей системы управления предприятием, управления рисками не является исключением. Для описания любого процесса необходимо использовать процессную модель. Эта модель состоит из четырех последовательных подпроцессов: Планирование – Реализация – Проверка – Корректировка (PDCA), так называемая модель Деминга (рис. 1), которая отражает стандартный цикл управления процессом [4].

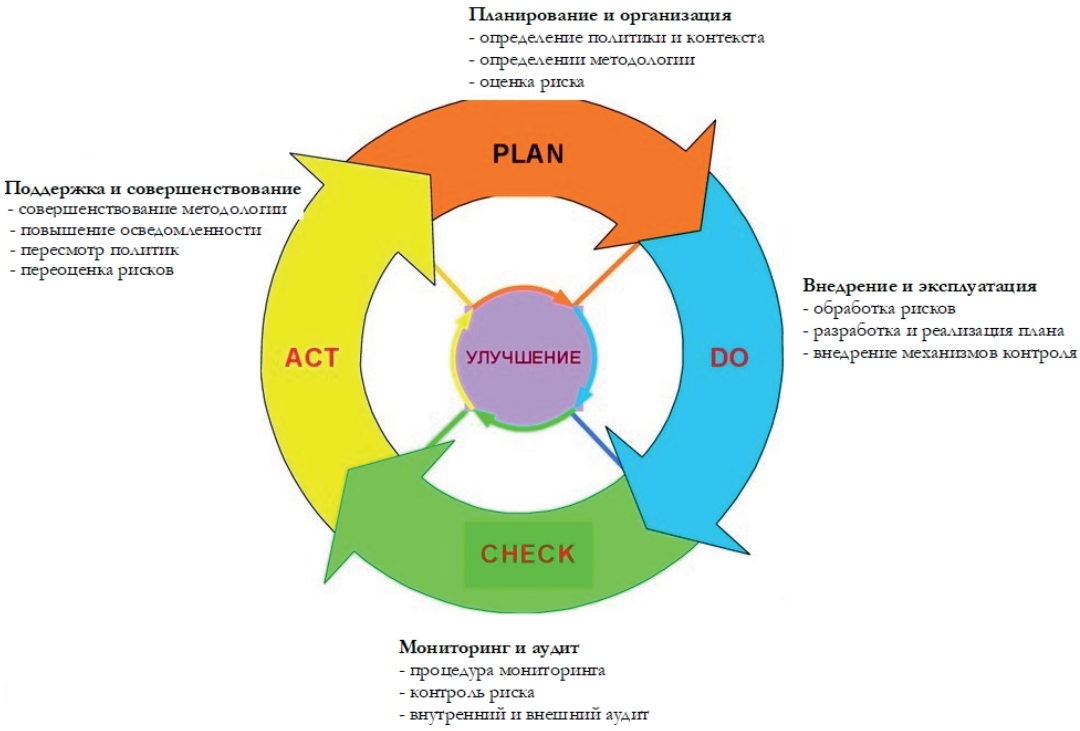


Рисунок 1. Модель Деминга применительно к процессам управления рисками

При управлении рисками в фармацевтической деятельности используется модель процесса управления рисками, реализованная в виде блок-схемы, изложенной в ICH Q9 (рис. 2).

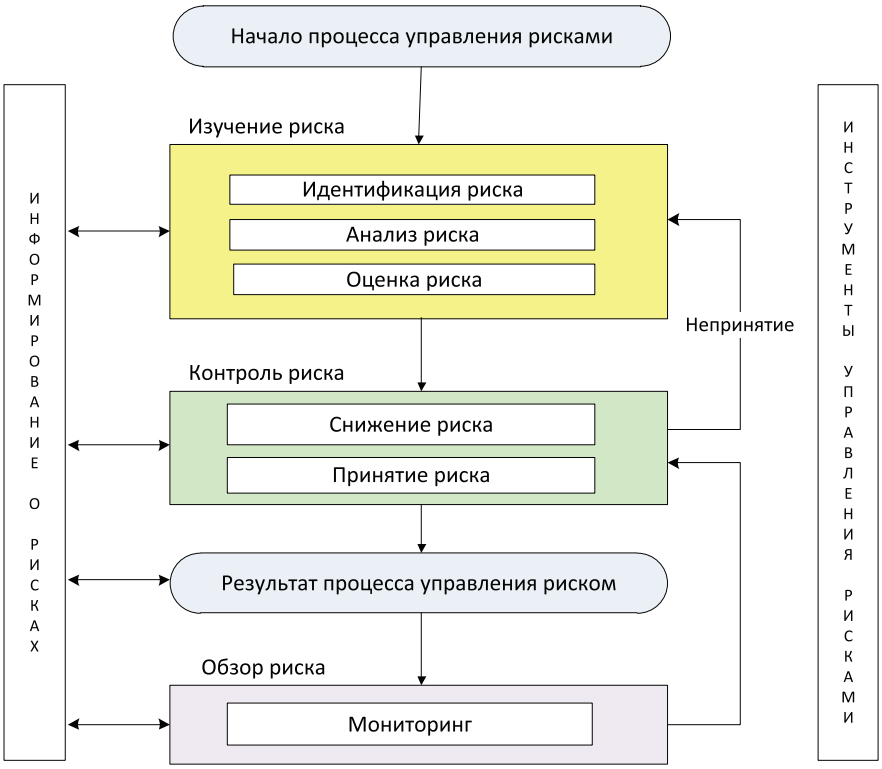


Рисунок 2. Модель процесса управления рисками (в соответствии с руководящими указаниями ICH Q9)

Обеспечить построение эффективной системы управления рисками возможно только включив в процесс все принципы, указанные в модели управления рисками для качества.

Процесс носит циклический характер для деятельности по оценке и/или обработке рисков.

Цикличный подход проведения оценки рисков позволяет сделать каждую последующую итерацию более гибкой и детализированной.

Оценка риска основывается на научных данных, имеющейся статистике, включает формализацию, документальное оформление процесса и непосредственно нацелена на защиту пациента от нежелательных реакций [5].

Схема процесса управления рисками должна быть простой, и, главное, ориентирована на практическое применение (рис. 3).

Нормативная документация, регулирующая деятельность в области GMP, предусматривает применение оценки рисков во всех сферах деятельности фармацевтического предприятия.

В соответствии с требованиями Надлежащей производственной практики, утвержденной Решением Совета Евразийской Экономической Комиссии от 03.11.2016 г. № 77 (далее – GMP) проведение оценки рисков необходимо осуществлять в следующих ситуациях:

• во время проведения расследования отклонения, для определения установления причины (причин) возникновения дефектов (ч. 1, п. 1.4 (XIV));

• при несоблюдении требований к персоналу в полной мере (ч. 1, п. 2.1);

• при расположении, проектировании, строительстве, оснащении и эксплуатации помещений и оборудования (ч. 1, глава 3, принцип);

• при проведении производственных операций в одном и том же помещении с разными лекарственными средствами (ч. 1, п. 5.9);

• при создании программы предотвращения перекрестной контаминации в производстве лекарственных препаратов (ч. 1, п.п. 5.18, 5.19, 5.20, 5.21, 6.5);

• при организации процессов упаковки (ч. 1, п. 5.49);

• при принятии решений о возможности осуществления переработки продукции (ч. 1, п.п. 5.67);

• при определении плана отбора проб для проведения контроля качества (ч. 1, п. 6.12);

• при ведении деятельности, передаваемой для выполнения другому лицу (аутсорсинг) (ч. 1, п. 7.4);

• при обосновании объема валидационных работ (Приложение 15) [6].

В мировой практике известно более 70 методов оценки рисков. В руководящих указаниях ICH Q9 и GMP указано шесть основных инструментов оценки рисков (табл. 1); в ISO 31000 описан 31 метод. Для полноценной оценки риска рекомендуется использовать комбинированный подход использования инструментов. Для каждой конкретной ситуации используется свой индивидуальный инструментарий, который определяется на начальном этапе (определение потребности оценки риска).

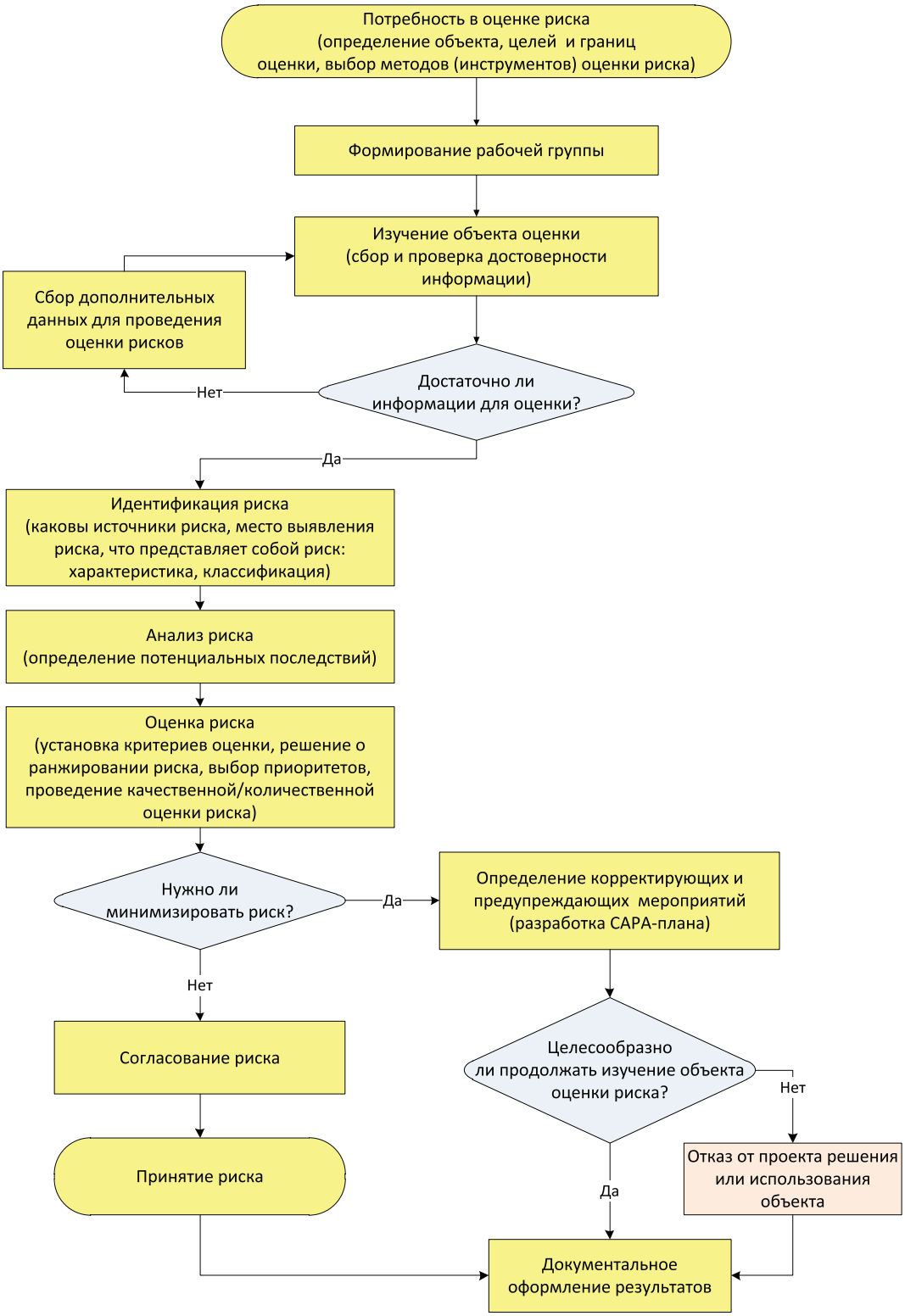


Рисунок 3. Алгоритм управления риском для качества, составленный на основании модели ICH Q9

Таблица 1 – Краткая характеристика методов оценки рисков, заявленных в GMP

Наименование метода	Краткое описание метода
Анализ видов и последствий отказов (Failure Mode Effects Analysis – FMEA)	Предназначен для оценивания характера потенциальных отказов при проведении процесса, а также возможных последствий отказов для результата процесса и (или) характеристики продукции
Анализ видов, последствий и критичности отказов (Failure Mode Effects and Criticality Analysis – FMECA)	Данный метод является расширением метода FMEA, который позволяет определить уровень критичности каждого идентифицированного источника опасности и анализа частот

Наименование метода	Краткое описание метода
Анализ дерева неисправностей (Fault Tree Analysis – FTA)	Выявление причин и факторов, а также их логической взаимосвязи, приводящих к возникновению нежелательного события Результаты проведения анализа представляются графически в виде дерева неисправностей, которое отображает эти факторы и их логическую связь с нежелательным событием
Анализ дерева событий (Event Tree Analysis – ETA).	Предназначен для моделирования возможных видов, являющихся следствием реализации данного инициирующего события и состояний факторов защиты, а также определения оценок частоты или вероятности возможных выходов данного инициирующего события
Анализ опасности и критические контрольные точки (Hazard Analysis and Critical Control Points – HACCP).	Является системным, предупреждающим и профилактическим инструментом для обеспечения качества, надежности и безопасности продукции. Это структурированный подход с применением технических и научных принципов для анализа, оценки, предупреждения и контроля рисков неблагоприятных последствий опасности, которые являются результатом планирования, разработки, производства и применения продукции
Анализ опасности и работоспособности (Hazard Operability Analysis – HAZOP).	Выявление потенциальных опасностей в системе, вызванных отклонениями от проекта или функционального назначения анализируемого объекта. Метод основан на использовании системы «направляющих слов». Результатом проведения анализа является перечень действий по управлению рисками
Ранжирование и фильтрация рисков	Разделение основной проблемы на отдельные компоненты, составление шкалы возможных рисков для их сравнительной оценки и фильтрации

Целесообразность проведения оценки рисков определяет назначенное ответственное лицо, либо высшее руководство на начальном этапе. Далее формируется рабочая группа, которая выбирает методы и глубину анализа рисков, ведь процесс довольно трудоёмкий.

Представленная в таблице 1 оценка методов анализа рисков показывает, что не существует одного универсального подхода, применяемые на практике методы имеют ограниченное применение [7].

Для понимания целесообразности применения оценки риска в сфере фармацевтической промышленности необходимо рассмотреть его сильные и слабые стороны, как процесса фармацевтической системы качества (табл. 2).

Таблица 2 – Сильные и слабые стороны процесса управления рисками для качества в отношении непрерывного контроля сохранения на всём протяжении жизненного цикла качества лекарственного средства (в полном его понимании, т.е. соответствие требованиям/эффективность/безопасность)

Сильные стороны	Слабые стороны
• Снижение количества отклонений, выявляемых в ходе функционирования процессов; • Улучшение планирования и увеличение уровня эффективности процессов; • Рациональное использование ресурсов; • Повышение достоверности информации для принятия решений; • Улучшение взаимодействия процессов; • Рост деловой репутации; • Помощь в принятии важных, в том числе стратегических решений, высшим руководством; • Аргументированный аналитический подход к выдаче рекомендаций при составлении плана корректирующих и предупреждающих действий; • Осуществление контроля стабильности процессов.	• Отсутствие понимания у владельцев процессов и руководства необходимости проведения и актуальности оценки рисков; • Высокая трудоёмкость.

Для эффективного внедрения процесса управления рисками на предприятии необходимо:

о В первую очередь определить, где, когда, как и кем принимаются существенные решения в организации.

о Разработать генеральную процедуру по управлению рисками, провести актуализацию существующей политики и процедур с учетом рисков. Документ должен описывать общее отношение компании к рискам, принципы управления рисками, роли и обязанности, ресурсы и процессы, посвященные управлению рисками и связанные с ним.

о Назначить ответственных за оценку рисков на предприятии в целом, а также по каждому из процессов, создать рабочие группы по управлению рисками.

Для эффективной работы процесса необходимо:

о Включать вопросы, связанные с рисками, в повестки совещаний. Сделать раскрытие информации о рисках частью вопросов, обсуждаемых на совещании.

о Рабочая группа может фокусироваться на рассмотрении методологических вопросов, принимать участие в инвестиционных, проектных и прочих решениях, связанных с высокими рисками.

о С целью развития процесса управления рисками важно избегать восприятия управление рисками, как самостоятельного процесса. Необходимо включать элементы анализа рисков в процесс принятия решений.

o Также необходимо проводить постоянное обучение персонала по управлению рисками. Это поможет избежать ошибок, улучшит эффективность данного процесса и повысит результат его интеграции в другие процессы предприятия.

o Выстраивать мотивацию руководителей с учетом рисков. Управление рисками должно начинаться с непреодолимого желания каждого из руководителей управлять, просчитывая свои действия на несколько шагов вперед, предотвращая угрозы и используя скрытые возможности.

o В ходе работ необходимо анализировать, учитываются ли риски при принятии существенных решений, делается ли это системно и насколько результаты задокументированы.

Заключение

Для полноценного запуска процесса потребуется немало усилий и времени, сначала в большей степени, затем – в меньшей.

Процесс управления рисками не является бюрократическим процессом и позволяет достоверно оценивать планируемые изменения, грамотно распределять ресурсы, а, значит, эффективно управлять предприятием, что в конечном итоге приводит к увеличению прибыли и повышению качества выпуска продукции.

Представленный алгоритм управления рисками для качества направлен на достижение фармацевтической системы качества соответствия требованиям внешней нормативной документации (ICH Q9 и Решении 77). Также, в ходе работы было установлено соответствие принципов менеджмента качества и менеджмента риска и позволило интегрировать их в общую систему управления предприятия, что является основой планирования и принятия эффективных управленческих решений, создающих основу для повышения результативности процессов, достижения лучших результатов и предупреждения неблагоприятных последствий.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

62.00.00 Биотехнология

62.01.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р 51897-2002 Государственный Стандарт Российской Федерации Менеджмент риска. Термины и определения.

2. Р 50.1.068-2009 Рекомендации по стандартизации. Менеджмент риска. Рекомендации по внедрению. Часть 1: Определение области применения.

3. ГОСТ Р 51901.21-2012 «Менеджмент риска. Реестр риска. Общие положения»

4. Совет евразийской экономической комиссии решение от 3 ноября 2016 года N 77 «Об утверждении Правила надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза»

5. ГОСТ Р ИСО/МЭК 31010-2011 Национальный стандарт российской федерации Менеджмент риска. Методы оценки риска.

6. ГОСТ Р ИСО 9001:2015 Национальный стандарт российской федерации. Системы менеджмента качества. Требования.

7. ICH Гармонизированное трехстороннее руководство ICH. Управление рисками по качеству Q9.

SUMMARY

PROFESSIONAL RISK MANAGEMENT FOR QUALITY IN A PHARMACEUTICAL COMPANY

Ponamareva A.I., 1-year master's student

Scientific supervisor: **Polyakova I.N.** Candidate of Chemical Sciences, Associate professor of REC IBT

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

197376, St. Petersburg, Prof. Popova, 14, Russian Federation

E-mail: ponamareva.anastasiya@spcpu.ru

The article discusses the basic principles of the formation of the risk management process for quality, identifies the strengths and weaknesses of the risk management process, provides recommendations on the organization of the risk management process.

Keywords: *risk management, analysis, evaluation, process, efficiency, method.*

REFERENCES

1. GOST R 51897-2002 State Standard of the Russian Federation Risk Management. Terms and definitions. (in Russian)

2. P 50.1.068-2009 Recommendations for standardization. Risk management. Recommendations for implementation. Part 1: Definition of the scope of application. (in Russian)

3. GOST R 51901.21-2012 «Risk management. Risk register. General provisions». (in Russian)

4. The Rules of Good Manufacturing Practice of the Eurasian Economic Union, approved by the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated 03.11.2016 No. 77. (in Russian)

5. GOST R ISO/IEC 31010:2011 Risk management. Risk assessment methods. (in Russian)

6. GOST R ISO 9001:2015 Quality management systems. Requirements. (in Russian)

7. ICH Q9 Quality risk Management (in Russian)

УДК 339.13

ОБЗОР РЫНКА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ПРЕПАРАТОВ Г. МОСКВЫ И ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВ ЕГО РАЗВИТИЯ

Попел Е.А., магистрант 2 года обучения
Руководитель: **Симакова Е.К.**, канд. экон. наук, доцент кафедры экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: popel.ekaterina@pharminnotech.com

Проведен краткий обзор рынка сердечно-сосудистых препаратов в г. Москва, выявлена динамика развития рынка, определены его особенности, представлена оценка перспектив развития обзор рынка сердечно-сосудистых препаратов в г. Москва.

Ключевые слова: *сердечно-сосудистые препараты, фармацевтический рынок, аналитический обзор, АТС-группа, лидирующие бренды, динамика рынка.*

Целью данного исследования является анализ состояния и оценка перспектив развития рынка сердечно-сосудистых препаратов (ССП) г. Москвы. Объектом исследования является фармацевтический рынок препаратов для лечения сердечно-сосудистых заболеваний в г. Москва.

Основными задачами работы являются:

1) оценка основных тенденций развития рынка лекарственных препаратов, применяемых для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы в г. Москва;

2) изучение динамики развития рынка лекарственных препаратов, применяемых для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы в г. Москва;

3) выявление характерных особенностей рынка лекарственных препаратов, применяемых для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы в г. Москва;

4) оценка перспектив развития рынка лекарственных препаратов, применяемых для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы в г. Москва.

Актуальность исследования рынка именно сердечно-сосудистых препаратов подтверждается особой значимостью данных лекарственных средств для населения, так как сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной смертности в большинстве развитых стран [1]. Таким образом, сердечно-сосудистые заболевания представляют собой не только медицинскую, но и социальную проблему.

Если рассматривать соотношение продаж товаров аптечного ассортимента по федеральным округам, то наибольшая доля лекарственных средств в структуре продаж по объему в рублях (76,2%) и упаковках (66,4%) наблюдается в Центральном Федеральном округе. При этом, наибольший объем фармацевтического рынка приходится на столицу – Москва заняла 14,07% объема рынка в рублях и 8,37% в упаковках. [2]

Поэтому, исследование рынка сердечно-сосудистых препаратов города Москвы представляет собой актуальную задачу.

Проблема заболевания и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) обуславливает динамичное развитие фармакологического рынка сердечно-сосудистых лекарственных препаратов. Так, в 2015 г. в Москве было реализовано 64 млн упаковок сердечно-сосудистых препаратов на сумму более 17 млрд рублей. По прошествии пяти лет, экономические показатели значительно увеличились: в 2020 г было продано 71 млн упаковок на 24 млрд рублей. [3]

В 2019 году C09 Средства, действующие на ренин-ангиотензиновую систему заняли первое место в рейтинге ведущих АТС групп по объему аптечных продаж в Москве (доля в общем объеме аптечных продаж, 4,4%) [4], что говорит о высоком спросе на АТС (С) «Препараты для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы» Данная тенденция прослеживается не только в столице, но и по всей России: в 2019 г АТС (С) «Препараты для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы» заняли второе место по стоимостному объёму всего рынка (151 млрд. руб.) [5].

Рассмотрим динамику роста рынка ССП в Москве с 2015 по 2020 г в стоимостном и натуральном выражении (рисунки 1, 2).

Рисунок 1. Стоимостной объем рынка ССП, руб

Рисунок 2. Натуральный объем рынка ССП, уп.

Наблюдается линейный рост рынка ССП в стоимостном выражении, однако натуральный объем рынка значительно менялся с течением времени. Спад покупательской активности в 2016 и 2017 годах можно объяснить уменьшением количества выявленных болезней сердечно-сосудистой системы в Москве: 182741 и 179660 диагнозов соответственно, при этом в 2019 году насчитывается 196304 случаев. [6].

Изучим динамику роста рынка ССП в Москве, сравнив данные аналитических отчетов 2015 и 2020 гг.

Анализ ассортимента лекарственных препаратов для лечения ССЗ показал, что подавляющее большинство ССП в Москве имеет твердую лекарственную форму (таблетки, таблетки, покрытые оболочкой и др. виды таблеток) как в 2015, так и в 2020 году (рисунки 3, 4).

Рисунок 3. Диаграмма соотношения лекарственных форм сердечно-сосудистых препаратов в г. Москва, 2015 г.

Рисунок 4. Диаграмма соотношения лекарственных форм сердечно-сосудистых препаратов в г. Москва, 2020 г.

При изучении данных по характеристике АТС [C] «Препараты для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы» было выявлено, что расположение препаратов по АТС-группам 2-го уровня в 2015г и 2020г отличается несущественно (рис. 5).

Можно отметить, что лидерами рынка по объему наименований являются представители АТС-групп C09 «Препараты, влияющие на ренин-ангиотензиновую систему» и C01 «Препараты для лечения заболеваний сердца», наименьшее количество препаратов относится к группе C04 «Периферические вазодилататоры».

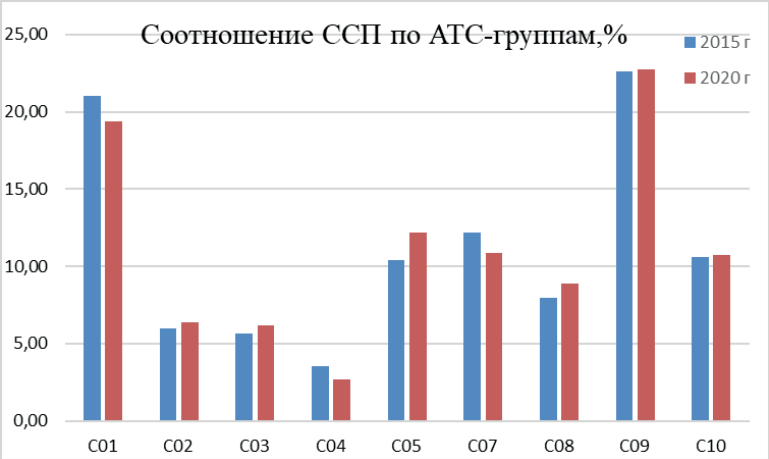


Рисунок 5. Диаграмма соотношения сердечно-сосудистых препаратов в г. Москва, 2015 и 2020 г, %.

Анализ данных ССП г. Москва с точки зрения стран-производителей дает понять, что количество российских производителей за 5 лет увеличилось: с 31,52% до 40,87%. Кроме того, доля импортируемых ЛП в 2020 году сократилась на 7,87% по сравнению с 2015г, что говорит о выполнении работ по государственной программе импортозамещения.

В 2020 г., как и в предыдущие периоды, рынок сердечно-сосудистых препаратов представлен, в основном, рецептурными по способу отпуска ЛС (таблица 1). Для примера возьмем данные DSM Group по г. Москва.

Таблица 1 – Соотношение Rx/OTC препаратов на рынке сердечно-сосудистых препаратов в 2015 и 2020 гг.

АТС-группа 1 уровня	RX/OTC	Стоимостной объем, млн. руб., 2015 г.	Стоимостной объем, млн. руб., 2020 г.
C – Сердечно-сосудистая система	OTC	3 428	5 419
	RX	13 591	18 937
C – Итог		17 019	24 356

Rx-препараты занимают 78% (2020г.) и 80% (2015г.) от всего стоимостного объема продаж сердечно-сосудистых препаратов в столице. Безрецептурные (OTC) препараты занимают 20% (2015г.) и 22% (2020г.) в стоимостном объеме продаж. К ним относятся, в основном, препараты, обладающие вазопротекторным действием. Например, препараты для лечения варикозно-

го расширения вен, препараты для снижения проницаемости капилляров и т.п. [7]. Заметна тенденция к увеличению продаж безрецептурных препаратов, кроме того, лидирующая позиция 2020 года – Детралекс относится к ОТС – группе.

Определим лидеров рынка в стоимостном выражении по данным обзора в 2015 г и в 2020 г, (таблицы 2 и 3 соответственно).

Таблица 2 – Рейтинг наиболее продаваемых торговых наименований в сегменте сердечно-сосудистых препаратов в стоимостном выражении, г. Москва 2015 г.

№ п/п	Наименование ЛП	RX/OTC	Производитель	Лекарственная форма	ATC2 уровень	Сумма по объему (цена розн.-уп.розн.), рубли, 2015 г.
1	Нолипрел	RX	Servier (Франция)	Таблетки	C09	895 097 758
2	Детралекс	OTC	Servier (Франция)	Таблетки, покрытые пленочной оболочкой	C05	825 956 156
3	Конкор	RX	MERCK, KGaA (Германия)	Таблетки, покрытые пленочной оболочкой	C07	775 265 443
4	Крестор	RX	AstraZeneca (Великобритания)	Таблетки, покрытые пленочной оболочкой	C10	684 669 633
5	Престариум А	RX	Servier (Франция)	Таблетки, покрытые пленочной оболочкой	C09	666 965 929

Таблица 3 – Рейтинг наиболее продаваемых торговых наименований в сегменте сердечно-сосудистых препаратов в стоимостном выражении, г. Москва 2020 г.

№ п/п	Наименование ЛП	RX/OTC	Производитель	Лекарственная форма	ATC2 уровень	Сумма по объему (цена розн.-уп.розн.), рубли, 2020 г.
1	Детралекс	OTC	Servier (Франция)	Таблетки, покрытые пленочной оболочкой	C05	1379 708 329
2	Крестор	RX	AstraZeneca (Великобритания)	Таблетки, покрытые пленочной оболочкой	C10	1 031 458 552
3	Конкор	RX	MERCK, KGaA (Германия)	Таблетки, покрытые пленочной оболочкой	C07	882 826 808
4	Лозап	RX	Sanofi (Франция)	Таблетки, покрытые пленочной оболочкой	C09	720 516 069
5	Нолипрел	RX	Servier (Франция)	Таблетки	C09	667 609 767

Можно отметить, что наименования ССП в пятерке обоих рейтингов остались практически неизменными. Подавляющее большинство препаратов имеют твердую лекарственную форму, (таблетки, покрытые оболочкой), и выпускаются иностранными производителями. По АТС-группам участники рейтингов разделились между C05 (Ангиопротекторы), C07 (Бета-адреноблокаторы), C09 (Препараты, влияющие на ренин-ангиотензиновую систему) и C10 (Гиполипидемические препараты) группами. Большинство представителей лидеров рынка – рецептурные препараты.

Таким образом, рынок сердечно-сосудистых препаратов г. Москвы имеет следующие характеристики:

- Высокая динамика роста рынка, особенно в стоимостном выражении (в денежном выражении увеличение суммы выручки на 41% за 5 лет в объёме аптечных продаж; в натуральном количество проданных упаковок увеличилось на 11%).
- Лидирующие позиции принадлежат зарубежным компаниям как в 2015, так и в 2020 году.
- Основную долю, около 70%, всего объема представленных на московском рынке лекарственных форм ССП занимают таблетки.
- Большинство сердечно-сосудистых препаратов отпускаются по рецепту: (78% (2020г.) и 80% (2015г.) от всего стоимостного объема продаж сердечно-сосудистых препаратов в столице.
- Лидерами рынка по объему являются представители АТС-групп C09 «Препараты, влияющие на ренин-ангиотензиновую систему» и C01 «Препараты для лечения заболеваний сердца», наименьшее количество препаратов относится к группе C04 «Периферические вазодилататоры».

Проанализировав рынок сердечно-сосудистых препаратов Москвы, можно составить предположения по поводу его дальнейшего развития:

• Рынок ССП в г. Москва продолжит расти, так как наблюдается его линейный рост в стоимостном выражении (рисунок 1);

• На основании полученных показателей предполагается, что количество российских производителей будет постепенно увеличиваться;

• В связи с необходимостью следовать государственной стратегии «Фарма 2030», доля отечественных препаратов будет стремиться к преобладанию на рынке.

По результатам исследования можно сделать вывод о том, что, рынок ССП г. Москвы находится в стабильном состоянии, ему характерна положительная динамика роста. В ходе работы проведен анализ данных за 2015 и 2020 г, были выявлены особенности исследуемого рынка, проведена оценка перспектив развития рынка лекарственных препаратов, применяемых для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы в г. Москва.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.01.14 Коммерческие вопросы, маркетинг, конъюнктура, реклама

61.01.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Assembly [Internet]. URL: https://www.who.int/cardiovascular_diseases/ru/ (Accessed: 01.07.2021)

2. Аптечная розница. Розничный коммерческий аптечный рынок по итогам 2018 г. // AlphaRM. [Электронный ресурс]. URL: https://alpharm.ru/ru/analytics/roznichnyy-kommercheskiy-aptechnyy-rynok-po-itogam-2018-g (Дата обращения: 01.07.2021)

3. DSM Group, годовой отчет. [Электронный ресурс]. URL: https://dsm.ru (Дата обращения: 02.07.2021)

4. Аптечный рынок Москвы: итоги первых трёх месяцев 2019 г. // Ремедиум. [Электронный ресурс]. URL: https://remedium.ru/analytics/Aptechnyy_rynok_Moskvy_itogi_pervykh_treh_mesyatsev_2019g/ (Дата обращения: 03.07.2021)

5. Обзор аптечного сегмента лекарственных препаратов за 2019 год // DSM Group. [Электронный ресурс]. URL https://dsm.ru/news/695/ Дата обращения: 03.07.2021)

6. Управление Федеральной службы государственной статистики по г. Москве и Московской области. [Электронный ресурс]. URL: https://mosstat.gks.ru/folder/64643 (Дата обращения: 05.07.2021)

7. Ильина А.А. Обзор розничного сегмента рынка сердечно-сосудистых препаратов в России, итоги 2015 г. [Электронный ресурс]. URL: http://www.journalpro.ru/pdf-article/?id=6561. (Дата обращения: 07.07.2021)

SUMMARY

OVERVIEW OF THE MARKET OF CARDIOVASCULAR DRUGS IN MOSCOW AND ASSESSMENT OF ITS DEVELOPMENT PROSPECTS

Popel E.A., 2th year master student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: popel.ekaterina@pharminnotech.com

A brief review of the market for cardiovascular drugs in Moscow was carried out, the dynamics of the market development was identified, its features were determined, an assessment of the development prospects was presented. An overview of the market for cardiovascular drugs in Moscow was presented.

Keywords: *cardiovascular drugs, pharmaceutical market, analytical review, ATC group, leading brands, market dynamics.*

REFERENCES

1. World Health Assembly [Internet]. URL: https://www.who.int/cardiovascular_diseases/ru/ (Accessed: 01.07.2021)

2. Pharmacy retail. Retail commercial pharmacy market at the end of 2018 AlphaRM. [Internet]. URL: https://alpharm.ru/ru/analytics/roznichnyy-kommercheskiy-aptechnyy-rynok-po-itogam-2018-g (Accessed: 01.07.2021). (in Russian).

3. DSM Group, Annual report [Electronic resource]. URL: https://dsm.ru (Accessed: 02.07.2021). (in Russian).

4. Moscow pharmacy market: results of the first three months of 2019 // Remedium. 2019 [Internet]. URL: https://remedium.ru/analytics/Aptechnyy_rynok_Moskvy_itogi_pervykh_treh_mesyatsev_2019g/ (Accessed: 03.07.2021). (in Russian).

5. Overview of the pharmacy segment of medicines for 2019 // DSM Group [Internet]. URL: https://dsm.ru/news/695/ (Accessed: 03.07.2021). (in Russian).

6. Office of the Federal State Statistics Service for Moscow and the Moscow Region. [Electronic resource]. URL. https://mosstat.gks.ru/folder/64643 (Accessed: 05.07.2021). (in Russian).

7. Ilyina A.A. Review of the retail segment of the cardiovascular drugs market in Russia, results of 2015 [Internet]. URL: http://www.journalpro.ru/pdf-article/?id=6561. (Accessed: 07.07.2021). (in Russian).

УДК 61:615.1

МАРКЕТИНГОВЫЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН И ЯЗВ

Попова П.Н., студ. 5 курса
Научный руководитель: **Овод А.И.,** доктор фарм. наук, зав. кафедрой
организации и менеджмента фармации
Курский государственный медицинский университет
305041, Курск, ул. К. Маркса, д.3, Российская Федерация
E-mail: kurskmed@mail.ru

В результате проведенного исследования были получены данные о состоянии Российского (Федерального) фармацевтического рынка (РФР) и Курского фармацевтического рынков (КФР) лекарственных препаратов группы D для

лечения ран и язв за 5 лет (декабрь 2017-2021 гг.). Были сделаны выводы о том, что Курский фармацевтический рынок использует возможности российского фармацевтического рынка на 6,86%, что отражает необходимость в усовершенствовании доступности фармакотерапии, осуществляемой в рамках амбулаторного и стационарного лечения на базе медицинских организаций г. Курска.

Ключевые слова: *Российский (Федеральный) фармацевтический рынок, Государственный реестр лекарственных средств, справочник Видаль, логический и системный анализ, маркетинговые (структурный, контент-анализ), и статистические методы.*

Нарушение целостности кожных покровов является одним из самых распространенных процессов, встречающихся в повседневном быстротечном современном ритме жизни литература [1]. Согласно информации Российского статистического ежегодника за 2010-2020 гг. доля заболеваний дерматологического профиля, связанных с болезнями кожи и подкожной клетчатки составляет около 5,5% от общей доли зарегистрированных нозологий, при этом занимая 4 место по распространенности [4].

Цель исследования – провести маркетинговый анализ фармацевтического рынка лекарственных препаратов для лечения ран и язв.

Задачами данного исследования являлись:

1. Исследование литературных источников, регламентирующих медико-социальные аспекты лечения ран и язв кожных покровов;
2. Осуществление выбора специфической лекарственной терапии – объекта исследования маркетингового анализа;
3. Анализ ассортимента лекарственных препаратов, зарегистрированных на территории Российского (Федерального) фармацевтического рынка;
4. Формирование и анализ Регионального ассортимента лекарственных препаратов, реализуемых на территории г. Курска;
5. Проведение сравнительного анализа ассортимента лекарственных препаратов Федерального и Регионального фармацевтических рынков.

Материалы и методы исследования: приказы Минздрава от 24.12.2012 г.; Национальные руководства хирургов; клинические рекомендации; перечни препаратов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) за 2019-2020 гг..; распоряжение Правительства РФ от 12.10.2020 г. №2626-р (перечень ЖНВЛП на 2021 г.); Государственный реестр лекарственных средств; справочник Видаль; справочная аптек г. Курска. Методы: логический и системный анализ, маркетинговые (структурный, контент-анализ), и статистические методы.

Результаты исследования. В ходе изучения информационного массива, регламентирующего лекарственную помощь пациентам, страдающим нарушениями целостности кожных покровов, в частности, ранами и язвами, были изучены основные звенья этиологии и патогенеза исследуемой нозологии и сформирован перечень основных лекарственных средств.

Согласно информации Государственного реестра лекарственных средств, на момент обращения 31.12.2021 г., анализируемый ассортимент, зарегистрированный на территории Российской Федерации, включает в себя 21 МНН, 283 ТН в виде 5834 предложений лекарственных препаратов (ЛП) – группа D дерматологические препараты для лечения ран и язв, которые относятся к 12 подгруппам третьего уровня, согласно АТХ-классификации. К ним относятся следующие средства медикаментозной терапии: D01AE – прочие противогрибковые препараты для наружного применения; D02AE – производные мочевины (препараты со смягчающим и протекторным действием); D03AX – прочие препараты для лечения ран и язв (препараты для лечения ран и язв); D03BA – протеолитические ферменты (ферментные препараты); D05AA – препараты, содержащие деготь (препараты для лечения псориаза); D06AX – прочие антибиотики для наружного применения (противомикробные препараты для лечения заболеваний кожи); D06BA – сульфаниламиды (другие противомикробные препараты для наружного применения); D08AC – бигуаниды и амидины; D08AL – препараты серебра; D08AX – прочие антисептики и дезинфицирующие препараты (антисептики и дезинфицирующие средства); D10AE – препараты для лечения угрей для наружного применения, содержащие пероксиды (препараты для лечения угрей) [2,3].

Российский фармацевтический рынок ЛП группы D для лечения ран и язв, представлен преимущественно антисептиками и дезинфицирующими средствами – D08 (91,46%). По производственному признаку преобладают отечественные препараты – 98,87%. Среди стран-импортеров наибольший вклад в формирование ассортимента оказывает Германия – 27,27% от доли иностранных фармацевтических компаний. В общей структуре преобладают монокомпонентные ЛП – 99,88%, представленные жидкими ЛФ – 90,59%, преимущественно в виде растворов для наружного применения – 59,98%. Индекс обновления ассортимента за 5 лет (декабрь 2017-2021 гг.) составил 19,45%.

Курский фармацевтический рынок ЛП группы D для лечения ран и язв, также представлен преимущественно антисептиками и дезинфицирующими средствами – D08 (83,25%). По производственному признаку преобладают отечественные препараты – 95,25%. Среди стран-импортеров наибольший вклад в формирование ассортимента оказывает Венгрия – 31,57% от доли иностранных фармацевтических компаний. В общей структуре преобладают монокомпонентные ЛП – 99,25%, представленные жидкими ЛФ – 79,75%, преимущественно в виде растворов для наружного применения – 43,00%. Индекс обновления ассортимента за 5 лет (декабрь 2017-2021 гг.) составил 12,25%, что примерно на 6% ниже чем Российский рынок.

В ходе данных, полученных в результате систематического анализа федерального ассортимента лекарственных препаратов, применяемых при лечении были составлены макро- и мезоконтуры фармацевтических рынков ЛП для лечения ран и язв (рисунки 1 и 2), отражающих текущую ситуацию в сфере лекарственного обеспечения.

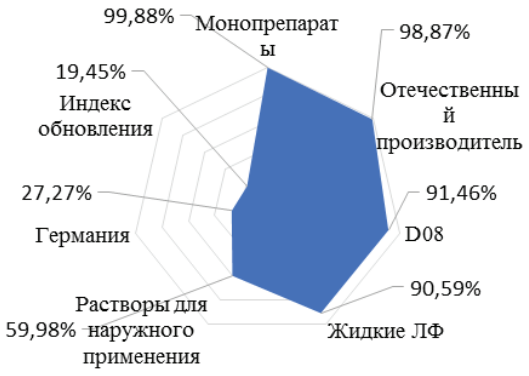


Рисунок 1. Макроконтур РФР ЛП группы D для лечения ран и язв

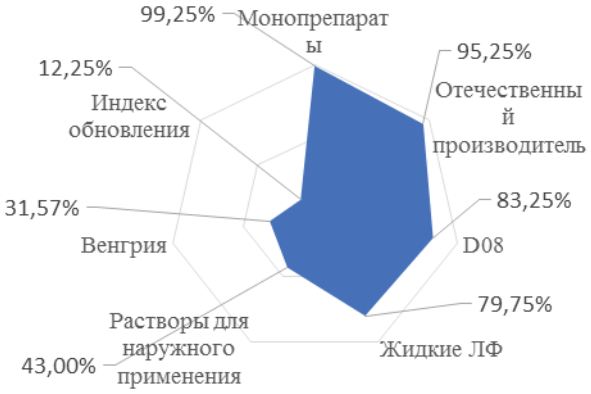


Рисунок 2. Мезоконтур КФР ЛП группы D для лечения ран и язв

На основании проведенного исследования установлена сравнительная характеристика макро- и мезоконтуров фармацевтических рынков ЛП для лечения ран и язв. Рассчитаны следующие показатели, отражающие состояние регионального ассортимента, в сравнении с количеством предложений, предоставляемых в российском сегменте специфической лекарственной помощи:

Коэффициент широты равен 0,9, что показывает насыщенность регионального рынка изучаемым ассортиментом.

Выявлено, что подгруппы D01, D08, D10 обладают полнотой ассортимента ниже 0,50, что свидетельствует о незначительном развитии данного сегмента рынка, а также влиянии экономических факторов, обострившихся в результате возникновения пандемии COVID-19, в частности, нарушением работы логистических цепей между фирмами-производителями, оптовыми и розничными звеньями фармацевтического рынка.

Глубина ассортимента во всех анализируемых подгруппах менее 0,5, за исключением D02 (равно 0,5) – препаратов со смягчающим и протекторным действием. В остальных сегментах ассортиментного портфеля, особенно среди противогрибковых препаратов для наружного применения (D01), а также антисептиков и дезинфицирующих средств (D08) наблюдается низкий показатель разнообразия средств медикаментозной терапии, применяемых для лечения ран и язв.

Следовательно, Курский фармацевтический рынок использует возможности российского фармацевтического рынка на 6,86%, что отражает необходимость в усовершенствовании доступности фармакотерапии, осуществляемой в рамках амбулаторного и стационарного лечения на базе медицинских организаций г. Курска.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

81.00.00 Общие и комплексные проблемы технических и прикладных наук и отраслей народного хозяйства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 20 декабря 2012 г. N 1247н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при ране области тазобедренного сустава, ране бедра, множественных ранах области тазобедренного сустава и бедра, ране другой и неуточненной тазовой области». [Электронный ресурс] URL: https://minzdrav.gov.ru/documents/8845-prikaz-ministerstva-zdravoohraneniya-rossiyskoy-federatsii-ot-20-dekabrya-2012-g-1247n-ob-utverzhdenii-standarta-spetsializirovannoy-meditsinskoy-pomoschi-pri-rane-oblasti-tazobedrennogo-sustava-rane-bedra-mnozhestvennyh-ranah-oblasti-tazobedrennogo-sustava-i-bedra-rane-drugoy-i-neutochnennoy-tazovoy-oblasti (Дата обращения: 30.11.2021).

2. Распоряжение Правительства РФ от 12 октября 2020 г. №2626-р «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2021 год, а также перечней лекарственных препаратов для медицинского применения и минимального ассортимента лекарственных препаратов, необходимых для оказания медицинской помощи». [Электронный ресурс:] URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_335635/a80818c7d9593b31dbd0d3418aec02298bd57d6d/ (Дата обращения: 28.12.2021).

3. Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. N 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»

4. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. URL: http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx (Дата обращения: 05.12.2021).

SUMMARY

MARKETING ANALYSIS OF MEDICINES FOR THE TREATMENT OF WOUNDS AND ULCERS

Popova P.N., 5th year student
Scientific supervisor: **Ovod A.I.**, doctor. pharm. sciences,
Head of the Department of Organization and management of pharmacy
Kursk State Medical University
3 K. Marx str., Kursk, 305041, Russian Federation
E-mail: kurskmed@mail.ru

As a result of the conducted research, data were obtained on the state of the Russian (Federal) pharmaceutical market (RFR) and the Kursk Pharmaceutical Market (CFR) of group D medicines for the treatment of wounds and ulcers for 5 years (December 2017-2021). Conclusions were drawn that the Kursk pharmaceutical market uses the capabilities of the Russian pharmaceutical market by 6.86%, which reflects the need to improve the availability of pharmacotherapy carried out as part of outpatient and inpatient treatment based on medical organizations in Kursk.

Keywords: *Russian (Federal) pharmaceutical market, State Register of Medicines, Vidal handbook, logical and system analysis, marketing (structural, content analysis), and statistical methods.*

REFERENCES

1. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated December 20, 2012 N 1247n «On approval of the standard of specialized medical care for a hip joint wound, hip wound, multiple wounds of the hip joint and hip area, a wound of another and unspecified pelvic area». [Internet]. URL: https://minzdrav.gov.ru/documents/8845-prikaz-ministerstva-zdravoohraneniya-rossiyskoy-federatsii-ot-20-dekabrya-2012-g-1247n-ob-utverzhdenii-standarta-spetsializirovannoy-meditsinskoy-pomoschi-pri-rane-oblasti-tazobedrennogo-sustava-rane-bedra-mnozhestvennyh-ranah-oblasti-tazobedrennogo-sustava-i-bedra-rane-drugoy-i-neutochnennoy-tazovoy-oblasti (Accessed: 30.11.2021).
2. Decree of the Government of the Russian Federation N 2626-r dated October 12, 2020 «On approval of the list of vital and essential medicines for 2021, as well as lists of medicines for medical use and the minimum range of medicines needed for medical care». [Internet]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_335635/a80818c7d9593b31dbd0d3418aec02298bd57d6d (Accessed: 12.28.2021).
3. Federal Law N. 61-FZ of April 12, 2010 «On circulation of medicines»
4. State Register of Medicines // [Internet]. URL: http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx (Accessed: 05.12.2021)

УДК 615.12:614.27(045)

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ КРОСС-КАТЕГОРИАЛЬНЫХ ПОДХОДОВ К УПРАВЛЕНИЮ АССОРТИМЕНТОМ АПТЕЧНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Радичкина Д.А., студ. 5 курса
Руководитель: **Немятых О.Д.,** доктор фарм. наук, профессор кафедры управления и экономики фармации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: radichkina.darya@pharminnotech.com

В работе приведена сравнительная характеристика классических и оригинальных методов управления ассортиментом аптечной организации. Установлено, что основой товарной политики является формирование оптимальной ассортиментной матрицы, что предполагает внедрение элементов категориального подхода. Выявлено, что специфической чертой кросс-категориального подхода является управление товарными категориями как самостоятельными бизнес-единицами. Использование инструментов категорийного менеджмента при формировании ассортимента фармацевтических организаций является одним из этапов совершенствования системы лекарственного обеспечения населения.

Ключевые слова: *управление ассортиментом, категорийный менеджмент, аптечная организация.*

Эффективное управление ассортиментом является одной из приоритетных задач фармацевтической организации. Оптимально сформированная ассортиментная матрица позволяет повысить эффективность лекарственного обеспечения населения, что, в свою очередь, предполагает наряду с ориентацией на показатели рентабельности продаж, реализацию принципа обеспечения требуемого уровня доступности лекарственных препаратов для конечных потребителей.

Целью работы является теоретическое обоснование кросс-категориальных подходов к управлению ассортиментом аптечной организации.

Задачи работы:

– Обзор существующих методических подходов к управлению ассортиментом аптечной организации;

– Обоснование возможности применения кросс-категориального подхода к управлению ассортиментом аптечной организации.

Основная часть

На сегодняшний день управление ассортиментом фармацевтических организаций охватывает стратегические и тактические подходы. Среди стратегических методов принято выделять три основные группы: методы анализа рыночной ситуации, методы формирования ассортиментной стратегии и методы оптимизации управления ассортиментом. Методы, используемые для анализа рыночной ситуации, позволяют оценить факторы, связанные с конъюнктурой рынка, определить степень их влияния на деятельность организации, а также дать общую качественную оценку текущей ситуации на рынке, определить возможные перспективы. Несмотря на широкое распространение данной группы методов, их использование позволяет оценить только текущую ситуацию, что определяет их неэффективность в ряде случаев [1].

Ко второй группе стратегических методов относятся методы, позволяющие сформулировать альтернативы ассортиментной стратегии исходя из целевых установок фармацевтической организации. К ним относятся матрица «продукт-рынок» И. Ансоффа, ее модификации, предложенные Д. Абелем, Е. В. Клавдиевой, М. Ковалевым, а также матрица родовых стратегий М. Портера.

Третья группа методов – методы оптимизации стратегии управления ассортиментом. Общая сущность данных моделей состоит в представлении продуктового портфеля в виде неоднородных групп. К данной группе методов относят матрицы BCG, A.D. Little, Hofer/Schendel, GE/McKinsey, Shell/DPM.

Несмотря на популярность стратегических подходов, необходимость точного определения границ рынков и оценки факторов приводит к возможности возникновения ряда ошибок, что может оказать существенное влияние на дальнейшие решения.

Среди тактических методов управления ассортиментом организации выделяют методы определения спроса, методы экономического анализа ассортимента и методы разработки плана продаж. Для определения спроса используются методы намерений потребителей, экспертные и статистические методы. При этом использование статистических методов предпочтительно при большом объеме статичных данных. В случае, если за исследуемый период наблюдалось резкое изменение объема продаж, приоритетными представляются методы исследования намерений потребителей и экспертные методы. Кроме того, выбор метода определения спроса зависит от этапа жизненного цикла, на котором находится товар и возможности сбора данных [2].

К группе методов экономического анализа ассортимента относятся такие инструменты, как ABC-анализ, XYZ-анализ, матрица «Маркон», метод Дибба – Симкина и др. Классическим методом управления ассортиментом является ABC-анализ, представляющий собой математико-статистический метод исследования частоты возникновения определённых экономических явлений. Метод основан на использовании принципа Парето, в соответствии с которым 20% товаров обеспечивают организации 80% прибыли. Результатом анализа является группировка товаров в зависимости от их степени влияния на общий результат деятельности. Однако, наряду с преимуществами, ABC-анализ имеет ряд недостатков: ретроспективность анализа, невозможность оценки влияния впервые введенных позиций, одномерность метода. Отмечено, что использование только трех учетных групп (A, B, C) не всегда позволяет качественно и достоверно разделить исследуемые данные [1,3].

Методы разработки плана продаж включают различные методы математического моделирования, в том числе линейное программирование, нелинейное программирование, динамическое программирование и т.д. Так, линейное программирование позволяет найти наибольшие и наименьшие значения показателей, на которые наложены линейные ограничения, записанные в виде системы неравенств. Модели линейного программирования используются при планировании товарооборота, распределении ресурсов, рационализации закупок и т.п. Отмечено, что линейные методы не обладают достаточной полнотой, поскольку позволяют получить оптимальное решение только на один плановый период и не рассматривают его связь с показателями предыдущего и последующего периодов. При динамическом программировании процесс принятия решения, как правило, разбивается на этапы. На каждом из них определяется решение некоторой частной задачи, условия и результаты которой зависят от особенностей предыдущего этапа, что обуславливает трудоемкость метода.

Таким образом, проблема эффективного управления ассортиментом сегодня заключается в четком планировании и обоснования наличия или отсутствия отдельных позиций и их характеристик в структуре предложения, а также соответствие SKU требованиями потребителей, что предполагает использование оригинальных современных инструментов, учитывающих рыночную конъюнктуру.

На сегодняшний день перспективным для фармацевтических организаций представляется категориальный подход, поскольку он позволяет сформировать предложение в виде оптимально наполненного сбалансированного ассортимента, не акцентирующего внимания на отдельных брендах и марках, что позволяет достичь необходимого уровня качества лекарственного обеспечения населения. Категорийный менеджмент в фармации можно рассматривать как комплексную методологию управления ассортиментом аптечной организации на основе анализа потребности населения в лекарственных препаратах и товарах аптечного ассортимента, объединенных в группы по сходным потребительским признакам, позволяющую учитывать специфику условий работы аптечной организации. Основная особенность категориального менеджмента − четкая фокусировка на потребителе и его представлениях о товарах [1].

Особенностью категорийного подхода является управление товарными категориями как самостоятельными бизнес-единицами, что обеспечивает эффективное использование финансовых, материальных, информационных и других

ресурсов. Управление категориями можно рассматривать как процесс поэтапного планирования, что позволяет контролировать каждый этап товародвижения, обеспечить взаимозаменяемость сотрудников и повысить производительность аптечной организации.

К инструментам категорийного менеджмента, достаточно часто применяемым в фармацевтической практике, относятся классические ABC-, XYZ- анализ, их совмещенные варианты, каскадный ABC-анализ по нескольким показателям, ABCD-, ABCDE-анализ и др. Менее распространенными методами являются анализ жизненных циклов лекарственных препаратов, сезонности спроса, кластерный анализ ценовых характеристик товаров аптечного ассортимента, конкурентный анализ (бенчмаркинг), матрицы Маркон и BCG, построение дерева целей и имитационное моделирование.

Стоит подчеркнуть, что оптимизация ассортимента невозможна без учета специфики аптечной организации, в которой проводится модернизация структуры ассортиментного профиля. При этом характеристические черты аптечных организаций, в т.ч. площадь торгового зала, объем продаж, количество чеков, социо-географические характеристики, формат могут рассматриваться как типичные признаки для их категоризации (табл. 1) [1].

Таблица 1 – Варианты категоризации аптек по площади и проходимости [4]

Размер торговой площади	Количество аптек в сети	Площадь торгового зала	Проходимости (чел./день)
S	50	<31	<100
M	30	31-50	100-200
L	10	51-70	201-300+

Грамотный подход к категоризации аптек одной сети позволит сформировать единую политику управления ассортиментом. Оптимальное количество форматов должно не превышать 7-10. Для небольших организаций этот показатель колеблется около 2-3 [5].

Кросс-категориальный подход также предполагает разработку товарного классификатора. Данный ресурс позволит эффективно принимать решения о необходимости включения или элиминации товарных позиций. Основной структурной единицей классификатора является товарная категория – совокупность товаров, воспринимаемых потребителем как единой целое [6,7]. Товарная категория в ассортиментной матрице аптечной организации может подразделяться на субкатегории. В данном случае разделение осуществляется по лекарственным формам, брендам, дозировкам и др. Стоит отметить, что правильное формирование категории, в том числе на основе «дерева покупательских решений» – ключевой этап эффективного управления ассортиментом [8,9].

Результатом формирования и группировки всех категорий является ассортиментная матрица, являющаяся локальной базой данных. Она содержит информацию о товарах аптечного ассортимента, реализуемых в данной аптечной организации: бренд, свойства товара, включение товара в минимальный ассортимент, условия работы с поставщиками, код производителя, штрих-код, количество единиц в упаковке, масса нетто/брутто, а также ФИО категорийного менеджера, занимающегося данной категорией товаров (рис. 1).

Ассортимент аптечной организации должен быть сбалансирован по ширине и глубине. Ширина определяется числом потребительских групп лекарственных препаратов и других товаров аптечного ассортимента или числом уникальных наименований лекарственных препаратов. Глубина ассортимента представляет собой число разных вариантов торговых наименований товаров с учетом различных форм выпуска, дозировок и фасовок в рамках одного уникального наименования. Формирование корректного потребительского восприятия – комплексная задача. При избыточности ассортимента возникает сложность выбора, а при недостаточности – возрастает риск негативного впечатления от процесса покупки, и, как следствие, неудовлетворение потребности [10,11]

Для предварительной балансировки ассортимента используется модифицированная матрица Бостонской консалтинговой группы. В качестве основных параметров принято выделять удельный вес потребительской группы в ТО (ось абсцисс) и удельный вес потребительской группы в темпе роста ТО (ось ординат). Интерпретация результатов анализа аналогична классической модели BCG. В случае, если темпы роста определенной товарной группы в рамках конкретной аптечной сети имеют существенное различие с общерыночными тенденциями, требуется проведение дополнительных маркетинговых исследований [1,12].

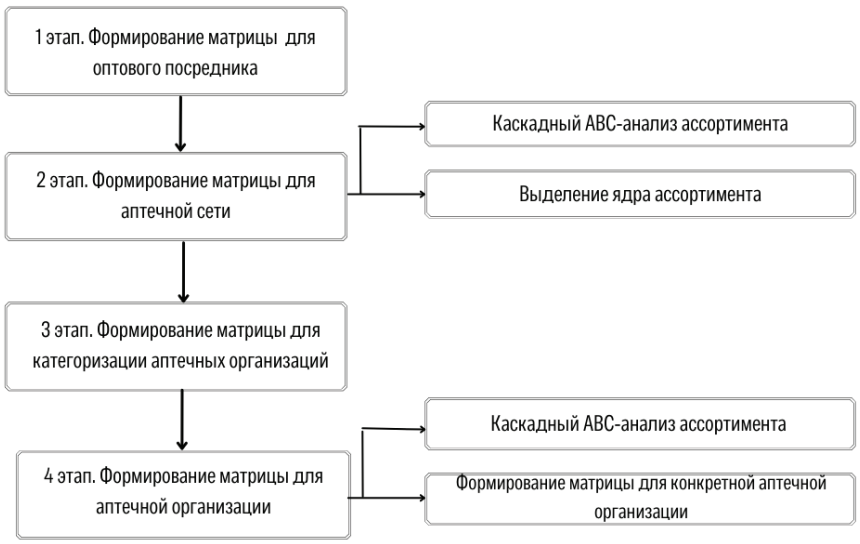


Рисунок 1. Этапы формирования ассортиментной матрицы [4]

В рамках более тонкой балансировки ассортимента применяется ролевой, или кросс-категориальный, анализ. При использовании данного метода каждому товару присваивается особая роль, обуславливающая его назначение (табл. 2) [13].

Таблица 2 – Ролевые виды категорий [14]

Роль	Назначение	Количество в ассортименте (от общ. числа)
Уникальная	Создание имиджа организации, дифференциация потребителем среди конкурентов.	1-3%
Приоритетная	Обеспечение прибыльности ассортимента	20%
Базовая	Обеспечение оборачиваемости ассортимента	40-50%
Периодическая/ сезонная	Обеспечение обновляемости ассортимента	до 20%
Удобная	Увеличение суммы чека, дополнение к комплексной покупке	10-15%

Таким образом, кросс-категориальный подход позволяет сравнить показатели прибыли и товарооборота между всеми потребительскими группами, а также сформировать тактику и стратегию развития для каждой ролевой группы (рис. 2).

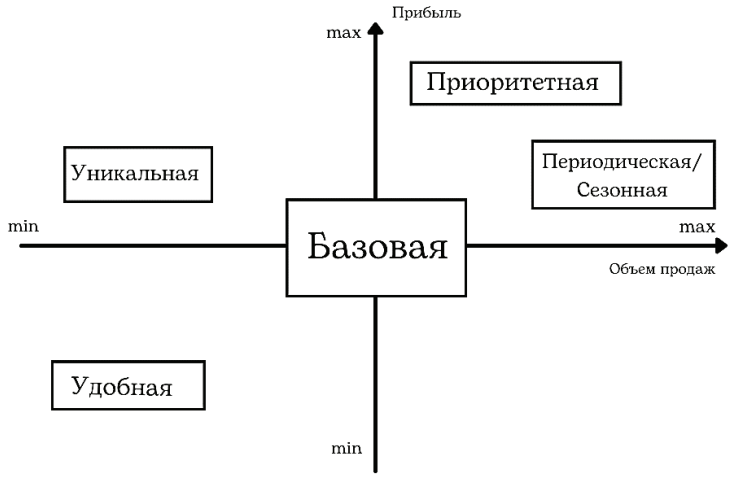


Рисунок 2. Графическая интерпретация кросс-категориального анализа [15]

Заключение

В работе были рассмотрены традиционные и оригинальные подходы к управлению ассортиментом. Несмотря на значительную вариативность методов, современные тенденции фармацевтической отрасли выражают потребность в инновационных подходах. Обобщая все вышеизложенное, есть основания заключить, что кросс-категориальный подход можно рассматривать как комплексную методологию управления ассортиментом аптечной организации на основе анализа реальной потребности населения в лекарственных препаратах, объединенных в группы по сходным потребительским признакам. При этом принципы максимизации потребительской ценности ассортимента и обеспечения эф-

фективности лекарственного обеспечения обеспечены формированию уникальных ассортиментно-ценовых матриц, позволяющих прогнозировать потребность в лекарственных препаратах.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00. Медицина и здравоохранение

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Каримова А.А., Андрианова Г.Н. Разработка методических подходов к категориальному анализу ассортимента на примере аптечной сети государственной формы собственности // Уральский медицинский журнал. 2018. № 1. С. 132−135.

2. Беленов О.Н., Бугаева Т.М. // Типология методов управления ассортиментом продукции Современная экономика: проблемы и решения. 2010. N 1. С. 69-76.

3. Деревянко А.А., Рябова Т.В. Сущность и направления использования ABC-Анализа // Современные тенденции в экономике и управлении. 2015. С. 33-37.

4. Категорийный менеджмент в фармации / Г.Н. Андрианова [и др.]. Екатеринбург: Изд-во УГМУ, 2017. 184 с.

5. Sanuwar Rashid Category Management: The Effective Way of Managing Retail Business. Sweden: The University of Boras, 2010.

6. Требинский В.В. Опыт применения ABC- и XYZ-анализов в управлении ассортиментом розничного предприятия на примере книжного магазина // Вопросы современной науки и практики. 2008. С. 132-136.

7. Кириллова О.Ю., Ланцова О.В. Повышение эффективности закупок как результат внедрения категорийного менеджмента // Вестник Волгоградского государственного университета. Экономика. 2019. Т. 21. N 3. С. 129–142.

8. Старовойтова С.М. Ассортиментная политика аптечной организации: категорийный менеджмент и управление ассортиментом // Вестник фармации. 2016. N 2 (72).

9. Richard Dumont Purchasing Category Management in Practice / Dumont Richard. Gothenburg : Chalmers university of technology, 2014. 80 с.

10. Визуализация средствами деловой графики матрицы Бостонской группы (БКГ): методические указания по выполнению лабораторных работ / Юго-Зап. гос. ун-т; сост.: Т.А. Добровольская. Курск, 2018. 15 с.

11. Корчагова Л.А. Особенности формирования продуктового портфеля на фармацевтическом рынке // Вестник РГГУ. Серия «Экономика. Управление. Право». 2017. N 4. С. 61-73

12. Мешалкина С.Ю. Методические подходы к управлению ассортиментом в фармацевтических организациях дальневосточного региона // Фармация и фармакология. 2015. N 4. С. 52-56.

13. Лисовский П.А. Управленческие перспективы планирования ассортимента в аптечных сетях // Ремедиум. 2010. N 3. С. 44–48.

14. Миргородская О.Н. Категорийный менеджмент как современная маркетинговая технология управления товарным ассортиментом // Концепт. 2014. N 17.

15. The Future of Procurement for Pharma Operations // BCG [Internet] URL: https://www.bcg.com/publications/2021/future-of-pharma-company-procurement-function (Accessed: 02.11.2021).

SUMMARY

THEORETICAL FUNDATION OF CROSS-CATEGORY APPROACHES TO ASSORTMENT MANAGEMENT IN PHARMACY ORGANIZATION

Radichkina D.A., 5th year student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: radichkina.darya@pharminnotech.com

The paper presents a comparative characteristic of classical methods of managing the assortment of pharmacy organization. It was established that the main task is planning activities aimed at forming an assortment matrix, as well as to bring the characteristics of the goods of the pharmacy assortment in line with the requirements of consumers, which expresses the need to use modern methods, among which the most promising is the categorical approach. The main features of category management are marked. It was revealed that a specific feature of the cross-category approach is the management of product categories as independent business units. The use of cross-category approach is one of the stages of improving the system of drug provision of the population.

Keywords: *assortment management, category management, pharmacy organization.*

REFERENCES

1. Karimova A.A., Andrianova G.N. Development of methodological approaches to the categorical analysis of the assortment on the example of a pharmacy chain of the state form of ownership // Ural Medical Journal. 2018. N. 1. PP. 132−135. (in Russian)

2. Belenov O.N., Bugaeva T.M. Typology of product range management methods // Modern economy: problems and solutions. 2010. N 1. C. 69-76. (in Russian)

3. Derevyanko A.A., Ryabova T.V. Essence and Directions of Use of the ABC-Analysis // Modern Trends in Economics and Management. 2015. - C. 33-37. (in Russian)

4. Category management in pharmacy / G.N. Andrianova [et al.]. Yekaterinburg: UGMU Publishing House, 2017. 184 c. (in Russian)

5. Sanuwar Rashid Category Management: The Effective Way of Managing Retail Business. - Sweden: The University of Boras, 2010.

6. Trebinsky V.V. Experience in the application of ABC- and XYZ-analysis in the management of assortment of retail enterprise on the example of a bookstore // The questions of modern science and practice. 2008. C. 132-136. (in Russian)

7. Kirillova O.Y., Lantsova O.V. Increasing the efficiency of procurement as a result of the introduction of category management // Bulletin of the Volgograd State University. Economy. 2019. T. 21. N 3. C. 129–142. (in Russian)

8. Starovoitova S.M. Assortment policy of a pharmacy organization: category management and assortment management // Vestnik pharmatsii. 2016. N 2 (72). (in Russian).

9. Richard, Dumont Purchasing Category Management in Practice / Dumont Richard. Gothenburg : Chalmers university of technology, 2014. 80 c.

10. Visualization by means of business graphics of the Boston Group matrix (BCG): guidelines for laboratory works / Southwestern State University: T.A. Dobrovolskaya. Kursk, 2018. 15 c. (in Russian)

11. Korchagova L.A. Peculiarities of the formation of a product portfolio in the pharmaceutical market. Series «Economics. Management. Law». 2017. N 4. C. 61-73. (in Russian)

12. Meshalkina S.Yu. Methodological approaches to assortment management in pharmaceutical organizations of the Far East region // Pharmacy and Pharmacology. 2015. N 4. C. 52-56. (in Russian)

13. Lisovsky P.A. Management perspectives of assortment planning in pharmacy networks // Remedium.2010.N 3. C. 44-48. (in Russian)

14. Mirgorodskaya O. N. Category management as a modern marketing technology of management of a commodity assortment // Concept. 2014. Special issue № 17. (in Russian)

15. The Future of Procurement for Pharma Operations // BCG [Internet] URL: https://www.bcg.com/publications/2021/future-of-pharma-company-procurement-function (Accessed: 02.11.2021).

УДК 347.771

АКТУАЛЬНЫЕ ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ПАТЕНТНОГО ЗАКОНОДАТЕЛЬСТВА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ОТРАСЛИ

Ротблат Г.Р., магистрант 2 года обучения
Руководитель **Симакова Е.К.**, канд. экон. наук, доцент кафедры экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: rotblat.georgij@pharminnotech.com

Проведен анализ различных решений и инициатив, которые были выдвинуты или приняты в последнее время государственными органами, способными влиять на ситуацию с патентованием в фармацевтической отрасли. На основании выдвинутых и утвержденных предложений были сделаны выводы о векторе развития патентного законодательства в фармотрасли. В перспективе принятые решения должны повысить эффективность работы всей системы патентования, обеспечить баланс интересов участников фармрынка, также стимулировать производство отечественных инновационных лекарственных препаратов.

Ключевые слова: *развитие, фармрынок, патентование, изменения.*

Эффективная защита прав интеллектуальной собственности на фармацевтическом рынке является ключевым драйвером создания инновационных препаратов, которые зачастую предназначены для лечения редких и очень тяжелых заболеваний. Это особенно важно в России, где производство отечественных инновационных лекарственных препаратов только начинает развиваться. Помимо этого, производство собственных оригинальных препаратов снижает импортозависимость страны и повышает ее национальную безопасность и самостоятельность, а также позволит в перспективе выводит свои оригинальные препараты на международный рынок и получать с этого прибыль.

Патентное законодательство Российской Федерации далеко от идеала, поэтому его постоянно стараются улучшать и дополнять. Проанализировав последние изменения в области защиты патентных прав в фармацевтической отрасли, можно определить в каком направлении будет развиваться патентное законодательство.

Цель работы

Провести анализ различных решений и инициатив, которые были выдвинуты или приняты в последнее время государственными органами, способными влиять на ситуацию с патентованием в фармацевтической отрасли.

Задачи работы

Определить вектор развития патентного законодательства в фармацевтической отрасли.

Определить, какие конкретные эффекты окажут принимаемые решения и инициативы на патентование в фарминдустрии.

Материалы и методы

Анализ проводился логическим методом исследования. Оценка общей картины проводилась индуктивным методом. В качестве материалов использовались информационные источники, доступные в сети «Интернет», такие как: НПА, статьи, новости на профильных порталах, а также материалы судебных дел, позволяющие сделать вывод об актуальных тенденциях развития патентного законодательства в фармацевтической отрасли.

Результаты и обсуждение

В настоящее время в области патентования лекарственных средств существуют проблемы, которые не позволяют компаниям наиболее эффективно выводить на рынок свои новые продукты. Также одной из проблем отечественной фармацевтики является низкий уровень производства и разработки инновационных препаратов. Государство, действуя в интересах производителей и простых граждан, принимает меры, которые должны в перспективе изменить ситуацию в лучшую сторону. Если обобщать, то можно сказать, что на данный момент актуальными тенденциями развития патентного законодательства в фармацевтической отрасли в Российской Федерации является упрощение и ускорение процедуры патентования, повышение эффективности работы всей системы, а также обеспечение баланса интересов участников фармрынка и развитие и стимулирование собственного производства инновационных лекарственных препаратов.

Намереваясь ускорить процедуру выдачи новых патентов, федеральным законом от 31 июля 2020 года № 262-ФЗ «О внесении изменений в часть четвертую Гражданского кодекса Российской Федерации» внесены изменения в Гражданский кодекс Российской Федерации. В соответствии с этими изменениями предполагается, предварительный информационный поиск и предварительную оценку патентоспособности изобретений и полезных моделей смогут проводить различные российские научные и образовательные организации, которые будут аккредитованы Роспатентом [1].

Данная услуга будет добровольной для компаний и будет предоставляться на коммерческой основе. Стоимость услуги будет зависеть от сложности, объема и сроков информационного поиска, которые будут прописаны в договоре между организациями.

Заявитель должен проинформировать Роспатент об обращении в аккредитованную организацию путем направления заявления в произвольной форме.

При этом процедура проведения информационного поиска, предусмотренная Гражданским кодексом Российской Федерации, сохраняется и будет осуществляться Роспатентом в ходе предоставления соответствующих государственных услуг по государственной регистрации изобретений, полезных моделей и выдаче на них патентов с учетом результатов проведенных предварительных процедур, в случае их поступления в Роспатент до принятия по заявке решения о выдаче патента, либо об отказе в выдаче патента, либо о признании заявки отозванной. Заявление может быть подано до начала проведения экспертизы заявки на изобретение по существу или до завершения формальной экспертизы заявки на полезную модель.

Изменения, касающиеся введения новой процедуры, вступили в силу с 1 августа 2021 года.

Данное нововведение на практике должно ускорить процесс выдачи патентов, что позволит компаниям меньше находиться в подвешенном состоянии в ожидании заключения о выдаче патента и в случае успеха позволит быстрее вывести продукт на рынок и получать прибыль, а также обеспечивать население необходимыми лекарственными препаратами.

Дополняет вышеупомянутое нововведение заработавший в России в тестовом режиме прототип Фармреестра, который был запущен 30 июня 2021 года. В данный реестр включены обладающие фармакологической активностью действующие вещества, охраняемые патентом на изобретение. Фармреестр разрабатывался Роспатентом в соответствии с поручением Председателя Правительства Российской Федерации Михаила Мишустина [2].

В мероприятии приняли участие представители Евразийской экономической комиссии, Евразийского патентного ведомства, национальных патентных ведомств и других уполномоченных органов государств – членов ЕАЭС, органов государственной власти РФ.

Создание такой структуры позволит компаниям, занимающимся патентным поиском и оценкой патентоспособности изобретения, получать достоверную информацию о патентах, что позволит снизить количество выводимых на рынок дженериков при еще действующей охране на оригинальный препарат. Также полноценный запуск Фармреестра позволит снизить временные затраты на проведение экспертизы по существу за счет того, что вся необходимая информация будет собрана в одном месте.

Говоря о фармреестре, нельзя не упомянуть о том, что минэкономразвития разработало законопроект о создании фармреестра патентов, который был представлен отрасли 1 сентября. Законопроект должен регулировать порядок ведения реестра, размещение в нем необходимой информации и внесения в нее изменений, предоставление информации, содержащейся в реестре, а также исключения данных из реестра. Также согласно законопроекту в реестре будет размещаться информация только о тех патентах, которые защищают химические соединения. О других видах патентов в документе речь не идет [3].

Отвечать за координацию работ по созданию, эксплуатации и модернизации реестра будет Федеральная служба по интеллектуальной собственности.

В пояснительной записке авторы документа утверждают, что он направлен на защиту исключительных прав на изобретения в сфере фармацевтики в России. В случае принятия документа он должен вступить в силу спустя один год после его официального опубликования. Такой переходный период объясняется необходимостью подготовки и принятия дополнительных нормативных правовых актов.

В патентном законодательстве не все досконально прописано, чем и пользуются представители так называемой «Бигфармы». Суть проблемы заключается в том, что компании, которые уже запатентовали соединение регистрируют его новые формы или производные (соли, сольваты, гидраты, комплексные соединения или эфиры), которые не проявляют новых или неизвестных свойств в качественном или количественном измерении. Таким образом компания постоянно «обновляет» свой патент и отодвигают дату вывода дженерикового препарата. Такие патенты называют «вечнозелеными», и они вносят существенный дисбаланс на фармацевтический рынок, а покупатель вынужден покупать дорогой оригинальный препарат, потому что дженерик просто не может выйти на рынок.

Чтобы решить эту проблему Минэкономразвития внесло изменения в правила выдачи патентов на препараты. В силу вступил приказ Министерства экономического развития, который вносит изменения в правила регистрации изобретений и в требования к документам при подаче заявки. Поправки касаются приказа министерства от 25 мая 2016 г. № 316 [4].

В соответствии с этими поправками изобретение не может соответствовать условию «изобретательский уровень» (а значит, и патент не может быть выдан) в случае, если оно основано на создании химического соединения, являющегося формой уже известного химсоединения или его производным, которое не проявляет новых свойств в качественном или количественном отношении по сравнению с известным соединением. Приказ Минэкономразвития также вносит изменения в требования к документам заявки на выдачу патента на изобретение, которые предусматривают предоставление заявителем сведений, достоверно подтверждающих проявление новых свойств изобретения.

Это изменение должно привести к тому, что производители дженериковых препаратов смогут раньше регистрировать и выводить на рынок свои продукты. Тем самым граждане и медицинские учреждения смогут получать качественные лекарственные препараты за цену гораздо более низкую, чем цена оригинала. Кроме этого, производитель оригинального лекарственного препарата не всегда может выпускать и поставлять необходимое количество продукта, вследствие чего в аптечных сетях и специализированных организациях может наблюдаться дефицит товара или его полное отсутствие. Чем раньше получится зарегистрировать и начать производство дженерика, тем ниже будет вероятность образования дефицита и тем быстрее будут созданы стратегические запасы готовой продукции.

В подтверждение намерения борьбы с «вечнозелеными» патентами стоит обратить внимание на то, что в конце июля Роспатент аннулировал 3 патента компании Chiesi в результате рассмотрения возражений «ПСК Фарма» против четырех патентов итальянской компании [5].

Речь о патентах:

• ЕА № 007735 на группу изобретений «Высокодисперсный препарат формотерола»;

• ЕА № 18589 на изобретение «Применение композиции, содержащей формотерол и дипропионат беклометазона, для предотвращения и/или лечения обострения астмы»;

• ЕА № 005179 на группу изобретений «Стабильные фармацевтические препараты в виде растворов для дозированных ингаляторов под давлением».

«Патенты относятся к «вечнозеленому жанру» и основаны на комбинации известных в фармацевтике подходов, применяемых для получения очевидных для специалиста результатов. С помощью этих патентов компания «Кьези» стремится воспрепятствовать выводу на рынок аналогов своего препарата «Фостер», – пояснил «ФВ» патентный поверенный Алексей Михайлов, который представляет интересы компании «ПСК Фарма».

Это решение демонстрирует серьезность намерений Минэкономразвития создать более конкурентную среду на рынке, а также повысить доступность лекарственных препаратов для населения путем борьбы с «вечнозелеными» патентами.

На VI ежегодном форуме «Биотехмед» была презентована стратегия «Фарма 2030». Одной из основных целей данной стратегии является выход из ловушки дженериковой модели развития. В концепции стратегии определены три целевых направления: локализация (обеспечение нацбезопасности и технологической модернизации), инновационность (появление и сбыт оригинальных препаратов), доступ к внешним и внутренним рынкам.

Достичь поставленных целей планируется внедрением ограничения на регистрацию большого количества дженериков и биоаналогов, но только в случае наличия в МНН нескольких российских препаратов. Согласно концепции, такие ограничения наряду с другими мерами поддержки должны стимулировать российских производителей на разработку оригинальных препаратов [6].

«Это международная практика, это не изобретение России. Но это правильно, чтобы одновременно поддерживая конкуренцию, не доводить до размытия рынка, до убийства рынка с точки зрения его рентабельности», – сказал Осьмаков В., первый заместитель министра промышленности и торговли.

«Исключительно «дженериковая» модель развития создает риски потери конкурентоспособности в перспективе. Для отрасли необходимы стимулы, способствующие к дальнейшему переходу на инновационную модель», – говорится в презентации стратегии.

Заключение

Анализируя все вышесказанное, можно убедиться в том, что государством и государственными структурами принимаются и разрабатываются конкретные стратегии и решения по вопросам патентования лекарственных препаратов, которые в перспективе должны повысить эффективность работы всей системы патентования, обеспечить баланс интересов участников фармрынка, также стимулировать производство отечественных инновационных лекарственных препаратов.

Вектор развития патентного законодательства в фармацевтической отрасли направлен на развитие производства инновационных препаратов и снижение импортозависимости.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

10.35.61 Патенты и их правовая защита

ЛИТЕРАТУРА

1. Информационное сообщение о процедуре предварительного информационного поиска и предварительной оценки патентоспособности в отношении заявленного изобретения, полезной модели // Роспатент. [Электронный ресурс]. URL: https://rospatent.gov.ru/ru/documents/informacionnoe-soobshchenie-29012021 (Дата обращения 02.10.2021)

2. Прототип фармреестра патентов начал работу в РФ в тестовом режиме // GxP News. [Электронный ресурс]. URL: https://gxpnews.net/2021/06/prototip-farmreestra-patentov-nachal-rabotu-v-rf-v-testovom-rezhime/ (Дата обращения 02.10.2021)

3. Законопроект о Фармреестре патентов [Электронный ресурс]. URL: https://epam.ru/ru/media/view/zakonoproekt-o-farmreestre-patentov (Дата обращения: 10.10.2021)

4. Фармвестник: Минэкономразвития внесло изменения в правила выдачи патентов на препараты. [Электронный ресурс]. URL: https://rospatent.gov.ru/ru/news/farmvestnik-izmeneniya-v-pravila-vydachi-patentov-na-preparaty-080621 (Дата обращения 10.10.2021)

5. «ПСК Фарма» удалось аннулировать три патента Chiesi на препарат для терапии астмы [Электронный ресурс]. URL: https://pharmvestnik.ru/content/news/PSK-Farma-udalos-annulirovat-tri-patenta-Chiesi-na-preparat-dlya-terapii-astmy.html (Дата обращения 21.10.2021)

6. Минпромторг предложил ограничить регистрацию большого количества дженериков [Электронный ресурс]. URL: https://pharmvestnik.ru/content/news/Minpromtorg-predlojil-ogranichit-registraciu-bolshogo-kolichestva-djenerikov-v-ramkah-Farmy-2030.html (Дата обращения 21.10.2021)

SUMMARY

CURRENT TRENDS IN THE DEVELOPMENT OF PATENT LEGISLATION IN THE PHARMACEUTICAL INDUSTRY

Rotblat G.R., 2nd year master student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: rotblat.georgij@pharminnotech.com

The analysis of various decisions and initiatives that have been put forward or adopted recently by government agencies capable of influencing the situation with patenting in the pharmaceutical industry. Based on the proposals put forward and approved, conclusions were drawn about the vector of development of patent legislation in the pharmaceutical industry. In the future, the decisions taken should increase the efficiency of the entire patenting system, ensure a balance of interests of pharmaceutical market participants, and also stimulate the production of domestic innovative medicines.

Keywords: *development, pharmaceutical market, patenting, changes.*

REFERENCES

1. Information message on the procedure of preliminary information search and preliminary assessment of patentability in relation to the claimed invention, utility model [Internet]. URL: https://rospatent.gov.ru/ru/documents/informacionnoe-soobshchenie-29012021 (Accessed: 02.10.2021). (in Russian).

2. The prototype of the pharmaceutical register of patents has started working in the Russian Federation in test mode // GxP News. [Internet]. URL: https://gxpnews.net/2021/06/prototip-farmreestra-patentov-nachal-rabotu-v-rf-v-testovom-rezhime/ (Accessed: 02.10.2021). (in Russian).

3. The draft law on the Pharmaceutical Register of Patents [Internet]. URL: https://epam.ru/ru/media/view/zakonoproekt-o-farmreestre-patentov (Accessed: 10.10.2021). (in Russian).

4. Farmvestnik: The Ministry of Economic Development has amended the rules for issuing patents for drugs [Internet]. URL: https://rospatent.gov.ru/ru/news/farmvestnik-izmeneniya-v-pravila-vydachi-patentov-na-preparaty-080621 (Accessed: 10.10.2021). (in Russian).

5. «PSK Pharma» managed to cancel three Chiesi patents for a drug for asthma therapy [Internet]. URL: https://pharmvestnik.ru/content/news/PSK-Farma-udalos-annulirovat-tri-patenta-Chiesi-na-preparat-dlya-terapii-astmy.html (Accessed: 21.10.2021). (in Russian).

6. The Ministry of Industry and Trade proposed to limit the registration of a large number of generics [Internet]. URL: https://pharmvestnik.ru/content/news/Minpromtorg-predlojil-ogranichit-registraciu-bolshogo-kolichestva-djenerikov-v-ramkah-Farmy-2030.html (Accessed: 21.10.2021). (in Russian).

УДК 61:615.1

АНАЛИЗ ЗАРУБЕЖНЫХ И ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПРАКТИК НАЗНАЧЕНИЯ ПРОДУКТОВ ЭНТЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОНКОЛОГИЧЕСКОГО СПЕКТРА

Сметанина Д.Я., студ. 3 курса
Руководитель: **Кирпикова К.Е.**, преподаватель кафедры медицинского и фармацевтического товароведения
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14., лит. А, Российская Федерация
E-mail: darya.smetanina@spcpu.ru

В статье представлен результат контент-анализа отечественных и зарубежных рекомендаций, содержащих подходы к назначению пищевых продуктов энтерального питания для оказания нутритивной поддержки пациентам с онкологическими заболеваниями. Установлено, что имеющиеся Рекомендации и Руководства не оказывают прямого влияния на формирование номенклатуры продуктов энтерального питания, используемых для оказания нутритивной поддержки онкологическим больным в медицинских организациях.

Ключевые слова: *энтеральное питание, нутритивная поддержка, мальнутриция, клинические рекомендации, онкология.*

Лечебное питание является неотъемлемой частью в комплексном лечении больных, находящихся как на стационарном, так и на амбулаторном лечении, а также входит в число основных лечебных мероприятий. Лечебное питание реализуется за счет назначения пациенту одной из рекомендованных стандартных диет, добавления к блюдам биологически активных добавок и готовых специализированных смесей. Другим подходом по оказанию нутритивной поддержки пациентам является назначение пищевых продуктов энтерального питания в случае невозможности принимать пищу обычным способом или если обычная еда не покрывает потребности организма в питательных веществах [1].

Одним из наиболее частых случаев введения в пищевой рацион продуктов энтерального питания является наличие онкологических заболеваний. Значимость нутритивного статуса таких пациентов в процессе диагностики и лечения, по мнению экспертов [2], объясняется большей склонностью к развитию осложнений и возникновению сопутствующих инфекций при развитии мальнутриции. Эти факторы, в свою очередь, увеличивают длительность нахождения больного в лечебно-профилактических медицинских учреждениях и, как следствие, влияют на риск смертности. С целью диагностики, стабилизации и улучшения нутритивного статуса онкологических больных зарубежными и отечественными учеными были разработаны различные инструкции, рекомендованные к применению в лечебно-профилактических медицинских организациях.

Так, первые Рекомендации по энтеральному питанию пациентов с неоперабельным раком были опубликованы Европейским обществом клинического питания и метаболизма (ESPEN) в 2006 году (Clin. Nutr. 2006; 25:245–259). На их основе в 2010 году были разработаны первые российские «Клинические рекомендации по организации энтерального питания онкологических больных в лечебно-профилактических учреждениях» были разработаны Профильными экспертными комиссиями по онкологии и диетологии Экспертного совета в сфере здравоохранения Минздрава России. В 2012 году ученые Британской ассоциации парентерального и энтерального питания (BAPEN) выпустили рекомендации по клиническому питанию пациентов с различными заболеваниями (Prof. J Lennard-Jones, 2012).

В 2016 году группой экспертов Американского общества парентерального и энтерального питания (A.S.P.E.N.) совместно с Обществом специалистов критической медицины (SCCM) были разработаны первые клинические рекомендации по нутритивной поддержке пациентов, находящихся в отделениях интенсивной терапии, один из разделов которых посвящен коррекции нутритивного статуса пациентов с онкологическими заболеваниями, перенесших оперативные хирургические вмешательства. В 2017 году ESPEN было опубликовано первое специализированное Руководство, посвященное питанию онкологических больных. Расширяя сферу применения пищевых продуктов энтерального питания в Российской Федерации, В.В. Бояринцев и М.А. Евсеев составили Руководство для врачей «Метаболизм и нутритивная поддержка хирургического пациента».

В 2020 году ESPEN было разработано Руководство по энтеральному питанию в домашних условиях, которое содержит указания по кормлению в том числе онкологических больных. В то же время авторы [3] представили Практические рекомендации, объединяющие наиболее прогрессивную практику применения энтерального питания для коррекции нутритивного статуса пациентов с онкологией в России. В 2021 году первое Руководство ESPEN было актуализировано с учетом накопленного опыта и технологического прогресса [4]. Приведенные документы содержат наиболее актуальные и научно-обоснованные подходы к организации клинического питания в онкохирургии и неоперабельной онкологии на сегодняшний день.

Несмотря на наличие Руководств и Рекомендаций по организации клинического питания в лечебно-профилактических медицинских организациях, исследование [5] показало, что лишь треть онкологических больных с нарушениями питания получали эффективную нутритивную поддержку. Доля пациентов с нарушенным нутритивным статусом на момент постановки диагноза варьировалась от 15 до 40%, а доля онкологических больных, которые находились в группе риска развития мальнутриции на момент выписки, составила более 36%. Также исследователями было показано, что частота возникновения нарушений нутритивного статуса увеличивалась по мере прогрессирования заболевания у таких пациентов до 80%.

Согласно статистическим данным, представленным на сайте главного внештатного онколога Минздрава России – Андрея Каприна, в 2020 году наличие злокачественных образований было впервые выявлено у 556 тыс. пациентов. В

2021 году на учете в медицинских и профильных онкологических организациях состояли почти 3 974 тыс. пациентов. При этом удельный вес патологий, при которых рекомендовано назначение энтерального питания (рак органов дыхания, органов ЖКТ и др.) составил почти 28% [6]. Вместе с числом заболевших увеличивается и значимость сохранения и коррекции нутритивного статуса онкологических больных, что сопутствует поддержанию адекватного физического состояния и повышению эффективности проводимого лечения. В этой связи актуальным является надлежащая организация клинического питания в медицинских организациях и их обеспечение необходимым ассортиментом специализированной пищевой продукции, в том числе продуктов энтерального питания.

Целью настоящего исследования является обоснование подходов к совершенствованию ресурсного обеспечения деятельности лечебно-профилактических медицинских организаций специализированной пищевой продукцией энтерального питания. Одной из задач, которые необходимо решить для достижения поставленной цели, является анализ имеющихся подходов к управлению обеспечением пищевыми продуктами энтерального питания лечебно-профилактических медицинских организаций. Для этого целесообразно установить, какие подходы используются на сегодняшний день при выборе того или иного продукта энтерального питания для оказания нутритивной поддержки онкологическим больным.

Материалы и методы

Информационной базой исследования послужили клинические рекомендации по нутритивной поддержке пациентов с онкологическими заболеваниями ESPEN и ASPEN, а также ряд клинических и практических рекомендаций по организации лечебного, в том числе энтерального питания онкологических больных в лечебно-профилактических медицинских учреждениях, разработанные российскими учеными.

Обработка информации проводилась методами контент-анализа, агрегирования, систематизации, обобщения, сопоставления и интерпретации данных.

Результаты и обсуждение

Анализ отечественных Рекомендаций и зарубежных Руководств показал, что основные показания и противопоказания к назначению продуктов энтерального питания онкологическим больным сопоставимы и представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показания и противопоказания к назначению нутритивной поддержки в виде энтерального питания онкологическим больным

Показания	Противопоказания
• индекс массы тела <20 кг/м^2; • потеря более 5% массы тела за 6 месяцев; • невозможность адекватного питания через рот; • средняя и тяжелая степень нутритивной недостаточности; • энтеропатия средней и тяжелой степени, возникшая после лучевой и/или химиотерапии; • послеоперационные осложнения и критические состояния, сопровождающиеся гиперкатаболизмом и белково-энергетической недостаточностью.	• механическая кишечная непроходимость; • выраженная тошнота и рвота, не купирующаяся антиэметической терапией; • гипоксические состояния; • дыхательный и метаболический ацидоз; • выраженный синдром мальабсорбции или тяжелая диарея.

Для проведения дальнейшего анализа практик назначения продуктов энтерального питания онкологическим больным были выбраны следующие критерии:

1. **Первичный скрининг и оценка нутритивного статуса**. Для выявления необходимости назначения клинического питания отечественные и зарубежные специалисты используют сходные методы: регулярная оценка потребления питательных веществ, колебания веса пациента, расчет индекса массы тела. Широко используются различные опросники, такие как «Мини-оценка питания» (MNA), «Инструмент для скрининга недоедания» (MST), «Универсальный инструмент для скрининга недоедания» (MUST), «Упрощенный опросник по теме питания» (SNAQ) и опросник «Оценка нутритивного риска» (NRS-2002). Также проводится ряд функциональных тестов, направленных на установление уровня физической работоспособности организма.

2. **Потребность в питательных веществах и энергии.** По результатам оценки нутритивного статуса устанавливается количественная потребность пациента в питательных веществах и энергии. Витамины и минералы отечественные и зарубежные специалисты советуют потреблять в рекомендуемых среднесуточных дозах.

3. **Нутритивные вмешательства.** В зависимости от нутритивного статуса пациента, энтеральное питание может быть назначено в дополнение к естественному пероральному питанию или в качестве полной его замены. Способ приема продуктов энтерального питания определяется исходя из возможностей приема пищи пациентом и имеющегося заболевания. При сохранении полной или частичной функции ЖКТ рекомендуется естественное питание с введением при необходимости перорального энтерального питания в качестве дополнительного приема пищи.

4. **Рекомендации для отдельных категорий онкологических больных.** В зависимости от локализации опухоли и предстоящих манипуляций для отельных пациентов могут быть рекомендованы особые пищевые продукты энтерального питания или режим их потребления.

5. **Выбор смесей для энтерального питания.**

6. **Оценка эффективности проводимой нутритивной поддержки.**

Основные отличия отечественных и зарубежных практик подходов к назначению и выбору продуктов энтерального питания для онкологических больных приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Отличительные черты зарубежных и отечественных подходов к назначению пищевых продуктов энтерального питания онкологическим больным

Критерий	Российская Федерация	Страны Европы и США
Первичный скрининг и оценка нутритивного статуса	Опросники SNAQ и NRS-2002 используются в полном объеме, а остальные – только в части оценки отдельных показателей (например, измерение окружности плеча и толщины кожно-жировой складки над трицепсом). Дополнительно проводится и исследование лабораторных показателей крови.	Учитываются симптомы, вызываемые той или иной пищей, степень системного воспаления в организме.
Потребность в питательных веществах и энергии	Предварительно определяется суточный расход энергии пациента методами прямой и непрямой калориметрии. При невозможности их использования оценку проводят путем расчета основного обмена по уравнению Харрисона-Бенедикта с учетом индексов-поправок. Энергетические потребности онкологических больных составляют 30-40 ккал/кг/сут, при тяжелой нутритивной недостаточности – до 45 ккал/кг/сут. Рекомендуемая доля жиров в рационе – не менее 30%. Потребность в белке – 1,5-2,0 г/кг/сут.	Общие потребности онкологических больных составляют: 25-30 ккал/кг/сут – энергия; 1 г/кг/сут – белок (рекомендовано стремиться к показателю 1,5 г/кг/сут). Для некоторых пациентов может быть произведен индивидуальный расчет потребности пищевых компонентов (категории пациентов не уточняются). Для активно теряющих вес больных с инсулинорезистентностью рекомендована замена части жиров на углеводы.
Нутритивные вмешательства	Общая информация о способах введения и приема энтеральных питательных смесей. Даны рекомендации по установке зондов при планируемой длительности энтерального питания до 30 дней и стом при длительности более 30 дней.	Даны рекомендации по переводу на энтеральное питание после длительного сокращения естественного перорального питания и рекомендации по переводу на домашнее энтеральное питание для лиц с хроническим недостатком потребления пищи.
Отдельные категории онкологических больных		
Пациенты, перенесшие оперативное вмешательство на органах ЖКТ	При наличии выраженных нарушений пищевого статуса рекомендована его предоперативная коррекция в течение минимум 10 дней. При возникновении тяжелых осложнений после оперативных вмешательств на нижний отдел ЖКТ с предполагаемым сроком неадекватного перорального питания более 10 дней необходимо оказание интенсивной нутритивной поддержки в виде зондового питания. при выраженном нарушении пищевого статуса после вмешательств на верхнем отделе ЖКТ энтеральное питание показано до восстановления адекватности перорального питания.	Рекомендуется назначение иммунных смесей для энтерального питания в дополнение к уже назначенным смесям или естественному пероральному питанию (в случае возможности приема пищи пациентом).
Пациенты, находящиеся на радиотерапии	В случае необходимости проведения радио- или химиотерапии пациенту с выраженными нарушениями пищевого статуса, рекомендуется зондовое энтеральное питание при сохранности у пациента функций ЖКТ для нормализации и поддержания нутритивного статуса. Если после проведения лечебных процедур невозможно обеспечить адекватное естественное пероральное питание, рекомендован перевод на энтеральное питание при сохранности функций ЖКТ.	При обструктивных опухолях головы, шеи или грудной клетки рекомендуется энтеральное питание через назогастральные или чрескожные трубки.
Пациенты, находящиеся на химиотерапии		При недостаточности естественного перорального питания рекомендован дополнительный прием пищи в виде энтеральных смесей. В случае отсутствия нарушений ЖКТ (непреодолимая рвота, мукозит, кишечная непроходимость, затяжная диарея и пр.), следует отдавать предпочтение энтеральному питанию при неадекватности перорального питания.
Выбор смесей для энтерального питания	Даны рекомендации по выбору тех или иных видов смесей для энтерального питания в зависимости от степени нарушения нутритивного статуса, наличия сопутствующих заболеваний, степени сохранности функции ЖКТ и пр.	Рекомендации по выбору конкретных питательных смесей отсутствуют.
Оценка эффективности проводимой нутритивной поддержки	Для динамической оценки эффективности проводимой нутритивной поддержки используются параметры, применяемые для первичного скрининга и оценки нутритивного статуса. В послеоперационном периоде контроль биохимических показателей крови проводится каждые 3-5 дней до восстановления естественного перорального питания.	Для оценки эффективности проводимой нутритивной поддержки используются опросники первичного скрининга и анализ данных анамнеза пациента.

Заключение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что прямых рекомендаций по выбору тех или иных продуктов энтерального питания нет. Так, основываясь на собственном опыте и статистических данных, каждая медицинская организация самостоятельно определяет необходимость и объемы закупаемых продуктов энтерального питания в зависимости от способа применения (сипинги, зондовые или смешанные смеси), назначения (стандартные, модульные или метаболически-ориентированные смеси), формы выпуска (сухие или жидкие смеси). По мнению российских ученых, энергетические и пластические потребности организма онкологических больных выше, чем рекомендуемые нормы потребления сходных питательных веществ зарубежными экспертами. Данные рекомендации могут косвенно свидетельствовать о предпочтительном выборе гиперкалорийных и гиперпротеиновых смесей для энтерального питания.

Таким образом, имеющиеся Клинические рекомендации и Руководства не являются основой для формирования номенклатуры продуктов энтерального питания, закупаемых медицинской организацией. Кроме того, ни один из представленных документов не оказывает однозначного влияния на организацию ресурсного обеспечения медицинских организаций. Это ставит перед авторами новую задачу по поиску факторов и критериев, принимаемых во внимание ответственными лицами при планировании ресурсного обеспечения и реализации подходов к управлению обеспечением пищевыми продуктами энтерального питания лечебно-профилактических медицинских организаций.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00. Медицина и здравоохранение

76.75.175. Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ Минздрава РФ от 05.08.2003 № 330 «О мерах по совершенствованию лечебного питания в лечебно-профилактических учреждениях Российской Федерации». Приложение 5. Инструкция по организации энтерального питания в лечебно-профилактических учреждениях.

2. Nutritional support and parenteral nutrition in cancer patients: an expert consensus report / J.A. Virizuela [et al.] // Clin Transl Oncol. Vol. 20(5). P. 619-629. doi: 10.1007/s12094-017-1757-4.

3. Практические рекомендации по нутритивной поддержке онкологических больных. / Сытов А.В. [и др.] // Злокачественные опухоли: практические рекомендации RUSSCO. 2020. Т. 10. N 3s2-2. С. 102-110. doi: 10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-43.

4. ESPEN guidelines on nutrition in cancer patients / J. Arends [et al.] // Clinical Nutrition. 2017. T. 36. N 1. P. 11-48.

5. Prevalence of hospital malnutrition in cancer patients: a sub-analysis of the PREDyCES® study / M. Planas [et al.] // Support Care Cancer. 2016. N 24. P. 429–435. doi: 10.1007/s00520-015-2813-7.

6. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена − филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2021. 252 с.

SUMMARY

ANALYSIS OF FOREIGN AND DOMESTIC PRACTICES OF PRESCRIBING ENTERAL NUTRITION PRODUCTS FOR DISEASES OF THE ONCOLOGICAL SPECTRUM

Smetanina D.Ja., 3d year student

Supervisor: **Kirpikova K.E.,** Lecturer of the Department of Medical and Pharmaceutical Commodity Science

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation

The article presents the result of a content analysis of domestic and foreign recommendations containing approaches to the appointment of enteral nutrition products to provide nutritional support to patients with cancer. It is established that the available Recommendations and Guidelines do not have a direct impact on the formation of the nomenclature of enteral nutrition products used to provide nutritional support to cancer patients in medical organizations.

Keywords: *Enteral Nutrition, nutritional support, malnourishment, clinical Guidelines, Canser.*

REFERENCES

1. Prikaz Minzdrava RF ot 05.08.2003 № 330 «O merah po sovershenstvovaniju lechebnogo pitanija v lechebno-profilakticheskih uchrezhdenijah Rossijskoj Federacii». Prilozhenie 5. Instrukcija po organizacii jenteral'nogo pitanija v lechebno-profilakticheskih uchrezhdenijah. (in Russian).

2. Nutritional support and parenteral nutrition in cancer patients: an expert consensus report / J.A. Virizuela [et al.] // Clin Transl Oncol. Vol. 20(5). P. 619-629. doi: 10.1007/s12094-017-1757-4.

3. Prakticheskie rekomendacii po nutritivnoj podderzhke onkologicheskikh bol'nykh / A.V. Sytov [et al.] // Zlokachestvennye opukholi: Prakticheskie rekomendacii RUSSCO. 2020. Vol. 10 N 3s2-2. P. 102-110. doi: 10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-43 (in Russian).

4. ESPEN guidelines on nutrition in cancer patients / J. Arends [et al.] // Clinical Nutrition. 2017. T. 36. N 1. P. 11-48.

5. Prevalence of hospital malnutrition in cancer patients: a sub-analysis of the PREDyCES® study / M. Planas [et al.] // Support Care Cancer. 2016. N 24. P. 429–435. doi: 10.1007/s00520-015-2813-7.

6. Kaprina A.D., Starinskogo V.V., Shahzadovoj A.O. Zlokachestvennye novoobrazovanija v Rossii v 2020 godu (zabolevaemost' i smertnost'). Moscow: MNIOI im. P.A. Gercena − filial FGBU «NMIC radiologii» Minzdrava Rossii. 2021. 252 p. (in Russian).

УДК 001:615.1

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ НАУКОВЕДЕНИЕ КАК ОСНОВА ДЛЯ РАЗВИТИЯ ФАРМАЦИИ

Соколова Е.В., аспирант 1 года обучения
Руководитель: **Гурьянов П.С.**, канд.фарм.наук, доцент кафедры организации, экономики и истории фармации
Пермская государственная фармацевтическая академия
614016, Пермь, ул. Полевая, д. 2, Российская Федерация
E-mail: anfalova739@mail.ru

В работе приведён анализ диспропорций современного состояния фармацевтической науки в модели «Центр-Переферия», проведён поиск способов совершенствования наукометрического анализа в фармации в современной геополитической ситуации в т.ч. с использованием советских методик «ВНИИ Фармации», проведено наукометрическое изучение современных научных исследований по фармацевтическим наукам.

Ключевые слова: *наукометрия, науковедение, Big Pharma, индекс научного цитирования, Scopus, ВНИИ Фармации.*

Введение. Особенностью исторического момента настоящего времени является необходимость в суверенизации фармацевтической отрасли России до уровня, обеспечивающего ей проведение независимой политики. Страна нуждается в независимом производстве большей части необходимых лекарственных средств, независимой фармацевтической науке, способной развиваться и создавать новые лекарственные препараты, не уступающие передовым западным образцам. Также необходимо функционирование системы фармацевтического образования, обеспечивающей компетентными кадрами промышленную фармацию и науку.

Стоит отметить, что одним из путей такой суверенизации может являться сотрудничество со странами, которые не поддержали антироссийские санкции. Легко заметить, что страны, которые последовательно вводили антироссийские санкции, это наиболее развитые страны мира, страны так называемого «Центра», получающие наибольшую выгоду от эксплуатации стран развивающихся. И наоборот, страны, поддерживающие Россию, или придерживающиеся нейтралитета по отношению к России, это страны так называемой «Периферии», фармацевтическая отрасль которых сильно отстает от стран «Центра», либо находится на стадии догоняющего развития. Им нужны технологии, собственная производственная база, научные и образовательные центры, большое количество специалистов.

Российская Федерация является по факту полупериферийной страной по уровню своего развития. Периферийной, поскольку она в значительной степени зависит от поставок готовых лекарственных препаратов и субстанций, ее технологии либо уступают, либо зависят от западных фармацевтических технологий. Однако периферийность не является тотальной, более того, Россия обладает рядом характеристик «первого мира». Еще тридцать лет назад по уровню развития Россия не уступала уровню западной науки и производства, сохранила и развила ряд фармацевтических технологий, порой превосходящие мировой уровень, сохранила собственные институты развития, что в подавляющем количестве стран периферии отсутствует. Таким образом Россия на пути своей суверенизации может стать необходимым партнером для стран «периферии», которые желают по-настоящему преодолеть свою периферийность, что было ранее невозможно в сложившихся за столетия отношений «Центр-Периферия». Изложенные соображения требуют и фактологического подтверждения, и популяризации, и конкретных предложений по их реализации. **Целью** исследования стало изучение диспропорций современного состояния фармацевтической науки и поиск способов совершенствования наукометрического анализа в российской фармации в современной геополитической ситуации. Были поставлены следующие задачи: проанализировать тенденции развития фармацевтических исследований, обусловленные неравномерным развитием стран «Центра» и «Периферии»; изучить отечественный опыт независимой от Запада наукометрии, как института необходимого для выхода из «полуферийного» состояния российской науки и преодоления западных санкций в области ограничения доступа к научным базам данным, научным изданиям и индексации в системах цитирования.

Основная часть. Наукометрическое исследование [3] учёных из Университетов Кембриджа, Оскфорда, Манчесетра, Бостона и других, опубликованное в журнале Lancet, показывает, что одной из актуальных проблем в области общественного здравоохранения является неравномерное распределение бюджета на фармацевтические исследования. Данная тенденция получила название «разрыв 10/90» и заключается она в том, что большая часть финансов, поступающих из государственного сектора, бизнес-сектора и других источников направлена на клинические исследования заболеваний в странах с высоким уровнем дохода (эпилепсия, рак, шизофрения, болезнь Паркинсона, глаукома, астма). В свою очередь, болезни, характерные для развивающихся стран (трахома, дифтерия, корь, малярия, столбняк, лепра, сифилис и др.), практически не исследуются, в следствии чего частота встречаемости данных заболеваний и смертность от них

находится на высоком уровне. Ведущие фармацевтические компании почти перестали разрабатывать новые антибиотики ввиду малой рентабельности данных работ, в то время как инфекционные заболевания продолжают быть одной из главных причин смертности людей в мире, в особенности в развивающихся странах. Авторы исследования предлагают сократить данный разрыв путем контроля за распределением финансовых инвестиций, введением мониторинга и анализа направлений фармацевтической науки на предмет изучения способов борьбы с наиболее опасными и наиболее распространенными заболеваний, которые в особенности характерны для развивающихся стран. Однако, нам представляется крайне маловероятным, что ведущие транснациональные компании переключиться с высокорентабельных на низкорентабельные для себя научные исследования.

Основной научный и производственный потенциал в фармацевтической сфере в странах «Центра» сосредоточен в т.н. компаниях «Big Pharma»: Pfizer, Moderna, Merck&Co, Jonson&Jonson, F.Hoffman-La Roche Inc, Sanofi-Aventis, Novartis AG, Astra Zeneca. Однако, если ранее роль «Big Pharma» в проведении научных исследований была наиболее важной, то как минимум с 1995 года наблюдается снижение количества научных публикаций на 0,8% в год [2]. За 15 лет это составило 9%, при том, что возросла доля публикаций о клинических испытаниях, которые также можно средствами продвижения фармацевтической продукции. Компании «Big Pharma» всё больше передают на аутсорсинг исследования в области фармации, заключая соглашения с небольшими фирмами и академическими лабораториями. Вместо того, чтобы быть двигателем исследований и разработок, «Big Pharma» стала «сетевым интегратором», который берёт на себя роль спонсора, связанного с регулирующими органами, лоббиста и продавца фармацевтических исследований, финансируемых государством. Аналитики Reuters красноречиво выразились насчёт сложившейся ситуации: «Фармацевтические компании давно продвигают идею создания новых лекарств на благо человечества; это аргумент, который Big Pharma регулярно использует для оправдания огромных прибылей, которые она приносит. Представители индустрии утверждают, что высокая прибыль может быть возвращена в исследования следующего прорыва в медицине. Если Big Pharma не будет проводить исследования самостоятельно, будет ли труднее защищать большую маржу?» [2].

В последние 10 лет компании «Big Pharma» стараются расположить свои лаборатории рядом с крупными университетами с богатыми возможностями и традиции в области инновационной фармации: Бостон, Сан-Франциско, Сан-Диего, Кембридж, Лондон, Шанхай. Данная тенденция позволила крупным фармацевтическим компаниям тесно сотрудничать с внешними исследователями и клиницистами в продвижении своих научных открытий и внедрении фармацевтических инноваций в производство. Однако, будет верным, по нашему мнению, также утверждать, что основную роль в передовых научных исследованиях играют университеты, финансируемые в первую очередь государствами. Однако, прибыль от продажи созданных при участии государственных ресурсов лекарственных препаратов достаётся в первую очередь компаниям «Big Pharma». Эти же компании определяют приоритеты научных исследований в области фармации.

Ещё в периоды 1995–2005 гг. большинство новых, при этом наиболее продаваемых препаратов были низкомолекулярными препаратами первичной медико-санитарной помощи. На них приходилось около 80% доходов. Однако за последние десятилетия крупнейшие фармацевтические компании отказались от разработки таких лекарств и постепенно переключили свои усилия на узкоспециализированные лекарства и биопрепараты, предназначенные для удовлетворения высокотехнологичной медицинской помощи: моноклональные антитела, высокомолекулярные биологически активные белки, клеточная терапия [1]. Усилия учёных стран «Центра» в первую очередь ориентированы на иммуно-онкологию, использование стволовых клеток, генную терапию с использованием технологии CRISPR, РНК и ДНК-вакцин и др. Это обусловлено тем, что подобные препараты снимают проблему окончания срока патентной защиты. Не столь высокотехнологичные компании стран «Периферии» могли воспроизвести низкомолекулярные молекулы при создании дженериков. Однако, воспроизвести платформу генетического редактирования или М-РНК вакцин гораздо сложнее, а делиться своими технологиями компании «Big Pharma» не намерены. Так производители вакцин против COVID-19 отказались поделиться своими технологиями с тем, чтобы развивающиеся страны могли наладить производство столь необходимых им вакцин. Кроме того, такой путь развития, по нашему мнению, может в перспективе привести к созданию «антропологического неравенства» людей из «первого» и «второго-третьего» мира: долгоживущие, неподверженные инфекциям, хроническим болезням, с исправленными генетическими дефектами люди «Центра» и короткоживущие, страдающие от инфекций люди «Периферии».

Для того чтобы российские учёные могли вести исследования на мировом уровне необходима система доступного информационного освещения ведущихся как в мире, так и в России научных исследований, необходимо понимание состояния и тенденций развития фармацевтической отрасли в целом. Однако, в настоящее время, в России нет системных периодических изданий, которые проводили бы реферирования ведущих мировых и российских научных фармацевтических изданий.

Российское научное сообщество также признает необходимость создания суверенной системы наукометрии, которая включала бы в себя развитие национальных инструментов оценки качества российских научных журналов, развития электронных библиотек и повсеместного внедрения модели открытого доступа к статьям, опубликованным в российских научных журналах, как государственных, так и частных. Известно, что одним из ключевых критериев авторитетности и успешности научного журнала является тот факт, что он входит в зарубежные системы цитирования Scopus и Web of Science. Таким критерием руководствуются в том числе и большинство как государственных, так и частных грантодателей при выборе научных проектов. Однако, говорить об объективной оценке научных исследований по данному критерию не приходиться, поскольку такие системы цитирования работают на коммерческой основе, не прозрачны в своей оценке. Стоит также отметить и низкие показатели цитируемости российских публикаций в международных базах данных. Рос-

сия занимает лишь 120-е место в мире по числу ссылок на одну опубликованную статью, ни в одной научной области средний уровень цитируемости российских публикаций не достиг среднемировых значений. [8]. Это происходило из-за малодоступности изданий Scopus и Web of Science для российских учёных: ряд изданий просит очень высокую цену за публикацию, некоторые в принципе не расположены публиковать исследования российских учёных. В последнее время стали поступать сообщения, что ведущие западные журналы стали отказывать российским учёным, ссылаясь на действия России по отношению к Украине. В то же время в СМИ сообщалось, что украинское научное сообщество потребовало от WoS и Scopus запретить индексацию материалов из российских научных журналов в соответствующих международных библиографических и реферативных базах. Вместе с тем, продуктивность российских научно-исследовательских институтов или отдельных ученых с последующим распределением финансирования производится именно на основе западных наукометрических показателей индексации в WoS и Scopus. Цитирование в российской системе РИНЦ имеет гораздо меньший вес в российском администрировании науки.

Поскольку вопрос освещения научных исследований, фармацевтического науковедения и наукометрии кажется нам одним из наиболее важных при создании суверенной фармацевтической отрасли России, мы провели историческое исследование развития данных тем в нашей стране.

В первой половине XX века начали появляться издания, в которых публиковались реферированные обзоры исследований советских ученых в области фармации. Так, с 1922 года издавался «ежемесячный научно-популярный Химико-фармацевтический журнал»; в период с 1938 по 1941 год академией наук союза СССР выпускался Химический реферативный журнал.

С 1952 года начинается издание центрального научного журнала по фармацевтическим наукам «Фармация». В этом издании, как в ведущем научном фармацевтическом журнале, как минимум с 1960-х годов публикуются науковедческие и наукометрические аналитические обзоры об итогах научной деятельности по фармации, основных научных направлениях развития фармации в СССР за минувший год, пятилетку, 50 лет, итоги исследований по фармации в вузах, по отдельным научным темам.

Науковедческими обзорами фармацевтической отрасли активно занимался выдающийся советский ученый Сенов П.С. Данные обзоры характеризовали развитие фармацевтической науки за определенные временные периоды, содержали в себе итоги научной деятельности в виде подсчёта количества публикаций, защищённых диссертация, проведённых конференций, научных тем, научных центров. Кроме этого, в обзорах Сенов П.С. публиковал перспективы развития фармацевтических исследований на ближайшие 15-20 лет [15,16,17].

С 1976 года науковедческий анализ развития фармацевтической науки в СССР полностью стал осуществлять Всесоюзный научно-исследовательский институт фармации (ВНИИ фармации). В журнале «Фармация» публиковались статьи директора ВНИИФ Тенцовой А.И., в которых выделялись наиболее перспективные направления развития отечественной науки, отмечались разработки в основных фармацевтических дисциплинах (фармакогнозия, фармацевтическая химия, фармацевтическая технология, фармакология), перечислялись имена выдающихся учёных, внесших наибольший вклад в развитие перечисленных научных тем [18,22].

Помимо обобщенного анализа результатов отечественной фармацевтической науки, советские ученые изучали результативность отдельных научно-исследовательских организаций. К таким работам можно отнести статьи председателя проблемной комиссии «Фармация» МЗ РСФСР Д.А. Муравьева и публикации главы аптечного управления Минздрава РСФСР А.Д. Апазова. В данных исследованиях рассматривались итоги научной деятельности по фармации в вузах и перспективы ее дальнейшего развития, давались оценки научной деятельности фармацевтических институтов, отмечались недостатки в организации научной деятельности того или иного учреждения [6,11].

Отдельный блок статей был посвящен анализу научной деятельности непосредственно ВНИИ Фармации. Данные обзоры публиковались такими учеными как Тенцова А.И., Панченко Е.И. , Алюшин М.Т. и др. Авторы изучали научную деятельность ВНИИФ и предоставляли краткие итоги научных исследований отдельно по каждой пятилетке, выявляли тенденции и диспропорции в развитии отдельных направлений фармации, делали прогнозы развития фармацевтической науки вплоть до 2015 года [13,20,21,5,4].

Помимо этого, анализировалось развитие фармацевтической науки по отдельным направлениям. К публикациям данного вида можно отнести обзор Тенцовой А.И. «Основные направления научных исследований в области организации и экономики аптечного дела», в котором автор сформулировала недостатки состояния научной темы и пути её совершенствования; обзор Е. И. Панченко, посвящённый основным направлениям научных исследований по организации и экономике фармации в свете решений XXVI съезда КПСС; науковедческий анализ по теме маркетинговых исследований фармацевтического рынка России профессора Н.Б. Дремовой [19,12,9].

Однако в контексте нашего исследования работами, представляющими наибольший интерес, являются публикации, посвященные методологии науковедения фармации. Данным научным направлением занимались такие ученые как Парновский Б.Л, Беликов В.Г., Шураева Т.К. , Коржавых Э.А. и др. Так, Парновский Б.Л. разработал и описал первую в СССР автоматизированную наукометрическую и информационно-справочную систему в области фармацевтической науки [14]. Беликов В.Г. спрогнозировал научное развитие фармацевтического анализа с учетом мирового научно-технического прогресса [7]. Тем не менее наиболее крупными и авторитетными работами, в которых был обобщён и концпетуализирован опыт в данной области являются кандидатская диссертация Шураевой Т.К. «Наукометрический анализ и моделирование фармацевтической науки», и кандидатская диссертация Коржавых Э.А. «Методические подходы к оценке информационного ресурса фармацевтической науки» [23, 10]. Шураева Т.К. провела наукометрический анализ развития направлений фармацевтических исследований в СССР за 23 года, на основании полученных результатов и наработан-

ных методик предложила собственную структурно-функциональную модель развития фармацевтической науки, с помощью которой осуществила прогноз развития отдельных направлений вплоть до 2000 года [23].

Коржавых Э.А. создала оригинальную концепцию информационного поля (И-поля) фармации, сформировала теоретико-методический подход к системному информационному анализу фармацевтической науки, разработала комплекс качественных и количественных показателей научной фармацевтической информации, таких как Индивидуальный научный информационный продукт (ИИП); Общий научный информационный продукт (ОИП); фундаментальность; актуальность; перспективность; напряжённость; продуктивность; фундаментальность; динамичность; плодотворность; потенциал; фаза развития; интеграция (дрейф) с системы других наук. Были разработаны методики для определения этих показателей, которые дают гораздо более сложную, многообразную характеристику научного исследования, научного центра и учёного чем индекс научного цитирования. [20].

Коржавых Э.А. провела анализ более 92,5 научных публикаций из 3 советских и 11 зарубежных научных журналов по фармацевтическим наукам и пришла к выводам, что в отечественной фармацевтической науке за период с 1973 по 1988 год наблюдался прогресс по всем показателям оценки науки, предложенным Коржавых Э.А. Кроме этого, был осуществлён сравнительный анализ отечественной науки с зарубежной. В результате анализа было установлено, что исследования отечественной науки к 1993 году обладали большей фундаментальность в сравнении с зарубежной; развитие отечественной науки происходило с небольшим отставанием от зарубежной, о чем свидетельствует показатель динамичность науки (185% против 200%); плодотворность отечественной науки была также несколько меньше (показатель 26 против 32 у зарубежной); потенциал развития науки у в СССР был таким же как и у зарубежной науки; и отечественная, и зарубежная наука находились на одной фазе развития; однако, у зарубежной науки наблюдалась большая интеграция в систему других наук по сравнению с отечественной.

Для того, чтобы восполнить тот пробел в освещение научных исследований и их наукометрической оценки, который произошёл после ликвидации ВНИИ Фармации в 2000 году, нами была начата работа по реферированию научных статей из ведущих журналов и анализу основных тенденции развития фармацевтической науки.

Нами был создан информационный портал «Новости Фармацевтической Науки», который был размещён на площадке популярной социальной сети «В контакте». Была сформирована научная группа из студентов 3,4,5 курсов, которыми для данного портала были написаны 280 реферативных обзора по статьям из ведущих (преимущественно англоязычных) научных фармацевтических журналов (Science, Nature, Lancet и др.). Далее нами был проведен наукометрический анализ по созданной базе данных инноваций в фармации. В результате статистической обработки был выявлен ряд наиболее популярных тем современных научных исследований и инноваций в области фармации в период с сентября 2019г. по март 2021г. Всего было отмечено 40 различных направлений фармацевтических исследований. Основным направлением мировых исследований стала борьба с коронавирусной инфекцией. Однако, так же стоит отметить такие направления как: борьба с неизлечимыми заболеваниями (болезнь Альцгеймера, паркинсонизм, шизофрения), борьба с онкологией, сахарным диабетом, с тяжелыми наследственным заболеваниям; использование искусственного интеллекта в поиске новых лекарственных средств; технология генетического редактирования методом CRISPR; разработка новых способов регенерации поврежденных тканей и органов. Проведённый анализ позволил также выявить страны и научные центры, наиболее активно занимающиеся научными исследованиями в области фармации. Исходя из полученных данных, удалось выделить 23 государства и 147 научных центров. Лидирующие позиции среди научных центров занимает объединение Калифорнийских университетов в США-5,4%; Массачусетский технологический институт - 3,1%; Техасский университет - 1,1%. Фармацевтические разработки активно продуцируются международным сообществом - 5,4% исследований, что свидетельствует об активном сотрудничестве стран в вопросах фармации. Среди российских ВУЗов лидируют национальный университет ИТМО - 1,5%, МГУ-0,8%, Сеченовский университет-0,8%, СГМУ-0,8%. Странами-лидерами в области фармацевтических инноваций являются США - 36,5% от общего числа статей; Россия - 10,8%; Великобритания - 10%; Китай - 5,8%; Канада - 4,2%; Франция - 3,1%. Значительный процент публикаций - 5,8% приходится на исследования, проводившиеся международным сообществом, в которое входило от 5 до 20 стран.

Оказалось, что полученные нами результаты в целом соответствуют положениям исследования А. Гаутам и С. Пан «Меняющаяся модель Big Pharma: влияние ключевых тенденций» [1], в котором были проанализированы тенденции исследований в области фармации за период 1995- 2015гг. Статья опубликована в авторитетном научном журнале «Drug Discovery Today» с Импакт-фактором 7,321. Аналогичными оказались отмеченные нами актуальные направления научных исследовании, например, генная терапия, в частности, технология генетического редактирования; использование информационных технологий в скрининге лекарственных веществ, иммуноонкология. Во-вторых, подтвердился вывод о том, что главные научные открытия сейчас делаются в академических научных центрах, а не в лабораториях фармацевтических компаний. Таким образом, использованный нами подход, действительно позволяет анализировать тенденции передовой фармацевтической науки в России и за рубежом.

Заключение. Таким образом, диспропорциями современного развития мировой фармацевтической науки являются:

- несправедливое распределение бюджетов на научные исследования, когда на исследования связанные с лечением заболеваний, от которых страдает и погибает большая часть человечества, выделяется меньше всего средств.

- несправедливое распределение прибыли от создания новых лекарственных препаратов: большая часть прибыли остаётся у компаний «Big Pharma», тогда как основной вклад в разработку новых препаратов осуществляют не лаборатории «Big Pharma», а небольшие исследовательские центры и Университеты.

- неравенство в развитии фармацевтической науки стран «Центра» и «Переферии» может привести к вечному отставанию, когда воспроизвести джнериковые копии высокотехнологичных препаратов компании «Центра» будет невоз-

можно. Это может в перспективе привести к антропологическому неравенству человечества.

Россия как страна, обладающая рядом возможностей стран «Центра» (технологии, институты развития, производственные мощности), оказавшись в конфликте со странами «Центра» может помочь странам «Периферии» преодолеть своё отставание, что одновременно поможет России в суверенизации собственной фармации и выстраивание мировой системы альтернативной системе «Центр-Периферия».

На суверенизации России необходимо создании национальной системы наукометрии, поскольку западно-ориентированная наукометрия не отвечает требованиям объективности и просто становится ей недоступной в новой геополитической реальности острого конфликта с Западом.

Отечественная фармацевтическая наука имеет богатые традиции собственного ординального подхода к науковедению и наукометрии, отличного от банального индекса научного цитирования. Необходимо изучать и использовать наработанные во ВНИИ Фармации методики для комплексного анализа фармацевтической науки, научных центров и отдельных учёных.

Проведённый нами наукометрический анализ по данным созданных нами рефератов научных статей из ведущих мировых научных журналов в целом релевантен выводам авторитетных наукометрических исследований на эту тему.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.01.11 Современное состояние и перспективы развития

76.01.21 Организация научно-исследовательских работ

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

76.75.91 Здравоохранение зарубежных стран

ЛИТЕРАТУРА

1. Gautam A. The changing model of big pharma: impact of key trends // Drug Discovery Today. 2016. Vol. 21(3). P. 379-384. Doi: https://doi.org/10.1016/j.drudis.2015.10.002.

2. Ornaghi C. Mergers and innovation in big pharma / International Journal of Industrial Organization. 2009. Vol. 27(1). C. 70-79. Doi: https://doi.org/10.1016/j.ijindorg.2008.04.003

3. Mapping of available health research and development data: what`s there, what`s missing, and what role is there for a global observatory? / J.A. Rottingen [et al.] // The Lancet. 2013. Vol 382. P. 1286-1307. Doi: http://dx.doi.org/10.1016/ S0140-6736(13)61046-6

4. Алюшин М.Т. Сосина Н.И., Панченко Е.И. Итоги научной деятельности всесоюзного научно-исследовательского института фармации в двенадцатой пятилетке // Фармация. 1991. N 5. С. 1-7.

5. Алюшин Е.И. Панченко Е.И., Косырева Н.С. Эффективность научных исследований ВНИИФ в одиннадцатой пятилетке // Фармация. 1984. N 6. С. 1-6.

6. Апазов А.Д., Муравьева Д.А., Тольцман Т.И. Внедрение в практику здравоохранения результатов научных исследований, проводимых в фармацевтических вузах Российской Федерации, и об улучшении планирования науки // Фармация. 1979. N 5. С. 1-6.

7. Беликов В.Г. Влияние научно-технического прогресса на развитие фундаментальных работ в области фармацевтического анализа и внедрение из в практику // Фармация. N 6 1984. С. 11-17.

8. Гуськов А.Е. Российская наукометрия: обзор исследований // Библиосфера. 2015. N 3. С. 75–86.

9. Дремова Н.Б. Основные направления и перспектива маркетинговых исследований фармацевтического рынка России. // Фармация. 1999. N 3.

10. Коржавых Э.А. Методические подходы к оценке информационного ресурса фармацевтической науки: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук. М., 1995. 25 с.

11. Муравьева Д.А., Беликов В.Г. Итоги научных исследований по фармации в вузах Министерства здравоохранения РСФСР и перспективы их дальнейшего развития // Фармация. 1972. N 4. С. 3-9.

12. Панченко Е.И. Основные направления научных исследований по организации и экономике фармации в свете решений XXVI съезда КПСС. // Фармация. 1982. N 1. С. 3-6.

13. Панченко Е.И., Сало В.М. Научные исследования всесоюзного научно-исследовательского института фармации в 40-50-Е годы // Фармация. N 3 1983. С. 5-9.

14. Парновский Б.Л., Шелептень Л.С. Информационное обеспечение научных исследований по фармацевтической информации // Фармация. 1988. N 3. С. 7-10.

15. Сенов П.С. Научные исследования по фармации в 1971г. // Фармация. 1971. N 3. С. 3-5.

16. Сенов П.С. Тенцова А.И., Валевко С.А Научные исследования по фармации в 1973г. // Фармация. 1973. N 3. С. 3-6.

17. Сенов П.С. Некоторые итоги научных исследований в области фармацевтических наук за 1967. // Фармация. 1968. N 5. С. 3-12.

18. Итоги развития фармацевтической науки в девятой пятилетке / А.И. Тенцова [и др.] // Фармация. 1976. N 5. С. 1-9

19. Тенцова А.И. Основные направления научных исследований в области организации и экономики аптечного дела // Фармация. 1974. N 2. С.13-19.

20. Тенцова А.И. Панченко Е.И, Седова К.Д. Основные результаты научных исследований всесоюзного научно-исследовательского института фармации за девятую пятилетку // Фармация. 1976. N 5. С. 9-16.

21. Тенцова А.И., Панченко Е.И, Седова К.Д. // Основные направления научных исследований всесоюзного научно-исследовательского института фармации в 1976-1980 гг. // Фармация. 1977. N 2. С. 5-10.

22. Тенцова А.И. Развитие фармацевтической науки в советском союзе // Фармация. 1982. N 6. С. 9-18.

23. Шураева Т.К. Наукометрический анализ и моделирование фармацевтической науки : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук. Харьков, 1984. 24 с.

SUMMARY

PHARMACEUTICAL SCIENCE AS A BASIS FOR THE DEVELOPMENT OF PHARMACY

Sokolova E.V., 1st year student
Academic advise: **Guryanov P.S.,** Candidate of pharmaceutical sciences, assistant professor
of department of organization, economics and history of pharmacy
Perm State Pharmaceutical Academy
614016, Perm, st. Polevaya, 2, Russian Federation
E-mail: anfalova739@mail.ru

The paper presents an analysis of the disproportions of the current state of pharmaceutical science in the Center-Periphery model, a search for ways to improve scientometric analysis in pharmacy in the current geopolitical situation, incl. using the Soviet methods of the «VNII Pharmacy», a scientometric study of modern scientific research in the pharmaceutical sciences was carried out.

Keywords: *Scientometrics, Science of Science, Big Pharma, Science Citation Index, Scopus, «VNII Pharmacy».*

REFERENCES

1. Gautam A. The changing model of big pharma: impact of key trends // Drug Discovery Today. 2016. Vol. 21(3). P. 379-384. Doi: https://doi.org/10.1016/j.drudis.2015.10.002.

2. Ornaghi C. Mergers and innovation in big pharma / International Journal of Industrial Organization. 2009. Vol. 27(1). P. 70-79. Doi: https://doi.org/10.1016/j.ijindorg.2008.04.003

3. Mapping of available health research and development data: what`s there, what`s missing, and what role is there for a global observatory? / J.A. Rottingen [et al.] // The Lancet. 2013. Vol. 382. P. 1286-1307. Doi: http://dx.doi.org/10.1016/ S0140-6736(13)61046-6

4. Alyushin M.T., Sosina N.I., Panchenko E.I. Results of the scientific activity of the All-Union Scientific Research Institute of Pharmacy in the twelfth five-year plan // Pharmacy. 1991. N 5. P. 1-7. (in Russian)

5. Alyushin E.I., Panchenko E.I., Kosyreva N.S. The effectiveness of research VNIIF in the eleventh five-year plan // N 6. 1984. P. 1-6. (in Russian)

6. Apazov A.D., Muravieva D.A., Toltsman T.I. Implementation of the results of scientific research conducted in the pharmaceutical universities of the Russian Federation into healthcare practice and on improving the planning of science // Pharmacy. 1979. N 5. P. 1-6. (in Russian)

7. Belikov V.G. The influence of scientific and technological progress on the development of fundamental works in the field of pharmaceutical analysis and their implementation in practice. // Pharmacy. N 6. 1984. P. 11-17. (in Russian)

8. Guskov A.E. Russian scientometrics: review of studies // Bibliosphere. 2015. N 3. P. 75–86. (in Russian)

9. Dremova N.B. The main directions and prospects of marketing research of the Russian pharmaceutical market // Pharmacy. 1999. N 3. (in Russian)

10. Korzhavykh E.A. Methodological approaches to the assessment of the information resource of pharmaceutical science: specialty 15.00.01: dissertation abstract for the degree of candidate of pharmaceutical sciences. Moscow, 1995. 25 p. (in Russian)

11. Muravyova D.A., Belikov V.G. The results of scientific research on pharmacy in the universities of the Ministry of Health of the RSFSR and the prospects for their further development // Pharmacy. 1972. N 4. P. 3-9. (in Russian)

12. Panchenko E.I. The main directions of scientific research on the organization and economics of pharmacy in the light of the decisions of the XXVI Congress of the CPSU // Pharmacy. 1982. N 1. P. 3-6. (in Russian)

13. Panchenko E.I., Salo. V.M. Scientific research of the All-Union Scientific Research Institute of Pharmacy in the 40-50s. // Pharmacy. N 3. 1983. P. 5-9. (in Russian)

14. Parnovsky B.L., Shelepten L.S. Information support of scientific research on pharmaceutical information // Pharmacy. N 3. 1988. P. 7-10. (in Russian)

15. Senov P.S. Scientific research on pharmacy in 1971 // Pharmacy. 1971. N 3. P. 3-5. (in Russian)

16. Senov P.S., Tentsova A.I., Valevko S.A. Scientific research on pharmacy in 1973 // Pharmacy. 1973. N 3. P. 3-6. (in Russian)

17. Senov P.S. Some results of scientific research in the field of pharmaceutical sciences for 1967 // Pharmacy. 1968. N 5. P. 3-12. (in Russian)

18. Results of the development of pharmaceutical science in the ninth five-year plan. / Tentsova A.I. [et al.] // Pharmacy. 1976. N 5. P. 1-9. (in Russian)

19. Tentsova A.I. The main directions of scientific research in the field of organization and economics of pharmacy business // Pharmacy. 1974. N 2. P.13-19. (in Russian)

20. Tentsova A.I. Panchenko E.I., Sedova K.D. The main results of scientific research of the All-Union Research Institute of Pharmacy for the ninth five-year plan // Pharmacy. 1976. N 5. P. 9-16. (in Russian)

21. Tentsova A.I., Panchenko E.I., Sedova K.D. The main directions of scientific research of the All-Union Scientific Research Institute of Pharmacy in 1976-1980 // Pharmacy. 1977. N 2. P. 5-10. (in Russian)

22. Tentsova A.I. The development of pharmaceutical science in the Soviet Union // Pharmacy. 1982. N 6. P. 9-18. (in Russian)

23. Shuraeva T.K. Scientometric analysis and modeling of pharmaceutical science. abstract of the dissertation for the degree of candidate of pharmaceutical sciences Kharkov, 1984. 24 p. (in Russian)

УДК 61:615.12

ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ АПТЕК ПО ОБСЛУЖИВАНИЮ НАСЕЛЕНИЯ

Тимофеева К.И., студ. 5 курса, **Петров О.М.**, асп. 3 года обучения
Руководитель: **Лаврентьева Л.И.**, докт. фарм. наук, зав. кафедрой управления и экономики фармации
Ярославский государственный медицинский университет
150000, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5, Российская Федерация
E-mail: 5_kris_7@mail.ru

В работе изучен порядок организации деятельности аптечных организаций по предоставлению фармацевтических услуг покупателям традиционным способом и с использованием дистанционной торговли. Методом наблюдения выявлен достаточно высокий уровень традиционного обслуживания. Посредством анкетирования потребителей установлены высокая востребованность и удовлетворенность дистанционной формой обслуживания и высокий уровень цифрового доверия при работе с сайтами. Основными преимуществами интернет-аптек потребители считают возможность сэкономить время, работу с сайтом в удобное время, возможность оставаться дома. При этом были выявлены трудности, возникающие при заказе: задержка срока доставки товара; неудобный интерфейс официального сайта организации, препятствующие более широкому распространению данной формы. На территории Ярославской области дистанционная торговля лекарственными препаратами находится на этапе становления.

Ключевые слова: *обслуживание населения, аптечная организация, лекарственные препараты, дистанционная торговля, интернет-аптеки, потребители.*

Жизнь современного человека, так или иначе, связана с разнообразными услугами, которые ему предлагает сфера сервиса. В условиях конкуренции на рынке услуг выигрывает тот, кто умеет быть внимательным к потребностям своих покупателей, кто стремится к долгосрочным отношениям и постоянно совершенствуется в собственном профессионализме.

Обслуживание посетителей аптечными организациями относится к числу важнейших социально-экономических вопросов, поскольку оно ориентировано как на реализацию товаров аптечного ассортимента, так и на оказание качественного фармацевтического консультирования. В связи с этим главная задача аптек – грамотное управление деятельностью по предоставлению фармацевтических услуг населению.

Целью настоящей работы явилось проведение исследования организации работы аптек по обслуживанию населения.

Для достижения поставленной цели определены задачи:

1. Проанализировать организацию работы фармацевтических специалистов по обслуживанию населения в городе Ярославле;

2. Определить востребованность услуги заказа лекарственных препаратов (ЛП) через Интернет и выявить отношение к данной услуге со стороны потребителей;

3. Изучить организацию розничной торговли лекарственными препаратами дистанционным способом на территории Ярославской области.

В работе применены методы наблюдения, социологического опроса, контент-анализ официальных сайтов аптечных организаций, метод «тайного покупателя».

Объектами исследования явились 10 аптечных организаций, представляющих 10 аптечных сетей, расположенных в разных районах города Ярославля; сайт территориального органа Росздравнадзора по Ярославской области; 151 потребитель; сайты аптечных организаций, имеющих разрешение на дистанционную торговлю в Ярославской области.

Проведение исследования строилось по схеме, представленной на рисунке (рис. 1).

Рисунок 1. Схема исследования организации работы аптечных организаций по обслуживанию населения

Схема исследования включала, во-первых, изучение самого процесса оказания услуг; во-вторых, организацию пространства помещения аптек. Данные параметры оценивались по разработанным нами критериям. Кроме того, исследование предусматривало изучение нового формата обслуживания – дистанционной торговли. Данное направление включало опрос потребителей методом анкетирования, анализ содержания сайтов аптек в отношении организации дистанционной торговли ЛП, а также оформление заказа в аптеках, имеющих разрешение на дистанционную торговлю в городе Ярославле методом «тайного покупателя».

В ходе анализа традиционной формы обслуживания выполнено 30 наблюдений (по три наблюдения в каждой из аптек); проведена ее оценка на основании 16 разработанных критериев. При этом установлено, что 13 из них полностью выполняются всеми организациями, что положительно отражается на качестве обслуживания населения. К данным критериям отнесены:

– совместимость оттенков упаковки с тонами оформления прилавков или витрин;

– количество точек обслуживания;

– информация по вопросам предоставления услуг: непосредственно в аптеке, по телефону, на официальном сайте организации;

– доступность для маломобильных групп населения;

– применение принципа «цветовой совместимости»;

– оптимальная освещенность торгового зала;

– фармацевтическое консультирование о рациональном применении лекарственных препаратов;

– информирование о наличии лекарственных препаратов и других товарах аптечного ассортимента;

– розничная торговля лекарственными препаратами, отпуск других товаров аптечного ассортимента;

– время оказания услуг менее 5 минут;

– время ожидания в очереди менее 5 минут;

– соблюдение «комфортной» дистанции – от 1 до 2,5 метров;

– вежливое и терпеливое общение персонала с клиентами.

При этом в отношении 3-х критериев выявлены следующие недостатки, которые могут негативно отразиться на качестве обслуживания:

– в 10% аптек выявлено ограниченное пространство между стеллажами;

– в 20% – частичное заполнение и наличие пробелов между лекарственными препаратами на полках, следовательно, организациям необходимо больше внимания уделять оформлению пространства помещения аптеки, поскольку грамотная планировка торгового зала и расположение товаров аптечного ассортимента являются необходимыми условиями качественного обслуживания;

– в 30% наблюдений установлен нормативный уровень качества обслуживания покупателей – работники аптечных организаций выполняли все необходимые действия в рамках должностных обязанностей, при этом, не проявляя инициативу и личную заинтересованность в процессе общения с потребителями.

В результате изучения литературы по управлению качеством, нами выделена классификация уровней обслуживания, в соответствии с которой осуществляется этот процесс. Согласно данной классификации ***нормативное качество*** определяется нормативными правовыми актами, и ограничивается тем, что специалист выполняет свой основной функционал строго в соответствии с должностной инструкцией. ***Фирменное качество*** декларируется стилем и брендом, клиент от такой организации ожидает получить определенный уровень обслуживания. ***Экстра-качество*** – это показатель, ко-

торый складывается из стиля организации и работы фармацевтического работника не только в рамках своих обязанностей, но и проявления личностных качеств [1].

В процессе наблюдения выявлено, что в четырех исследуемых аптечных организациях применяется фирменный уровень. Обслуживание экстра-качества продемонстрировали сотрудники трех организаций. И три изученные аптеки работают в рамках нормативного уровня. Именно этим организациям следует обратить внимание на данный факт и принять грамотные организационные решения для перехода на новый уровень оказания услуг.

В современных условиях аптекам, помимо совершенствования традиционной формы обслуживания, которая заключается в прямом контакте при оказании фармацевтических услуг, необходимо использовать новые приемы и способы оптимизации деятельности. Данный подход позволяет увеличить экономические показатели результативности работы, завоевать лояльность потребителей, а также минимизировать процессы «живого общения» среди населения, тем самым, обеспечивая соблюдение мер по распространению COVID-19 [2].

С целью изучения спроса на услугу заказа лекарственных препаратов через Интернет и определения эффективности работы интернет-аптек был проведен социологический опрос 151 респондента – активных пользователей сети Интернет. Распределение по социально-демографическим характеристикам выглядит следующим образом:

1) 77% составили женщины, мужчины – 23%;

2) 38% респондентов в возрасте до 25 лет; 30% опрошенных – от 26 до 45 лет; 25% участников опроса – от 46 до 65 лет; 7% респондентов – старше 65 лет;

3) чуть меньше половины опрошенных (48%) имеют высшее образование; 27% – неполное высшее образование; 19% имеют среднее профессиональное образование; 6% участников опроса – два и более высших образования.

Следовательно, в выборке представлены потребители разного пола, возраста и социального статуса.

Установлено, что в современных условиях отношение большинства респондентов к заказу ЛП через Интернет является положительным, они готовы принять данный формат интернет-торговли и активно им пользоваться – 91%. По мнению остальных участников анкетирования, ЛП должны отпускаться только в специально оборудованном помещении.

Потребность населения в сервисе заказа препаратов через интернет-аптеки подтверждает следующий факт: 70% опрошенных потребителей уже приобретали ЛП через Интернет как минимум один раз; и только одна треть респондентов никогда не заказывала ЛП онлайн. Полученные результаты представлены на рисунке 2.

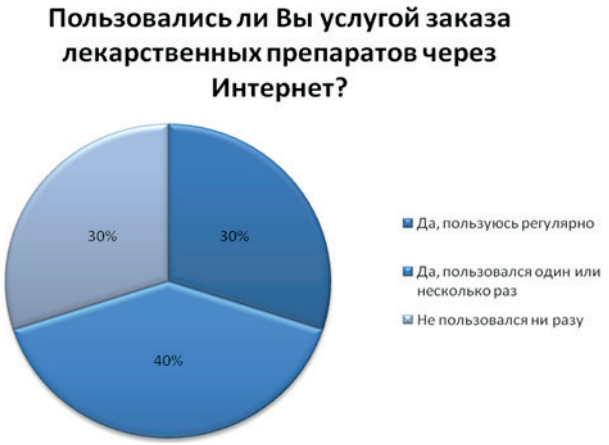


Рисунок 2. Распределение респондентов на основании пользования услугами заказа лекарственных препаратов через Интернет

Данные рисунка свидетельствуют о высокой степени востребованности настоящей услуги и ее широком распространении среди населения.

Несмотря на предоставленную сервисом возможность оставаться дома, покупатели отдают предпочтение получению товаров способом самовывоза из аптечной организации (86%), оставшиеся пользователи выбирают доставку курьером.

В ходе проведенного опроса было установлено мнение участников по поводу качества оказываемой услуги: 59% опрошенных все полностью устраивало; 38% – скорее удовлетворены, чем нет; 2% – затруднились с ответом; 1% – не довольны сервисом. Полученные данные характеризуют высокую оценку эффективности работы интернет-аптек.

На рисунке 3 представлены результаты опроса потребителей в отношении трудностей, которые у них возникали при заказе лекарственных препаратов.

Рисунок 3. Распределение интернет-покупателей на основании сложностей, возникших при заказе лекарственных препаратов через Интернет

В качестве положительной тенденции следует отметить, что у 68% пользователей проблем при оформлении и получении заказа не возникло. Однако часть респондентов столкнулась со следующими трудностями: у 15% была задержка срока доставки товара; 13% отметили неудобный интерфейс официального сайта организации, при работе с которым мешали навязчивая реклама и всплывающие окна; у 5% возникли сложности при оформлении заказа. Отдельные покупатели обозначили непунктуальность курьера, несоответствие цены препарата, заявленной на сайте аптеки, и цены, требуемой при получении; отсутствие необходимого ЛП в наличии; оплату наличными при получении; необходимую минимальная цену заказа. Некоторые участники опроса поделились опытом получения товара в упаковке с нарушенной целостностью. Вследствие этого, сервис, по мнению респондентов, имеет ряд недостатков, которые необходимо исправить, тем самым повысить эффективность работы и привлечь новых клиентов.

В качестве основного преимущества интернет-аптек была названа возможность сэкономить время (72% опрошенных). Для многих определяющими факторами явились работа с сайтом в удобное время (47%) и возможность оставаться дома (46%). Часть покупателей считает достоинством низкие цены, представленные на сайте (42%), а также возможность применения акций и промокодов (36%). 37% респондентов отдали предпочтение заказам через Интернет за счет выбора способа получения товара, 29% – выбора способа оплаты. С точки зрения 37% опрошенных явное преимущество – единовременная покупка всех необходимых лекарственных препаратов. Для небольшого числа опрошенных важным является возможность узнать, есть ли нужный товар в наличии (1%). Только 1% респондентов отметили, что положительные стороны данного сервиса отсутствуют.

В качестве отрицательных сторон интернет-продажи ЛП 44% опрошенных выделили отсутствие возможности «вживую» получить консультацию фармацевтического специалиста. Часть респондентов обеспокоена вероятностью продажи фальсифицированных или недоброкачественных ЛП (31%). 26% волнует нарушение режима хранения ЛП при транспортировке во время доставки курьером. С точки зрения 29% потребителей недостатки отсутствуют.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что большинство опрошенных отмечают преимущества данной формы обслуживания, однако организациям интернет-аптек следует совершенствовать данный формат обслуживания с учетом выявленных недостатков.

В настоящем исследовании мы учитывали, что спрос на интернет-услуги аптечных организаций во многом определяется уровнем цифрового доверия населения. Поскольку, когда речь идет о готовности человека к внедрению цифровых технологий, это в первую очередь означает, что он согласен и (или) желает использовать предлагаемые ему цифровые решения и понимает, как это можно сделать, а во-вторых, чувствует безопасность при их использовании. В связи с этим показатель цифрового доверия характеризуется уверенностью людей в надежности цифровых систем, процессов и технологий [3].

Для изучения уровня цифрового доверия респондентам были заданы вопросы, отражающие опыт использования интернет-сервисов и отношение к ключевым рискам, связанных с получением услуг через Интернет. В целом опрос показал достаточно высокий уровень доверия граждан приобретению лекарственных препаратов в интернет-аптеках (рис. 4).

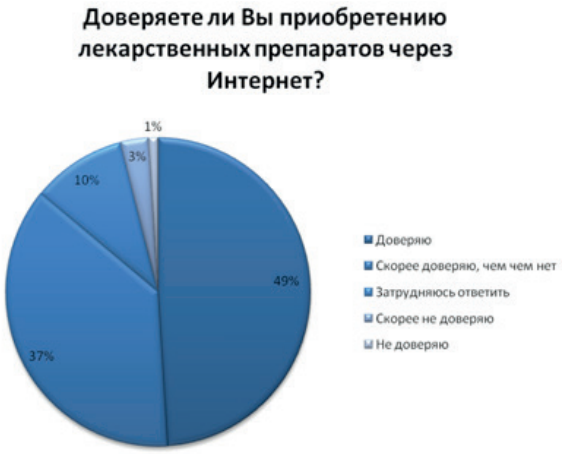


Рисунок 4. Распределение респондентов в соответствии с уровнем доверия приобретению лекарственных препаратов через Интернет

Почти половина респондентов (49%) полностью доверяет надежности и безопасности систем и только 1% опрошенных абсолютно не доверяют.

В качестве факторов, наиболее вызывающих беспокойство при оформлении заказа через Интернет, участники опроса выделили: возможность мошенничества со стороны третьих лиц (37%); утечку данных в Интернет (31%); ненадежность защиты личной информации (27%) и сбои в работе сайтов, ошибки системы (27%). 33% считают, что их данные надежно защищены, поэтому беспокойство при совершении покупки в онлайн-режиме у них отсутствует (рис. 5).

Рисунок 5. Распределение участников опроса на основании факторов, вызывающих беспокойство при оформлении заказа через Интернет

Для изучения вопроса внедрения дистанционной торговли на территории Ярославской области был проведен анализ реестра выданных разрешений на осуществление розничной торговли лекарственными препаратами для медицинского применения дистанционным способом [4].

Выявлено, что на 1 сентября 2021 года территориальным органом Росздравнадзора по Ярославской области были выданы разрешения двум аптечным организациям: «ВИТА» и «Аптека №27». В результате анализа информации, размещенной на официальных сайтах данных аптек, определены условия заказа препаратов дистанционным способом в каждой из организаций (таблица).

Таблица – Сравнение условий оформления заказа

Условия заказа	«Аптека №27»	«ВИТА»
Оформление заказа	По телефонам аптек с 9.00 до 17.00 На сайте в любое время	По телефону На сайте в любое время
Минимальна сумма	Не ограничена	Не ограничена
Перемещение заказов	Заказ не перемещается	Заказ не перемещается
Обработка заказов	С понедельника по пятницу с 9.00 до 17.00 В первый рабочий день после праздника	Круглосуточно
Подтверждение заказов	С помощью звонка сотрудника	С помощью SMS

Условия заказа	«Аптека №27»	«ВИТА»
Необходимые данные при оформлении	Номер телефона, имя, адрес электронной почты	Номер телефона, имя, адрес электронной почты При доставке курьером дополнительно: адрес доставки, время получения заказа
Способы получения	Самовывоз	Самовывоз; доставка курьером
Условия получения	Назвать номер заказа	Назвать номер заказа
Способы оплаты	Оплата в кассах аптек вне очереди наличными или платежной картой	Самовывоз из аптеки: наличными или платежной картой (оплата бонусами до 80% покупки) Доставка курьером: платежной картой (ЯндексДеньги)

Установлено, что «Аптека № 27», при наличии разрешения на дистанционную торговлю, не применяет в полном объеме настоящий формат обслуживания, так как у данной организации отсутствует возможность получения товара с помощью доставки курьером, что является обязательным условием оказания услуги дистанционным способом.

С целью исследования эффективности работы аптечной организации, использующей возможности дистанционной торговли, нами был оформлен заказ методом «тайного покупателя» в аптеке «ВИТА». В результате установлено:

• интерфейс официального сайта организации достаточно удобен для покупателя: портал имеет подробное описание ЛП, а также пошаговую инструкцию оформления покупки;

• специалисты организации оперативно выходят на связь с клиентом для подтверждения заказа;

• наличие доставки товара в день заказа;

• качество и количество полученного товара полностью соответствует заявленным требованиям.

Следует отметить, что данный вид продажи лекарственных препаратов является перспективным и требует своего дальнейшего распространения на территории региона, особенно когда населению необходимо минимизировать процесс общения друг с другом, тем самым обеспечить соблюдение профилактических мер по распространению COVID-19.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что в изученных аптечных организациях Ярославской области традиционный процесс обслуживания потребителей организован на достаточно высоком уровне. Социологический опрос потребителей показал, что интернет-услуга заказа лекарственных препаратов является необходимой и востребованной среди населения, большая часть которого – активные пользователи данного сервиса. Выявлены преимущества дистанционной формы обслуживания: эффективный тайм-менеджмент покупателей; возможность приобретения товаров, не выходя из дома; работа с сайтом в удобное время. При этом установлены трудности, препятствующие более широкому внедрению данной формы обслуживания: беспокойство пользователей в отношении отсутствия грамотной консультации фармацевтических специалистов «вживую» и покупки фальсифицированного или недоброкачественного ЛП. Несмотря на вероятность мошенничества и утечки данных в Интернет, результаты опроса показали достаточно высокий уровень цифрового доверия населения при работе с сайтами организаций. На территории Ярославской области дистанционная торговля лекарственными препаратами находится на этапе становления.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Patients'/clients' expectation toward and satisfaction from pharmacy services / M.B. Ayalew [et al.] // J Res Pharm Pract. 2017. Vol. 6. P. 21-26.

2. Матосян В.А. Проблемы реализации омниканального подхода при продаже лекарственных средств в Российской Федерации // Российское предпринимательство. 2017. Т. 18. N 20. С. 3071-3078.

3. Оценка цифровой готовности населения России / Н.Е. Дмитриева [и др.] // докл. к XXII Апр. междунар. науч. конф. по проблемам развития экономики и общества, Москва, 13-30 апр. 2021 г. / Нац. исслед. ун-т «Высшая школа экономики». М.: Изд. дом Высшей школы экономики. 2021. 86с.

4. Реестр выданных разрешений на дистанционную торговлю лекарственными препаратами // Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения [Электронный ресурс]. URL: https://roszdravnadzor.gov.ru/

SUMMARY

ORGANIZATION OF THE WORK OF A PHARMACY TO SERVE THE POPULATION

Timofeeva K.I., 5th year student, **Petrov O.M.** 3rd year post-graduate student
Academic advise: **Lavrentieva L.I.**, Doctor of Pharmacy, chairholder of management and economics of pharmacy
Yaroslavl State Medical University
5, Revolutionary St., Yaroslavl, 150000, Russian Federation
E-mail: 5_kris_7@mail.ru

In this article, management of pharmaceutical services in the traditional way and by distance selling was examined. By observation method high level of traditional services was identified. Questionnaires revealed demand and satisfaction with distance selling's service and high level of digital trust during working on the web sites. In customers' opinion, online pharmacy benefits are time saving, ordering at convenient time, possibility of staying home. At the same time, noted difficulties were delay in delivery and website's inconvenient interface. This difficulties are impeding the dissemination of this selling form. In the Yaroslavl region drug's distance selling is on formative stage.

Keywords: *services to the population, pharmacy, drugs, distance selling, online pharmacy, consumers.*

REFERENCES

1. Patients'/clients' expectation toward and satisfaction from pharmacy services / M.B. Ayalew [et al.] // J Res Pharm Pract. 2017. Vol. 6. P. 21-26.
2. Matosyan V.A. Problems of implementation of the omnichannel approach in the sale of medicines in the Russian Federation // Russian entrepreneurship. 2017. Vol. 18(20). P. 3071-3078. (in Russian)
3. Digital readiness assessment of the Russian population / N.E. Dmitrieva [et al.] // Rept. for the XXII Apr. Intern. Acad. Conf. on economic and social development, Moscow, 13-30 APR. 2021 / N. research. univ. «Higher School of Economics». Moscow: Publishing House of the Higher School of Economics. 2021. 86 p. (in Russian)
4. Register of issued permits for remote sale of medicines // Federal Service for Surveillance in Healthcare. [Internet]. URL.: https://roszdravnadzor.gov.ru/ (in Russian)

УДК 504.06:616-06

ОБЗОР И АНАЛИЗ ЗАРУБЕЖНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ О ПРОГНОЗАХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19 НА ФОНЕ ПОПУЛЯЦИОННОГО СТРЕССА

Тостановский Г.С., студ. 2 курса, **Жариков М.В.**, магистрант 1 года обучения,
Склярова Л.В., магистрант 1 года обучения
Руководитель: **Перелыгин В.В.**, доктор мед. наук, проф.,
зав. кафедрой промышленной экологии (ORCID: 0000-0002-0999-5644)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: tostsgs@gmail.com

Новые условия жизни, работы, обучения породили множество новых социальных явлений в семьях или иных социальных группах в связи с распространением COVID-19. В сложившейся ситуации огромное количество людей сталкивается с серьезным стрессом или даже депрессивными расстройствами и как следствие, для таких ситуаций характерны снижение физического и социального здоровья, а также риск общих осложнений у больных психоневрологическими и неинфекционными заболеваниями.

Полученные в ходе исследования данные можно будет использовать при составлении прогноза развития эпидемиологической ситуации в стране, и для планирования мероприятий в ходе реабилитации, переболевших COVID-19.

Ключевые слова: *популяционный стресс, COVID-19, SARS-CoV-2, общие осложнения, психоневрологические заболевания, неинфекционные заболевания.*

Цель данного исследования – обзор и анализ зарубежных публикаций о прогнозах осложнений у переболевших COVID-19 на фоне популяционного стресса для получения статистических данных для прогноза эпидемиологической ситуации в России и планированию мероприятий в ходе реабилитации переболевших COVID-19.

В ходе исследования перед нами стояли следующие задачи: определить перечень наиболее часто встречающихся заболеваний в России и ряде зарубежных стран, которые наблюдаются у переболевших COVID-19; определить подходы, на основе статистических данных, к составлению прогноза эпидемиологической ситуации в России и планированию мероприятий в ходе реабилитации переболевших COVID-19.

Пандемии и эпидемии всегда были значимыми популяционными событиями для всех стран. Новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 продолжает представлять собой большую угрозу в силу растущей мобильности населения, перенаселенности в городах, неблагоприятных экологических изменений, в том числе популяционный стресс.

Уникальность медицинской и социальной обстановки COVID-19 создает дополнительную нагрузку на личность и социальные группы, которые по-разному могут ее воспринимать и оценивать.

Многочисленные исследования и материалы зарубежных публикаций отмечают специфичность ситуации COVID-19 и ее негативное воздействие в том числе на лиц с хроническими психоневрологическими и неинфекционными заболеваниями [1-11].

Пандемия COVID-19 опасна тем, что одновременное заболевание большого количества различных категорий граждан всех возрастов и социальных групп привела к перегруженности системы здравоохранения с повышенным количеством госпитализаций и летальных исходов. Системы здравоохранения могут оказаться не готовы к необычайно большому количеству тяжелобольных пациентов. Наиболее важной ответной мерой по отношению к инфекции являются не лечебные мероприятия, а снижение скорости её распространения, чтобы растянуть её во времени и снизить, таким образом, нагрузку на системы здравоохранения. Именно поэтому государственные власти многих стран ввели режим самоизоляции или карантина. Проблема популяционного стресса в условиях карантина является очень актуальной и интересной в настоящее время. Новые условия жизни, работы, обучения породили множество новых социальных явлений в семьях или иных социальных группах. У многих пациентов наблюдаются такие осложнения как у больных хроническими психоневрологическими и неинфекционными заболеваниями.

В ходе нашего исследования были использованы методы комплексной оценки заболеваемости лиц с хроническими психоневрологическими и неинфекционными заболеваниями, основанные на анализе статистических данных по материалам зарубежных публикаций [12]. Реализация комплексной оценки позволила нам объединить разнородные данные и визуализировать их с использованием Microsoft Excel.

Таблица – Статистические данные общих осложнений, обострения хронических и психоневрологических заболеваний у переболевшего населения в Великобритании, Франции, США и Германии

Заболевания	Заболеваемость (доля от общего количества заболевших в Великобритании, Франции, США и Германии)
Общие осложнения	10-37,6%
Обострение хронических неинфекционных заболеваний - острое поражение миокарда - миокардит -сердечная недостаточность выживших больных - сердечная недостаточность умерших от COVID-19 - артериальная гипертензия - ожирение	 30-50,8% 8-19% 12% 52% 72,6% 41%
Психоневрологические осложнения - тревожно-фобические - депрессивные состояния	 8,5 -28,8% 9,5-25%

В Таблице представлен ряд наиболее часто встречающихся заболеваний, которые наблюдаются у переболевших на протяжении нескольких месяцев после перенесенной инфекции COVID-19 [1]. Проявления заболеваний очень разнообразны.

Из всего многообразия симптомов наиболее частыми продолжающимися независимо от статуса госпитализации являются усталость (98%), мышечные боли (88%), одышка (87%) и головная боль (83%). Лица с легким течением COVID-19, которые не были госпитализированы, имели стойкие или продолжительные симптомы: стойкая утомляемость наблюдалась у 39–73% обследованных, одышка – у 39–74%; снижение качества жизни – у 44–69%; нарушение функции легких, аномальные результаты компьютерной томографии, включая фиброз легких – у 39–83%; изменения микроструктуры и функциональной целостности мозга со стойкими неврологическими симптомами – у 55%; повышенная частота психиатрических диагнозов – у 5,8%; сохраняющаяся аносмия/дисгевзия (нарушения обоняния и вкуса) – у 33–36%. Выраженность неврологических и респираторных симптомов в целом уменьшалась через 16–18 недель после начала заболевания. У 55% переболевших COVID-19 появляются поражения кожи, различные высыпания, у некоторых начинают выпадать волосы. У 30% – жалобы на потерю памяти.

Вирус SARS-CoV-2 может дестабилизировать состояние сердечно-сосудистой системы и спровоцировать появление новых сердечно-сосудистых осложнений. В условиях высокой вирусной нагрузки острое поражение миокарда встречается у 30% больных; миокардит – у 8-12%; фульминантный миокардит – примерно у 7%; сердечная недостаточность – у 12% выживших больных и 52% умерших от COVID-19.

Самые частые сопутствующие заболевания – сахарный диабет, хроническая обструктивная болезнь легких, ишемическая болезнь сердца. артериальная гипертензия, которая встречалась в 72,6% случаев, и ишемическая болезнь сердца – отмечена в 50,8%, ожирение, зарегистрированное в 41% случаев.

При госпитализации, связанные с новой коронавирусной инфекцией нарушения психики могут проявляться когнитивными, соматизированными расстройствами тревожно-фобического (8,5–28,8%) и депрессивного (9,5–16,5%) спектра.

Полученные в ходе исследования данные подтверждают факт влияния распространения SARS-CoV-2 на популяционный стресс. Систематизированные статистические данные можно будет использовать при составлении прогноза развития эпидемиологической ситуации в стране и для планирования мероприятий в ходе реабилитации переболевших COVID-19.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

87.00.00 Охрана окружающей среды. Экология человека

ЛИТЕРАТУРА

1. More than 50 long-term effects of COVID-19: a systematic review and meta-analysis / S. Lopez-Leon [et al.] // Sci Rep. 2021. Vol. 11(1). P. 16144. https://doi.org/10.1038/s41598-021-95565-8.

2. Données d'enquête relatives à l'évolution des comportements et de la santé mentale pendant l'épidémie de COVID-19 (COVIPREV). [Internet]. URL: https://www.data.gouv.fr/fr/datasets/donnees-denquete-relatives-a-levolution-des-comportements-et-de-la-sante-mentale-pendant-lepidemie-de-covid-19-coviprev/. (Accessed: 01.03.2022).

3. CDC. Anxiety and Depression. Household Pulse Survey. [Internet]. URL: https://www.cdc.gov/nchs/covid19/pulse/mental-health.htm. (Accessed: 01.03.2022).

4. Long-Term Symptoms Among Adults Tested for SARS-CoV-2 – United States, January 2020–April 2021 / V. Wanga [et al.] // MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2021. Vol. 70(36). P. 1235–1241. https://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm7036a1.

5. NHS. Long-term effects of coronavirus (long COVID). [Internet]. URL: https://www.nhs.uk/conditions/coronavirus-covid-19/long-term-effects-of-coronavirus-long-covid/. (Accessed: 02.03.2022).

6. Office for National Statistics. Coronavirus (COVID-19) latest insights: Infections. [Internet]. URL: https://www.ons.gov.uk/peoplepopulationandcommunity/healthandsocialcare/conditionsanddiseases/articles/coronaviruscovid19latestinsights/infections#infections-by-age. (Accessed: 02.03.2022).

7. Office for National Statistics. Coronavirus (COVID-19) latest insights: Lifestyle. [Internet]. URL: https://www.ons.gov.uk/peoplepopulationandcommunity/healthandsocialcare/conditionsanddiseases/articles/coronaviruscovid19latestinsights/lifestyle. (Accessed: 02.03.2022).

8. Pre-pandemic psychiatric disorders and risk of COVID-19: a cohort analysis in the UK Biobank / Yang H.Z. [et al.] // The Lancet Healthy Longevity. Vol. 1(2). P. E69-E79. https://doi.org/10.1016/s2666-7568(20)30013-1.

9. Long-term Health Consequences of COVID-19 / D.R. Carlos [et al.] // JAMA. 2020. Vol. 324(17). P. 1723–1724. https://doi.org/10.1001/jama.2020.19719.

10. Galea S., Merchant R.M., Lurie N. The Mental Health Consequences of COVID-19 and Physical Distancing: The Need for Prevention and Early Intervention // JAMA Intern Med. 2020. Vol. 180(6). P. 817–818. https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.1562.

11. Dąbrowska E., Galińska-Skok B., Waszkiewicz N. Depressive and Neurocognitive Disorders in the Context of the Inflammatory Background of COVID-19 // Life. 2021. Vol. 11(10). P. 1056. https://doi.org/10.3390/life11101056.

12. Одинцова М.А., Радчикова Н.П., Степанова Л.В. Оценка пандемии COVID-19 россиянами с разным уровнем жизнестойкости 1 Московский государственный психолого-педагогический университет // Российский психологический журнал. 2020. Т. 17. N. 3. С. 76-88. https://doi.org/10.21702/rpj.2020.3.6.

SUMMARY

REVIEW AND ANALYSIS OF FOREIGN PUBLICATIONS ON PREDICTIONS OF COMPLICATIONS AMONG COVID-19 PATIENTS AGAINST THE POPULATION STRESS BACKGROUND

Tostanovsky G.S., 2nd year student, **Zharikov M.V.**, 1st year master student, **Sklyarova L.V.**, 1st year master student
Academic advise: **Perelygin V.V..**, Doctor of Medicine, Prof., Head of the Environmental Ecology Department,
(ORCID: 0000-0002-0999-5644)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: tostsgs@gmail.com

New living, working and learning conditions have given rise to many new social phenomena in families and other social groups due to the spread of COVID-19. In the circumstances concerned, a huge number of people are faced with serious stress or even depressive disorders. As a result, there is a decrease in physical and social health, as well as the risk of general complications in patients with psychoneurological and non-communicable diseases.

The data obtained during the study may be used to forecast the development of the epidemiological situation in the country and to plan activities during the rehabilitation of those who have recovered from COVID-19.

Keywords: *population stress, COVID-19, SARS-CoV-2, general complications, neuropsychiatric diseases, non-communicable diseases.*

REFERENCES

1. More than 50 long-term effects of COVID-19: a systematic review and meta-analysis / S. Lopez-Leon [et al.] // Sci Rep. 2021. Vol. 11(1). P. https://doi.org/10.1038/s41598-021-95565-8.

2. Données d'enquête relatives à l'évolution des comportements et de la santé mentale pendant l'épidémie de COVID-19 (COVIPREV). [Internet]. URL: https://www.data.gouv.fr/fr/datasets/donnees-denquete-relatives-a-levolution-des-comportements-et-de-la-sante-mentale-pendant-lepidemie-de-covid-19-coviprev/. (Accessed: 01.03.2022).

3. CDC. Anxiety and Depression. Household Pulse Survey. [Internet]. URL: https://www.cdc.gov/nchs/covid19/pulse/mental-health.htm. (Accessed: 01.03.2022).

4. Long-Term Symptoms Among Adults Tested for SARS-CoV-2 – United States, January 2020–April 2021 / V. Wanga [et al.] // MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2021. Vol. 70(36). P. 1235–1241. https://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm7036a1.

5. NHS. Long-term effects of coronavirus (long COVID). [Internet]. URL: https://www.nhs.uk/conditions/coronavirus-covid-19/long-term-effects-of-coronavirus-long-covid/. (Accessed: 02.03.2022).

6. Office for National Statistics. Coronavirus (COVID-19) latest insights: Infections. [Internet]. URL: https://www.ons.gov.uk/peoplepopulationandcommunity/healthandsocialcare/conditionsanddiseases/articles/coronaviruscovid19latestinsights/infections#infections-by-age. (Accessed: 02.03.2022).

7. Office for National Statistics. Coronavirus (COVID-19) latest insights: Lifestyle. [Internet]. URL: https://www.ons.gov.uk/peoplepopulationandcommunity/healthandsocialcare/conditionsanddiseases/articles/coronaviruscovid19latestinsights/lifestyle. (Accessed: 02.03.2022).

8. Pre-pandemic psychiatric disorders and risk of COVID-19: a cohort analysis in the UK Biobank / Yang H.Z. [et al.] // The Lancet Healthy Longevity. Vol. 1(2). P. E69-E79. https://doi.org/10.1016/s2666-7568(20)30013-1.

9. Long-term Health Consequences of COVID-19 / D.R. Carlos [et al.] // JAMA. 2020. Vol. 324(17). P. 1723–1724. https://doi.org/10.1001/jama.2020.19719.

10. Galea S., Merchant R.M., Lurie N. The Mental Health Consequences of COVID-19 and Physical Distancing: The Need for Prevention and Early Intervention // JAMA Intern Med. 2020. Vol. 180(6). P. 817–818. https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.1562.

11. Dąbrowska E., Galińska-Skok B., Waszkiewicz N. Depressive and Neurocognitive Disorders in the Context of the Inflammatory Background of COVID-19 // Life. 2021. Vol. 11(10). P. 1056. https://doi.org/10.3390/life11101056.

12. Odintsova M.A., Radchikova N.P., Stepanova L.V. Assessment of the COVID-19 Pandemic by Russian citizens With Various Levels of Hardiness // Russian Psychological Journal. 2020. Vol. 17(3). P. 76–88. (in Russian). https://doi.org/10.21702/rpj.2020.3.6.

УДК 614.272:614.273

ОЦЕНКА ФИНАНСИРОВАНИЯ РЕГИОНАЛЬНЫХ ПРОГРАММ ЛЬГОТНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЛИЦ, СТРАДАЮЩИХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ В СУБЪЕКТАХ РФ

Трапезникова Е.А., студ. 5 курса
Хусаинова А.И., к.фарм.н, старший преподаватель кафедры, (ORCID: 0000-0002-3924-8914)
Самарский государственный медицинский университет
443099, Самара, ул. Чапаевская, д 89, Российская Федерация.
E-mail: alia.hi@mail.ru

В рамках исследования изучены объемы финансирования льготного лекарственного обеспечения больных бронхиальной астмой за счет средств региональных бюджетов в ряде субъектов РФ. Выявлена неоднородность в реализации региональных программ льготного лекарственного обеспечения. Различия в затратах на лекарственную помощь больным бронхиальной астмой, связанны с разными финансовыми возможностями региональных бюджетов. Выявлено, что в разных регионах РФ региональные льготополучатели в рамках региональных программ льготного лекарственного обеспечения, имеют разные возможности в получении лекарственной помощи.

Ключевые слова: *лекарственное обеспечение, льготное лекарственное обеспечение, региональные льготополучатели*

Бронхиальная астма (БА) является гетерогенным заболеванием, характеризующиеся хроническим воспалением дыхательных путей, наличием респираторных симптомов, таких как свистящие хрипы, одышка, заложенность в груди и кашель, которые варьируют по времени и интенсивности, и проявляются вместе с вариабельной обструкцией дыхательных путей [1].

Гетерогенность БА проявляется различными фенотипами заболевания, многие из которых возможно выделить в обычной клинической практике.

По данным программы «Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы» (Global Initiative for Asthma, GINA) 348 млн. пациентов во всем мире страдают БА. В Российской Федерации, по данным недавно проведенного эпидемиологического исследования, распространенность БА среди взрослых составляет 6,9%, а среди детей и подростков – около 10% [1, 2].

Астма является хроническим заболеванием, которым страдают все возрастные категории граждан. При данном заболевании, воздушные каналы в легких сужаются из-за воспаления и спазмирования мышц вокруг малых дыхательных путей, что приводит к характерным для астмы симптомам, таким как кашель, хрип, одышка и чувство сдавленности в груди. Симптомы

астмы могут усугубляться и под воздействием различных «провоцирующих факторов», таких как респираторные вирусные инфекции, пыль, дым, пары, пыльца трав и деревьев, изменения погоды, шерсть животных и перья птиц и др. [3]. Несмотря на то, что симптомы астмы носят эпизодический характер и часто усугубляются в ночное время или во время физической нагрузки у больных астмой, не получающих надлежащего лечения, могут развиваться нарушения сна, усталость в течение дня и низкая концентрация внимания. Больные астмой, по причине приступов и ухудшения самочувствия, зачастую не могут полноценно работать, вынуждены пропускать работу по причине временной нетрудоспособности, что приводит к финансовым последствиям для больных и общества в целом. В наиболее тяжелых случаях астма может привести к смерти.

Ключевой принцип лечения БА заключается в достижении и поддержании контроля над клиническими проявлениями заболевания. С этой целью в современной медицине используется большой арсенал ингаляционных лекарственных средств (ЛС) и устройств их доставки. [4]. Несмотря на то, что астму нельзя излечить, надлежащее ведение пациентов с помощью ингаляционных препаратов позволяет людям с астмой держать болезнь под контролем и вести нормальную, активную жизнь. Поэтому очень важно своевременно обеспечить больных необходимыми лекарственными средствами. Учитывая серьезность и социальную значимость БА, это заболевание внесено в перечень заболеваний, которые подлежат государственной поддержке на разных уровнях оказания льготного лекарственного обеспечения граждан РФ, в том числе за счет средств региональных бюджетов в рамках региональных программ льготного лекарственного обеспечения (РПЛЛО) [5]. Стоит отметить, что уровни финансового состояния регионов страны неоднородны, в виду чего объемы лекарственного обеспечения жителей разных субъектов РФ могут значительно отличаться [5].

Целью исследования явилось изучение региональных особенностей реализации РПЛЛО для категорий граждан страдающих бронхиальной астмой.

В задачи исследования входило проведение сравнительной оценки ряда индикативных показателей реализации РПЛЛО в разных субъектах РФ в 2020 г. Оценке подлежали: объемы выделенных из региональных бюджетов средств на реализации РПЛЛО; количество льготников с данной нозологией; средний объем финансирования на 1 льготополучателя в год; доля граждан, обратившихся за лекарственной помощью (ЛП), из числа имеющих право на льготное лекарственное обеспечение; количество пациентов данной нозологии, обратившихся за лекарственной помощью; средний объем фактических затрат на 1 обратившегося льготополучателя в год.

Материалы и методы. Материалами для исследования послужили данные, собранные посредством карт-запросов и специально разработанных анкет в ряде органов управления здравоохранением субъектов Российской Федерации. Для изучения особенностей реализации РПЛЛО проанализированы количественные показатели программ в 19 субъектах РФ. Выборку регионов определяли исходя из критериев связанных с различным уровнем социально-экономического состояния регионов, административной структурой, численностью населения и площадью территории.

Результаты

В процессе исследования проведен анализ полученных данных о реализации региональных программ льготного лекарственного обеспечения в 19 субъектах РФ. Изучены количественные показатели РПЛЛО в следующих регионах: Белгородская область, Калужская область, Красноярский край, Курская область, Мурманская область, Ненецкий автономный округ, Псковская область, Республика Бурятия, Республика Калмыкия, Республика Карелия, Республика Марий Эл, Севастополь город, Томская область, Тульская область, Удмуртская Республика, Хабаровский край, Чеченская Республика, Чукотский автономный округ, Ямало-Ненецкий автономный округ.

Нами изучены расходы региональных бюджетов субъектов РФ на лекарственное обеспечение льготополучателей, болеющих бронхиальной астмой. В начале исследования были проанализированы совокупные объемы финансирования по данной нозологии в 19 субъектах РФ, которые в общей сложности составили более 500 млн. рублей. Наибольшие объемы финансирования отмечены в Калужской, Псковской, Мурманской областях, Хабаровском крае и Томской области. Соответственно наименьшие объемы финансирования отмечены в Республиках Бурятия, Калмыкия, Марий Эл, Чеченской Республике и Красноярском крае (рис. 1)

Рисунок 1. Объем финансирования льготополучателей, страдающих бронхиальной астмой в ряде субъектов РФ

При проведении изучения числа льготополучателей, получающих ЛС в рамках РПЛЛО, определено, что максимальное количество больных бронхиальной астмой встречается в Красноярском крае (24096 чел.), Удмуртской Республике (18472 чел.), Калужской (16655 чел.), Томской (12428 чел.) и Мурманской (11796 чел.) областях. Минимальное значение данного показателя отмечено в Республике Калмыкия (1053 чел.), Ненецком автономном округе (580 чел.), Чукотском автономном округе (363 чел.), Чеченской Республике (198 чел.), Республике Бурятия (171 чел.) (рис. 2).

Рисунок 2. Количество льготополучателей болеющих бронхиальной астмой в ряде субъектов РФ

При проведении анализа затрат в рамках РПЛЛО на одного льготополучателя в субъектах РФ была выявлена существенная неоднородность показателей от 12074,02 руб. в год на 1 льготополучателя в год в Чукотском автономном округе до 9,46 руб. в год в Красноярском крае, при среднем показателе этого значения 3859,83 руб. Наибольшее значение показателя среднего объема финансирования на 1 льготополучателя в год наблюдается в Чукотском автономном округе (12074,02руб.), Республике Бурятия (10514,04 руб.), Курской области (10028,99 руб.), городе Севастополь (9542,13 руб.), Псковской области (8199,90 руб.). Наименьшее значение данного показателя отмечено в Тульской области (1820,00 руб.), Чеченской Республике (1611,26 руб.), Республике Калмыкия (1282,05 руб.), Республике Марий Эл (331,13 руб.), Красноярском край (9,46 руб) (рис. 3).

В ходе дальнейшего исследования были изучены средние объемы фактических затрат на 1 обратившегося льготополучателя. Указанный показатель анализировали по данным 15 регионов РФ: Белгородская область, Калужская область, Курская область, Республика Марий Эл, Мурманская область, Ненецкий автономный округ, Псковская область, Республика Калмыкия, Севастополь город, Томская область, Тульская область, Удмуртская Республика, Хабаровский край, Чукотский автономный округ, Ямало-Ненецкий автономный округ.

В представленных субъектах РФ выявлено, что из общего числа граждан, имеющих право на льготное лекарственное обеспечение, доля обратившихся за получением лекарственной помощи существенно отличается и варьирует в диапазоне от 100,0% в Курской области до 7% в Республике Марий Эл.. Значения от 90,0% до 100,0 % отмечены в Ненецком автономном округе (98,0%) и в городе Ставрополе (90,0%). К регионам с наименьшими показателями доли обратившихся льготополучателей относятся Удмуртская Республика (41,9%), Республика Калмыкия (38,0%), Республика Марий Эл (7,0%). В остальных регионах доля обратившихся за лекарственной помощью различается в пределах от 50,0% до 85,0%.

Рисунок 3. Средний объем финансирования на 1 льготополучателя в год, руб.

С учетом доли пациентов обратившихся за лекарственной помощью определены средние объемы фактических затрат на 1 обратившегося льготополучателя в регионах. Данный показатель варьирует от 14670,74 руб. в год в Чукотском автономном округе до 2506,89 руб. в год в Тульской области, при этом среднее значение данного показателя по анализируемым субъектам РФ составляет 7843,35 руб.

Проведенный анализ выявил, что при реализации региональных программ льготного лекарственного обеспечения объемы фактических затрат на одного обратившегося льготополучателя заметно выше, чем объемы среднедушевого финансирования, что обусловлен тем, что показатель «обращаемость» в среднем составляет 64,9%.

Рисунок 4. Объем фактических затрат на 1 обратившегося льготополучателя в год в ряде субъектов РФ, руб.

Максимальные объемы финансирования наблюдается в Чукотском автономном округе (14670,74 руб.), Ямало-Ненецком автономном округе (11852,12 руб.), Псковской области (11186,77 руб.), городе Севастополе (10602,36 руб.), Мурманской области (10051,74 руб.). Минимальные объемы финансирование представлены в Удмуртской Республике (4861,16 руб), Республике Марий Эл (4730,45 руб.), Ненецком автономном округе (3720,61 руб.), Республике Калмыкия (3373,82 руб.), Тульской области (2506,89 руб.) (рис. 4).

Заключение. По итогам проведенного исследования в анализируемых субъектах РФ определен среднедушевой объем финансирования пациентов болеющих бронхиальной астмой в размере 3859,83 руб. в год, при этом в разных регионах отмечен значительный разброс значения данного показателя от 12074,02 руб. в год на 1 льготополучателя в год в Чукотском автономном округе до 9,46 руб. в год в Красноярском крае.

С учетом доли обращаемости граждан за получением лекарственной помощи, составляющей в среднем около 64,9% установлен средний объем фактических затрат на одного обратившегося льготополучателя в субъектах РФ. Данный показатель составляет 7843,35 руб в год и варьирует в пределах от от 14670,74 руб. в год в Чукотском автономном округе до 2506,89 руб. в год в Тульской области.

Установленные различия в степени реализации РПЛЛО региональных льготополучателей, страдающих бронхиальной астмой, и разной номенклатурой назначаемых лекарствееных препаратов. В результате чего льготополучатели имеют разные возможности при получении лекарственной помощи в рамках РПЛЛО в разных регионах страны

Результаты исследования могут быть положены в основу разработок методических подходов к совершенствованию лекарственного обеспечения больных с данным заболеванием.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Российское Респираторное Общество. [Электронный ресурс]. URL: https://spulmo.ru/

2. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. 2020. [Internet]. URL: https://ginasthma.org

3. Всемирная организация здравоохранения. [Электронный ресурс]. URL.: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/asthma

4. Макарова Е.И. Фармакоэкономическая оценка преимуществ применения изихейлеров при бронхиальной астме: дис. на соиск. учен. степ. канд. фарм. наук. (14.04.03). М.,2018. 214 с.

5. Постановление Правительства РФ от 30.07.94 г. N 890 (ред. от 14.02.2002) «О государственной поддержке развития медицинской промышленности и улучшении обеспечения населения и учреждений здравоохранения лекарственными средствами и изделиями медицинского назначения». [Электронный ресурс]. URL: https://base.garant.ru/101268/

SUMMARY

ASSESSMENT OF FINANCING OF REGIONAL PROGRAMS OF PREFERENTIAL DRUG PROVISION FOR PERSONS SUFFERING FROM BRONCHIAL ASTHMA IN THE SUBJECTS OF THE RUSSIAN FEDERATION

Trapeznikova E.A., 5th year student
Khusainova A.I., Candidate of Pharmaceutical Sciences, senior lecturer of the Department (ORCID: 0000-0002-3924-8914)
Samara State Medical University
443099, Samara, ul. Chapaevskaya, 89, Russian Federation
E-mail: alia.hi@mail.ru

As part of the study, the volumes of financing of preferential drug provision for patients with bronchial asthma at the expense of regional budgets in a number of subjects of the Russian Federation were studied. The heterogeneity in the implementation of regional programs of preferential drug provision has been revealed. Differences in the cost of drug care for patients with bronchial asthma are associated with different financial capabilities of regional budgets. It was revealed that in different regions of the Russian Federation, regional beneficiaries within the framework of regional programs of preferential drug provision have different opportunities to receive medical care.

Keywords: *drug provision, preferential provision of medicines, regional beneficiaries.*

REFERENCES

1. Russian Respiratory Society. [Internet]. URL: https://spulmo.ru/obrazovatelnye-resursy/federalnye-klinicheskie-rekomendatsii/ (in Russian)
2. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. 2020. [Internet]. URL: https://ginasthma.org
3. World Health Organization. URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/asthma (in Russian)
4. Makarova E.I. Pharmacoeconomic evaluation of the benefits of easyhalers in bronchial asthma: dis. for the competition scientist step. cand. pharm. sciences. (14.04.03). Moscow, 2018. 214 p.(in Russian)
5. Decree of the Government of the Russian Federation of July 30, 1994 N 890 (as amended on February 14, 2002) "On State Support for the Development of the Medical Industry and Improving the Protection of the Population and Healthcare Institutions". [Internet]. URL: https://base.garant.ru/101268/ (in Russian)

УДК 61:615.1

ОСОБЕННОСТИ ПРИВЛЕЧЕНИЯ И ПОДБОРА ПЕРСОНАЛА НА СОВРЕМЕННОМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРЕДПРИЯТИИ

Тышко О.А., магистрант 2-го года обучения
Руководитель: **Дельвиг-Каменская Т.Ю.**, канд. фарм. наук, доцент кафедры экономики и управления
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: tyshko.olga@pharminnotech.com

В последние годы фармацевтическая отрасль активно развивается: расширяются действующие производства, открываются новые заводы, научно-исследовательские центры, лаборатории, именно поэтому существенно возрастает потребность в персонале с профильным образованием. Вот почему работа HR-департамента современной фармацевтической компании становится ключевой в рамках грамотного привлечения и подбора персонала.

Ключевые слова: *фармацевтическая отрасль, профессии, рекрутмент, управление персоналом, персонал, вакансия, корпоративная культура, мотивация.*

Целью данного исследования является изучение роли HR-департамента в современной фармацевтической компании и особенностей его функциональной деятельности.

Для достижения поставленной цели сформулировали следующие задачи:

1. Изучить роль HR-департамента современной фармацевтической компании;
2. Рассмотреть комплекс основных мероприятий HR-департамента в рамках привлечения и подбора персонала;
3. Предложить рекомендации для повышения эффективности мероприятий по привлечению и подбору персонала.

Главным ресурсом фармацевтической компании, который обеспечивает эффективность функционирования предприятия и его рыночную устойчивость, а самое главное – эффективность и безопасность выпускаемых лекарственных препаратов, является персонал. Поэтому для предприятий фармацевтической отрасли становится актуальным вопрос управления персоналом, а именно привлечение и подбор.

Персонал, действительно, является важным ресурсом современной компании, поскольку благодаря его квалификации, знанию и мотивации возможно повысить результативность деятельности организации, а, в свою очередь, успех ее развития напрямую зависит от эффективности работы ее сотрудников. Высококвалифицированный персонал, замоти-

вированный и удовлетворенный условиями трудовой деятельности, как правило, демонстрирует высокую производительность труда [1]. Из всего этого следует, что грамотно организованная система управления персоналом, включающая в себя не только текущую работу с действующими сотрудниками, но и привлечение, а также подбор персонала, является способом достижения поставленных стратегических целей компании.

В целом система управления персоналом направлена на повышение конкурентоспособности фармацевтической компании на рынке, производительности труда и качества производимой фармацевтической продукции, и как следствие, увеличение прибыли. Поскольку персонал является одним из главных ресурсов современного фармацевтического предприятия, то совершенствованию системы управления персоналом должно уделяться особое внимание, а чтобы своевременно выявить существующие проблемы и найти пути решения, необходимо периодически анализировать и оценивать эффективность управления персоналом [1]. Но, прежде чем реально управлять персоналом в рамках компании, необходимо провести большую работу по определению потребности в персонале, учитывая его качественные и количественные характеристики, а также по его привлечению и подбору.

Именно HR-департамент компании в широком смысле управляет персоналом. Деятельность HR-департамента направлена на долговременное обеспечение в фармацевтической компании высококвалифицированными кадрами в необходимом количестве. Это важно для того, чтобы обеспечить высокое качество, а, следовательно, и эффективность, и безопасность выпускаемых лекарственных препаратов, поскольку они являются социально значимыми, т.к. необходимы для поддержания здоровья и сохранения жизни людей.

Комплекс мероприятий HR-департамента в рамках привлечения и подбора персонала на фармацевтическом предприятии должен включать в себя ключевые этапы:

• Поиск и развитие коммуникационных каналов с потенциальным соискателем (социальные сети, раздел «карьера» с возможностью обратной связи на официальном сайте компании, позиционирование на профессиональных конференциях);

• Правильное формирование вакансий: описание образа потенциального кандидата, требования к нему и позиционирование самой компании на рынке труда;

• Введение корпоративной культуры, способствующей сплочению коллектива организации в рамках осуществления единой миссии предприятия;

• Введение системы мероприятий по мотивации сотрудников (поощрения и награждения).

Таким образом, в рамках привлечения и подбора персонала очень важным является именно благоприятное позиционирование организации на рынке труда за счет грамотного рекламирования рабочих мест для потенциальных кандидатов, что в свою очередь, сможет вызвать их позитивное отношение к компании. Такое позиционирование может проявляться в соответствующей кадровой политике, опубликованной на официальных сайтах, в информации о работодателе при публикации вакансий, также на официальных страницах в социальных сетях, ведь это позволяет быть ближе к молодой аудитории и заинтересовать молодых и прогрессивных специалистов.

В настоящее время современные фармацевтические компании, действительно используют всевозможные цифровые ресурсы в качестве средств коммуникации для того, чтобы стать ближе к молодой аудитории, а именно, к студентам и выпускникам высших учебных заведений. Среди таких коммуникационных каналов: страницы в социальных сетях «ВКонтакте», «Facebook», «Instagram», канал на «Youtube» и Telegram-канал, которые отражены в таблице.

Таблица – Источники коммуникаций современных фармацевтических компаний с потенциальными соискателями

Компания / Средство коммуникации	ООО «Гротекс», Россия	ЗАО «Биокад», Россия	ООО НТФФ «Полисан», Россия
Страница в социальной сети «**ВКонтакте**»	+*	+ Существуют две страницы, одна из которых используется для публикации новостей и жизни компании, а другая является карьерной и там публикуются новости о стажировках, программах обучения и открытых вакансиях.	-
Страница в социальной сети «**Facebook**»	+	+	+ На данной странице публикуются новости о жизни предприятия и фотоотчеты мероприятий.
Страница в социальной сети «**Instagram**»	+	+ В Instagram-аккаунте публикуются актуальные фармацевтические новости, а также отражена история создания компании.	+ Данная Instagram-страница появилась только в августе 2021 года, поэтому сейчас ее развитие направлено на знакомство аудитории с компанией. Очень интересно, что помимо новостей о деятельности, еще и публикуются посты-вопросы (игры), направленные на коммуникацию с подписчиками.

Компания / Средство коммуникации	ООО «Гротекс», Россия	ЗАО «Биокад», Россия	ООО НТФФ «Полисан», Россия
Telegram-канал	+	+	+
Канал на «**Youtube**»	+ На Youtube-канале представлены видео с полезными советами для поддержания здоровья, видеоматериалы о выпускаемых лекарственных препаратах и медицинский изделиях, а также интересные интервью с руководителями департаментов.	+ На Youtube-канале представлен видео-обзор предприятия, видеоролики мероприятий и отрывки из новостных лент.	+ На Youtube-канале представлен видео-обзор предприятия и видео о выпускаемом препарате.
Выводы	Информация во всех социальных сетях дублируется. На данных страницах публикуются новости из жизни компании, а также полезные советы относительно профилактики здоровья. Можно сделать вывод, что у данной компании развитые коммуникационные сети.	Публикации социальной сети «ВКонтакте» дублируются на аналогичной странице в «Facebook». Подводя итог, можно сказать, что данная компания имеет развитые средства коммуникации.	Данная компания также обладает широким спектром способов коммуникации с потенциальными соискателями, однако необходимо более подробно рассказывать о карьерных возможностях и продолжать развивать коммуникационную структуру, например, создать такую страницу в социальной сети «ВКонтакте».

* «+» означает, что данная компания использует данное средство коммуникации.

Такая коммуникация с молодыми специалистами очень важна для современных фармацевтических компаний, ведь ВУЗы выпускают по праву достойных потенциальных кандидатов, преимуществами которых являются:

• Выпускники ВУЗов – носители современных знаний, готовые применять свои умения на практике;

• Они более мобильны, адаптивны, высоко мотивированы в достижении новых целей;

• Также они менее требовательны в зарплатных ожиданиях, нежели опытные работники.

При взрослении профессиональные ценности меняются, самомотивации уже не хватает, чтобы с прежней производительностью выполнять рабочие задачи. Поэтому для привлечения потенциальных кандидатов с достаточным опытом, необходимо выстраивать благоприятную корпоративную политику, а также систему мотивации. Ведь правильно сформированная корпоративная культура, в которой правит теплая дружеская атмосфера, благодаря корпоративным мероприятиям: программам отдыха и праздникам, дает реальный шанс проявить себя и отвлечься от повседневных забот, а, в свою очередь для того, чтобы вызвать внутреннее побуждение (мотивацию) у сотрудника, направленное на выполнение тех или иных рабочих задач, руководство разрабатывает соответствующие мероприятия по мотивации, которое также отражается в вакансии на ту или иную должность.

Резюмируя итоги проделанной научно-исследовательской работы, можно сформулировать рекомендации для повышения эффективности мероприятий по привлечению и подбору персонала:

• Рекомендуется развивать разделы, посвященные карьере и актуальным вакансиям, на официальном сайте фармацевтической компании, чтобы показать потенциальному кандидату возможности роста в рамках компании и отношение самой компании к сотрудникам.

• Рекомендуется развивать раздел, посвященный корпоративной культуре, на официальном сайте фармацевтической компании для того, чтобы заинтересовать потенциального кандидата, поскольку различные корпоративные мероприятия, включая спортивные соревнования, корпоративный спорт, курсы изучения языков, праздничные мероприятия и многое другое, являются мотивирующим фактором в отношении сотрудников, а также способствуют сплочению коллектива, а это, в свою очередь, является немаловажным, т.к. человек большую часть своей жизни проводит на работе.

• Рекомендуется развивать официальные страницы о жизни компании в социальных сетях (ВКонтакте, Facebook, Instagram, Telegram и другие) которые используются в современном мире как основной вид коммуникационного канала с соискателем. Публикации на таких страницах, посвященные жизни фармацевтической компании, профессиональным новостям, планам на будущее, позиционируют компанию, как открытую к общению, которой можно доверять.

• Рекомендуется создавать именно карьерные страницы в социальных сетях, которые были бы посвящены актуальным вакансиям, стажировкам, конференциям и другим профессиональным мероприятиям, которые предлагает фармацевтическая компания. Также на таких страницах может содержаться полезная информация, о том, как можно проявить себя, как пройти собеседование, какие семинары и тренинги можно посетить в качестве дополнительного обучения, что, в свою очередь, будет способствовать привлечению молодого и жаждущего работать персонала.

• Рекомендуется формулировать четкие требования (образование, опыт работы, знания и навыки, личные качества и дополнительная информация) при составлении вакансии, которые бы описывали реального человека, а не из области фантастики: «ищем сотрудника до 30 лет с опытом работы 15 лет».

• Рекомендуется рассматривать молодых специалистов без опыта работы по специальности (выпускников ВУЗов и студентов последних курсов), если есть возможность обучить всему с нуля, ведь именно молодые специалисты являются наиболее амбициозными и активными носителями свежих знаний и готовы применять их на практике, а также совершенствоваться и учиться новому.

Таким образом, применение вышеперечисленных рекомендаций в качестве организационно-управленческих решений, приведет к повышению эффективности мероприятий по привлечению и подбору персонала на фармацевтическом предприятии, а значит, что компания будет обеспечена высококвалифицированными кадрами в достаточном количестве.

Подводя итог, важно упомянуть, что роль HR-департамента современной фармацевтической компании, действительно, очень велика, а привлечение и подбор квалифицированного персонала для фармацевтической отрасли являются очень ответственными этапами, поскольку весь персонал компании несет ответственность за выпуск и реализацию социально значимой продукции – лекарств.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

61.00.00 Химическая технология. Химическая промышленность
61.01.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование
61.01.79 Кадры

ЛИТЕРАТУРА

1. Романцова О.Н. Персонал как главный ресурс любой организации // Молодой ученый. 2020. N 18(308). С. 135-138.

SUMMARY

PARTICULATITIES OF ATTRACTION AND RECRUITMENT OF PERSONNEL AT A MODERN PHARMACEUTICAL ENTERPRISE

Tyshko O.A., 2nd year master student
Academic advise: **Delvig-Kamenskaya T.Y.**, candidate of Pharmacy, docent of Economics and Management department
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: tyshko.olga@pharminnotech.com

In recent years, the pharmaceutical industry has been actively developing: existing plants are expanding, new enterprises, research and development centers, laboratories are opening, that's why the demand for personnel with specialized education is significantly increasing. That's why the work of the HR department of a modern pharmaceutical company becomes key within the correct attraction and recruitment of personnel.

Keywords: *pharmaceutical industry, professions, recruitment, human resources management, personnel, vacancy, corporate culture, motivation.*

REFERENCES

1. Romantsova O.N. Personnel as the main resource of any organization // Young scientist. 2020. N 18(308). P. 135-138. (in Russian)

УДК 61:615.1

ЭКСПЕРТНАЯ ОЦЕНКА ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ГОСПИТАЛЬНУЮ ПОТРЕБНОСТЬ В ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ

Угольцова В.Н., аспирант 3 года обучения
(ORCID: 0000-0002-3758-4703 Researcher ID Z-5950-2019)
Научный руководитель: **Шакирова Д.Х.**, доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармации
(ORCID: 0000-0002-7840-1985 Researcher ID Z-4412-2019)
Казанский (Приволжский) федеральный университет
420008 г. Казань, ул. Кремлевская, д.18., Россия
E-mail: Veronika.Ugolcova@gmail.com

Повышение доступности генно-инженерной терапии пациентам с аутоиммунными ревматическими заболеваниями является актуальной проблемой в условиях дефицита бюджетных средств. С помощью современных методов прогнозирования повысить точность прогноза госпитальной потребности возможно, учитывая влияние различных факторов на потребление. Цель исследования состояла в определении перечня факторов, влияющих на госпитальную потребность в генно-инженерных биологических препаратах (ГИБП), и проведении их экспертной оценки. В результате ранжирования «средневзвешенных оценок» по каждому фактору был определен ТОП-10 факторов, имеющих наибольшее влияние

для госпитального потребления ГИБП, которые были использованы для составления прогноза госпитальной потребности методом многофакторного математического моделирования на основе корреляционно-регрессионного анализа.

Ключевые слова: *госпитальная потребность, метод экспертных оценок, генно-инженерные биологические препараты*

Терапия аутоиммунных ревматических заболеваний (АРЗ) требует значительных затрат системы национального здравоохранения, в связи с чем вопросы оптимизации лекарственного обеспечения являются крайне актуальными. В условиях стохастичности и влияния множества факторов на госпитальное потребление ГИБП рациональным является использования метода многофакторного математического моделирования для оптимизации процессов планирования, закупок, распределения необходимых объемов генно-инженерных лекарственных препаратов при оказании высокотехнологичной лекарственной помощи больным с АРЗ в Республике Татарстан.

Цель исследования: определить перечень факторов, влияющих на госпитальную потребность в генно-инженерных биологических препаратах и провести их экспертную оценку.

Задачи исследования: составить оригинальную анкету для проведения экспертной оценки, определить социально-демографический портрет респондента и произвести отбор факторов, оказывающих наибольшее влияние на госпитальное потребление ГИБП при лечении аутоиммунных ревматических заболеваний (АРЗ).

Материалы и методы. Метод экспертной оценки, основанный на принципе индивидуального количественного оценивания экспертом предложенных факторов, использовался для определения наиболее значимых факторов, влияющих на госпитальную потребность в генно-инженерных препаратах для лечения АРЗ. [1]

Метод экспертной оценки был проведен в формате анонимного заочного анкетирования, проведенного на платформе Google forms, что исключило влияние интервьюера и мнений отдельных экспертов на результат. [2] Экспертную группу составили врачи, оказывающие высокотехнологичную помощь больным с АРЗ в трёх медицинских учреждениях г. Казани: ГАУЗ «РКБ МЗ РТ», ГАУЗ «Городская клиническая больница №7», Медико-санитарная часть ФГАОУ ВО «К(П)ФУ».

Каждому эксперту была предложена оригинальная анкета, состоящая из двух частей. Первая демографическая часть включала вопросы личных и профессиональных данных эксперта: пол, возраст, специальность, стаж и место работы, наличие квалификационной категории и ученой степени, которые необходимы для определения коэффициента компетенции экспертов и дальнейшего расчета средневзвешенной оценки факторов (рис. 1).

Анкета экспертной оценки факторов, влияющих на потребность в генно-инженерных биологических препаратах (ГИБП) при стационарном лечении РА, АС и ПсА

Уважаемый коллега!

Кафедра фармации ИФМиБ КФУ совместно с кафедрой госпитальной терапии КГМУ проводит исследование с целью выявления наиболее значимых факторов, влияющих на потребность в генно-инженерных биологических препаратах при стационарном лечении РА, АС и ПсА.

Просим Вас принять участие в нашем опросе и дать ответы на предлагаемые вопросы.

I. Профессиональные данные эксперта

1. Ваш пол	мужской	
	женский	
2. Ваш возраст	до 30 лет	
	от 30 до 40 лет	
	от 40 до 50 лет	
	от 50 до 60 лет	
	старше 60 лет	
3. Ваша специальность	ревматолог	
	Другое: _____	
4. Ваш профессиональный стаж	до 3 лет	
	от 3 до 5 лет	
	от 5 до 10 лет	
	от 10 до 20 лет	
	свыше 20 лет	
5. Квалификационная категория	вторая категория	
	первая категория	
	высшая категория	
6. Ученая степень	не имею	
	кандидат наук	
	доктор наук	
7. Населенный пункт	Город с населением более 1 млн. человек	
	Город с населением менее 1 млн. человек	
	Сельская местность	
8. Ваше место работы	Амбулаторно-поликлиническое учреждение здравоохранения	
	Стационарное учреждение здравоохранения	
9. Укажите должность, в которой вы работаете в настоящее время		

Рисунок 1. Вводная и демографическая (паспортная) часть анкеты экспертной оценки

Во второй части анкеты были отражены факторы, которые, по мнению группы специалистов, имеют влияние на госпитальную потребность в ГИБП. Руководствуясь инструкцией к заполнению, экспертам было предложено провести оценку указанных факторов, предположительно влияющих на потребность в ГИБП по 5-ти балльной шкале. Респон-

денту также предлагалось оценить источники аргументации, влияющие на ответ. Обработка полученных оценок проводилась с использованием математико-статистических методов с последующей интерпретацией результатов (рис. 2).

I. Экспертная оценка факторов, влияющих на потребность в ГИБП при стационарном лечении

Просим Вас в графе «Оценка фактора (от 0 до 5)» (столбец 3) оценить степень влияния на Ваш взгляд предложенных факторов (столбец 2) на потребность в генно-инженерных биологических препаратах по 5-ти балльной шкале, где:

0 баллов – отсутствие влияния;
от 1 до 2 баллов – незначительное влияние;
от 3 до 4 баллов – умеренное влияние;
5 баллов – значительное влияние.

Также оцените, пожалуйста, по 5-балльной шкале в столбце 4 и столбце 5 степень влияния «Практического опыта» и «Теоретической подготовки» на Ваш предыдущий ответ в столбце 3, где:

0 баллов – отсутствие влияния;
от 1 до 3 баллов – незначительное влияние;
от 4 до 5 баллов – значительное влияние.

№	Факторы	Оценка фактора (от 0 до 5)	Степень влияния источника аргументации (от 0 до 5)	
			Практический опыт	Теоретическая подготовка (в т.ч. курсы ППК)
1	*2*	*3*	*4*	*5*
1	Число госпитализированных с диагнозом РА за год, чел.			
2	Число госпитализированных с диагнозом АС за год, чел.			
3	Число госпитализированных с диагнозом ПсА за год, чел.			
4	Количество специализированных коек в стационаре			
5	Количество впервые выявленных больных с диагнозом РА в РТ за последний год, чел.			
6	Количество впервые выявленных больных с диагнозом АС в РТ за последний год, чел.			
7	Количество впервые выявленных больных с диагнозом ПсА в РТ за последний год, чел.			
8	Количество врачей ревматологов, чел.			
9	Численность населения РТ, чел.			
10	Общее количество инвалидов среди больных с РА, АС и ПсА, чел.			
11	Общее количество инвалидов среди больных с РА, АС и ПсА, чел.			
12	Общее количество инвалидов среди больных с РА, АС и ПсА, чел.			
13	Длительность госпитализации больных с РА, койко-дни			
14	Длительность госпитализации больных с АС, койко-дни			
15	Длительность госпитализации больных с ПсА, койко-дни			
16	Объем финансирования по программе «Высокотехнологичная медицинская помощь», руб.			
17	Объем финансирования по программе ОМС КСГ, руб.			
18	Финансовое обеспечение программы ОНЛС в РТ, млн. руб.			
19	Объем закупок ГИБП для лечения РА, руб.			
20	Объем закупок ГИБП для лечения АС, руб.			
21	Объем закупок ГИБП для лечения ПсА, руб.			
22	Появление на рынке новых ГИБП (обновление ассортимента)			
23	Уровень цен на ГИБП, руб.			

Рисунок 2. Основная часть анкеты экспертной оценки (перечень предложенных факторов)

Результаты исследования. В результате был сформирован социально-демографический портрет респондента (рис. 3).

Рисунок 3. Социально-демографический портрет респондента, оказывающего медицинскую помощь пациентам с РА, АС и ПсА

Среди опрошенных специалистов преобладают женщины (75,00%), средний возраст которых составил 40-50 лет (35,00%), врачи-ревматологи (95,00%) высшей категории (60,00%), имеющие стаж работы свыше 20 лет (50,00%), 40,00% респондентов являются кандидатами наук, все опрошенные работают в городе Казани, в стационарном учреждении здравоохранения работают 80,00% врачей.

В ходе математико-статистической обработки экспертных оценок были определены «средневзвешенные оценки» по каждому фактору, указанные экспертами врачами-ревматологами, на основании которых было проведено ранжирование факторов, влияющих на госпитальную потребность в ГИБП. [3] Установлено, что наибольшее влияние на госпитальную потребность в ГИБП оказывают факторы: объем финансирования по программе ОМС КСГ (4,24), финансовое обеспечение программы ОНЛС (4,24), объем закупок ГИБП для лечения ПсА (4,24), объем финансирования по программе «Высокотехнологичная медицинская помощь» (4,23), объем закупок ГИБП для лечения РА (4,23), объем закупок ГИБП для лечения АС (4,21), уровень цен на ГИБП (3,56), появление на рынке новых ГИБП (2,91), общее количество инвали-

дов среди больных с АС (2,85), общее количество инвалидов среди больных с РА (2,81), общее количество инвалидов среди больных с ПсА (2,81). [5]

Для отобранных факторов, вошедших в ТОП-10 по ранжированию «средневзвешенной оценки» определяли уровень согласованности экспертов, рассчитанный путём расчета коэффициента вариации. Степень согласованности мнения экспертов явилась удовлетворительной, так как не превысила критериального значения в 25%.

Заключение. В результате проведенных исследований сформирована группа факторов, которые, по мнению экспертной группы, имеют наибольшее влияние на госпитальную потребность в ГИБП для лечения пациентов с АРЗ, необходимые для составления прогноза госпитальной потребности методом многофакторного математического моделирования на основе корреляционно-регрессионного анализа.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

ЛИТЕРАТУРА

1. Барлиани А.Г. Экспертные методы оценок в менеджменте // Интерэкспо Гео-Сибирь. 2007. С. 186-188

2. Вардомацкая Е.Ю. Применение методов экспертных оценок при выборе управленческих решений // Инновационная наука. 2021. N 6. С. 83–85.

3. Данелян Т.Я. Формальные методы экспертных оценок // Статистика и экономика. 2015. N 1. С.183-187.

4. Кобзарь Л.В., Сафронова Т.А. Изучение потребления гормональных препаратов методом экспертных оценок // Фармация. 1981. N 4. С.5–9.

5. Госпитальная потребность в генно-инженерных биологических препаратах для лечения пациентов с ревматическими заболеваниями / В.Н. Угольцова [и др.] // Фармация. 2021. N 8. С. 49–53.

SUMMARY

EXPERT ASSESSMENT OF FACTORS AFFECTING THE HOSPITAL NEED FOR GENETICALLY ENGINEERED BIOLOGICAL DRUGS

Ugolcova V.N., postgraduate student 3 years of study
(ORCID: 0000-0002-3758-4703 Researcher ID Z-5950-2019)
Scientific supervisor: **Shakirova D.Kh**. Doctor of Pharmaceutical Sciences, Head of the Department of Pharmacy
(ORCID: 0000-0002-7840-1985 Researcher ID Z-4412-2019)
Kazan (Volga region) Federal University
18, Kremlevskaya st., Kazan, Tatarstan, Russia

Increasing the availability of genetic engineering therapy to patients with autoimmune rheumatic diseases is an urgent problem in conditions of budget deficit. With the help of modern forecasting methods, it is possible to increase the accuracy of the forecast of hospital needs, taking into account the influence of various factors on consumption. The purpose of the study: to determine the list of factors affecting the hospital need for genetically engineered biological drugs (GIBD) and to conduct their expert assessment. Conclusions: as a result of the ranking of «weighted average estimates» for each factor, the TOP 10 factors with the greatest impact on hospital consumption of GIBP were determined, which were used to make a forecast of hospital needs by the method of multifactorial mathematical modeling based on correlation and regression analysis.

Keywords: *hospital need, expert assessment method, genetically engineered biological drugs.*

REFERENCES

1. Barliani A.G. Ekspertnye metody ocenok v menedzhmente // Interexpo Geo-Siberia. 2007. P. 186-188. (in Russian)

2. Vardomackaya E.YU. Primenenie metoda ekspertnyh ocenok pri vybore upravlencheskih reshenij // Innovative science. 2021. N 6. P. 83–85. (in Russian)

3. Danelyan T.YA. Formal'nye metody ekspertnyh ocenok // Statistika i ekonomika. 2015. N 1. P. 183-187. (in Russian)

4. Kobzar' L.V., Safronova T.A. Izuchenie potrebleniya gormonal'nyh preparatov metodom ekspertnyh ocenok // Farmaciya. 1981. N 4. P. 5–9. (in Russian)

3. Gospital'naya potrebnost' v genno-inzhenernyh biologicheskih preparatah dlya lecheniya pacientov s revmaticheskimi zabolevaniyami / V.N. Ugol'cova [et al.] // Farmaciya. 2021. N 8. P. 49–53. (in Russian)

УДК 67.06

РЫНОК МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ

Хорунжая А.А., ведущий специалист по ЭО и ДОТ
Руководитель: **Пухакайнен Ю.А.,** к. фарм. н., доцент
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anastasiya.horunzhaya@spcpu.ru

В статье дана характеристика ряда вопросов и аспектов обращения медицинских изделий. приведен обзор системных изменений регулирования в сфере обращения медицинских изделий в Российской Федерации в 2021 году. Отражен успешный опыт регулирования обращения медицинских изделий в период пандемии новой коронавирусной инфекции. Сформулированы основные перспективы развития обращения медицинских изделий.

Ключевые слова: *медицинские изделия, комплексная оценка, государственные закупки медицинских изделий, мировой рынок медицинских изделий.*

Важнейшим фактором, определяющим здоровье населения, является качество медицинской помощи, которое в свою очередь в значительной степени зависит от качества медицинских изделий.

Состояние обеспечения медицинскими изделиями, как населением, так и представителями высшей государственной власти оценивается как негативное. В первую очередь это связано с высокой стоимостью медицинских изделий. Особую озабоченность вызывает импортозависимость России. На рынке преобладают медицинские изделия зарубежного производства, что является следствием отсталости отечественной фармацевтической промышленности и ее научно-исследовательского потенциала. По мнению В.В. Путина, «Для возвращения технологического лидерства нам нужно тщательно выбрать приоритеты. Кандидатами являются такие отрасли, как фармацевтика, высокотехнологическая химия, производство медицинских изделий и нанотехнологии» [2].

По состоянию на март 2022г. государством реализуется Федеральная целевая программа «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2030 года и дальнейшую перспективу», утвержденная постановлением Правительства Российской Федерации от 30 марта 2018 г., основной целью которой является переход фармацевтической и медицинской промышленности на инновационную модель развития.

Цель: выделить и проанализировать аспекты рынка медицинских изделий, отличающиеся от рынка непродовольственных товаров и фармацевтического рынка.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Определить социальную значимость медицинских изделий;
2. Исследовать внешние эффекты производства и потребления медицинских изделий;
3. Раскрыть особенности бизнес-цикл производства медицинских изделий и источников финансирования
4. Определить объем номенклатуры рынка медицинских изделий;
5. Исследовать современное состояние российского рынка медицинских изделий и выявить основные проблемы отрасли и особенности регулирования рынка медицинских изделий.

Материалы и методы

Анализ проводился с использованием базы данных аналитической компании DSM Group [https://dsmviewer.ru/LoginForm.aspx?ReturnUrl=%2f], государственный реестр медицинских изделий [https://roszdravnadzor.gov.ru/services/misearch],. В работе использовались методы контент-анализа, агрегирования данных, сравнительного анализа**.**

Результаты и обсуждение

К фундаментальным особенностям рынка медицинских изделий следует отнести:

1) высокую социальную значимость представленных на нем товаров;
2) наличие значительных внешних эффектов;
3) длительность бизнес-цикла;
4) широкую номенклатуру медицинских изделий;
5) неэластичность спроса по цене;
6) обращение нормальных товаров;
7) несуверенность потребителя;
8) гомогенность по источникам финансирования;
9) специфичность рекламы;
10) государственный контроль обращения медицинских изделий.

Социальная значимость медицинских изделий. В первую очередь следует отметить высокую социальную значимость медицинских изделий, от которых зависят здоровье и жизнь миллионов людей. Расходы на обеспечение медицинскими изделиями являются важнейшей статьей затрат на здравоохранение во всех странах мира. Так по данным Росстата, в России в 2020 г. на приобретение лекарств было израсходовано 33% от консолидированных затрат бюджета на здравоохранение. В потребительских расходах домашних хозяйств на здравоохранение доля медикаментов и медицинского оборудования составляет 54% [3].

В связи с высокой социальной значимостью состояние обращения медицинских изделий в стране может рассматриваться как проблема национальной безопасности.

Рисунок 1. Объем российского рынка медицинских изделий, млрд.руб.
Источник: ОЭСР, оценки Национального рейтингового агентства

Особое внимание обращает то, что медицинские изделия и оборудование – социально значимые товары, поэтому для них установлены льготные ставки НДС – 0% и 10%. Прежде всего не облагаются НДС важнейшие и жизненно необходимые медицинские изделия. Они перечислены в постановлении Правительства РФ в от 30.09.2015 № 1042, которое опирается на п.2 статьи 150 НК РФ, пп.1 п. 2 статьи 49 НК РФ. НДС не облагаются медицинские товары, произведенные в России или других странах, реализуемые на территории России или импортируемые.

При импорте или реализации медицинских товаров работает льготная ставка 10% (пп. 4 п. 2 и п. 5 ст. 164 НК РФ).

Внешние эффекты производства и потребления медицинских изделий. Медицинские изделия являются товаром, имеющим значительные внешние эффекты (экстерналии), воздействие которых на третьих лиц, не являющихся ни покупателями, ни продавцами, не отражено в цене блага. Следует отметить, что потребление МИ создает положительные внешние эффекты, связанные с уменьшением распространения инфекционных заболеваний. Применение МИ для профилактики здоровья (например, маски медицинские) уменьшает заболеваемость и тем самым экономит деньги налогоплательщиков, ассигнованные на здравоохранение и выплаты по нетрудоспособности. Что касается отрицательных внешних эффектов, связанных, в первую очередь, с экологической чистотой производства МИ, то в развитых странах она регулируется государством и надгосударственными органами, в то время как в развивающихся странах, в особенности в Индии и Китае, эта проблема стоит достаточно остро [4].

Бизнес-цикл производства медицинских изделий. Медицинские изделия являются наукоемким товаром со средней длительностью бизнес-цикла. Цикл регистрации нового изделия – процесс трудоемкий и долгий, в общей сложности он может занимать до двух лет. И если на момент начала официального оформления технология считается прорывной, то к концу ее может успеть освоить весь мир. Даже если производитель успел внедрить эффективную новинку, может возникнуть другая проблема – недостаток медицинского персонала, способного с ней работать. Поэтому многие крупные мировые компании создают на базе производства специальные учебные центры для врачей, где рассказывают, как пользоваться тем или иным оборудованием и изделием.

Длительный цикл подготовки к производству связан с жесткостью требований, разнообразием технологических процессов, оборудования, сырья, а также особыми требованиями к персоналу, способу изготовления, процессу непрерывного контроля, состоянию помещений, оборудования и гигиене, которым должно отвечать фармацевтическое производство.

Номенклатура медицинских изделий. Международная Номенклатура медицинских изделий (GMDN) определяет 12 категорий медицинской техники, состоящей более чем 10000 групп и 500 000 типов устройств. Введение номенклатурного классификатора на международном рынке медицинского оборудования обеспечивает эффективное регулирование отрасли, а также формирует процессы оптимального технического оснащения лечебно-профилактических учреждений во всем мире.

Российский рынок медицинских изделий не слишком значителен по мировым меркам: эксперты оценивают его долю в 1,3% от общемирового объема. Тем не менее, для нашей страны это очень значительные цифры: по итогам 2020 года его объем в денежном выражении составил около 290 миллиардов рублей, сообщает корпорация Meditex. Как и следовало ожидать, в соответствии с общемировыми тенденциями эта величина снизилась в сравнении с 2019 годом, когда этот показатель оценивался в сумму порядка 305 миллиардов рублей. В результате сокращение объемов производства медицинской продукции в денежном выражении составило около 5%.

В 2021 году существенно вырос сегмент медизделий для диагностической визуализации, а также изделий для хирургии и эндоскопии.

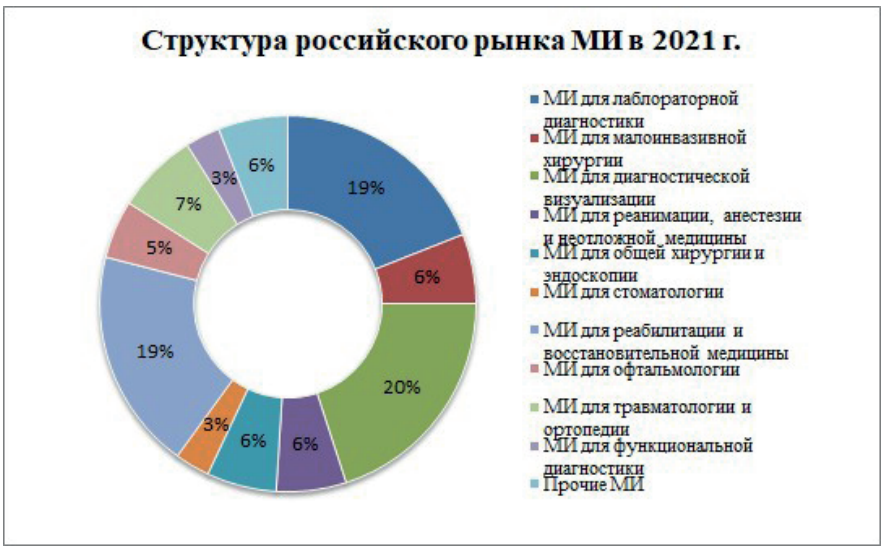


Рисунок 2. Структура российского рынка медицинских изделий в 2021 г.
Источник: DSM, оценки и прогнозы Национального рейтингового агентства

По состоянию на март 2022г. Минздравом России разрешено к применению около 20 тысяч наименований медицинских изделий (из них более 12 тысяч – отечественного производства), причем ежегодно регистрируется более 500 новых изделий [5].

Неэластичность спроса на медицинские изделия. Спрос на большинство медицинских изделий обладает низкой эластичностью, это и означает, что коэффициент эластичности меньше единицы. Так, по оценкам ряда специалистов коэффициент ценовой эластичности спроса на стационарную медицинскую помощь в среднем равен 0.7, а во многих случаях он колеблется от 0.2 до 0.7. Это означает, что при повышении цен на медицинские изделия спрос уменьшается в меньшей степени, чем растет цена [3,4].

Эластичность препарата по цене определяется отношением изменения цены к изменению объема спроса (продаж). Тем не менее, такая трактовка понятия ценовой эластичности спроса медицинских изделий неоднозначна, поскольку цена может определяться на различных уровнях: производителя, дистрибьютора, розничной аптеки. При этом цена как характеристика определенного конкретного товара может иметь несколько значений (цена прайс-листа; цена прайс-листа с учетом регулярных скидок; цена прайс-листа с учетом регулярных скидок и различных бонусов за определенный период времени).

Несуверенность потребителя. Вследствие недостаточной компетентности и информированности о потребительских свойствах такого сложного товара как медицинские изделия, а также психологической напряженности и дистанцированности важную роль в назначении МИ играет врач, а также рекомендации провизоров и фармацевтов как в стационаре, так и при амбулаторном лечении. При этом происходит расщепление функции потребителя.

В процессе принятия решения о покупке потребитель, как правило, не самостоятелен – в этом процессе участвует еще прескрайбер, который назначает МИ (врач) или рекомендатор (провизор или фармацевт, консультант). Причем, прескрайбер, принимающий решение, не платит за покупку. Для фармацевтического рынка характерна уникальная ситуация, когда решение о покупке во многом принимает одно лицо, а потребляет продукт – другое. Причем финансовые затраты при этом может нести третья сторона – как это происходит в случае обязательного и добровольного медицинского страхования [6].

Гетерогенность по источникам финансирования. Рынок медицинских изделий гетерогенен по источникам финансирования. Это чрезвычайно значимо, поскольку потребительское поведение субъектов рынка радикально меняется в зависимости от того, самостоятельно ли они платят за продукт, или его оплачивают третьи лица. Также отличается поведение тех субъектов, которые оплачивают один и тот же продукт, из которых одни его используют сами, а другие исключительно финансируют покупку, но сами им не пользуются.

С 2014 года в России наблюдается устойчивый рост совокупных расходов из федерального бюджета на лекарственные средства и медицинские изделия. В настоящее время за счет средств федерального бюджета финансируется основная часть расходов по обеспечению МИ граждан Российской Федерации. Данная тенденция обусловлена недофинансированием обеспечения МИ в Российской Федерации за счет средств ОМС. Государство разрабатывает и использует различные механизмы финансовой поддержки федерального бюджета. Одним из них является ДМС, однако данное направление сталкивается с рядом ограничений нормативно-правовой базы, а также низким уровнем доходов. Однако для повышения обеспечения МИ населения наиболее эффективной моделью будет являться система задействования всех финансовых потоков, а именно использование средств федерального бюджета, ОМС, ДМС, а также применение механизмов соплатежей и накопительной системы [7].

Специфичность рекламы. Формирование спроса на фармацевтические товары с участием не только покупателей, но и врачей, определяет специфичность их рекламы, направленной по большей части не столько на потребителя, сколько

на врача. Этические принципы рекламы медицинских изделий, которые изложены вфундаментальных международных документах: «Маркетинговом кодексе» Международной Федерации ассоциаций фармпроизводителей распространяются и на медицинские изделия. Более того, в странах с развитой рыночной экономикой в соответствии с законодательством в сфере фармации, специализированные медицинские изделия могут рекламироваться только среди врачей, либо в специализированных изданиях, либо на презентациях и конференциях, специально устраиваемых фирмами, либо при индивидуальных контактах представителей фирм с врачами [3].

Регулирование рекламы медицинских изделия затрагивает не только собственно прямую рекламу, но и любую деятельность, направленную на продвижение медикаментов, в том числе деятельность медицинских и фармацевтических представителей, проведение научных мероприятий, выдачу бесплатных образцов товаров и любую другую деятельность, относящуюся к коммуникационной стратегии фармацевтического предприятия.

Государственный контроль обращения медицинских изделий. Фармацевтическая деятельность производителей лекарств и медицинских изделий подлежат регулярному лицензированию; периодически сертифицируются фармацевтические кадры. В целом можно сделать вывод, что в развитых странах фармацевтика является одной из самых законодательно регулируемых сфер бизнеса. Рынок медицинских изделий имеет большое количество этических и законодательных регламентаций и ограничений в продвижении продуктов, описываемых в международных и национальных законодательствах и правилах. Присутствие государства на рынке МИ обусловлено необходимостью корректировки «провалов» рынка, свойственных для отраслей с высокой долей экстерналий. Можно сказать, что вся структура бизнеса в этой сфере осознанно формируется государством с целью общественной выгоды и очень часто успех на рынке прямо зависит от степени соответствия политики компании государственным предписаниями и требованиям.

В *Постановлении Правительства РФ от 30 июня 2021 г. N 1066 «О федеральном государственном контроле (надзоре) за обращением медицинских изделий»* изложены основные принципы риск-ориентированного подхода к контролю за рынком МИ: в зависимости от класса риска, видов, адресов производства и использования, хранения, транспортировки, клинических испытаний МИ, а также профиля проверяемой организации. Исходя из указанных критериев будет формироваться балльный рейтинг, согласно которому участники рынка будут делиться по четырем категориям – низкого, умеренного, среднего и значительного риска [1].

Важно отметить, что по итогам госконтроля за 2020 год Росздравнадзор в ходе 1 183 проверок выявил 223 недоброкачественных и 168 незарегистрированных МИ. Почти 300 наименований МИ было отозвано производителем, еще 51 – изъято из обращения регулятором.

Государственная дума РФ на заседании 4 марта сразу в трех чтениях приняла отвечающий на санкции законопроект, в частности позволяющий госзаказчикам закупать лекарства, медицинские изделия, технические средства реабилитации и услуги по упрощенной процедуре и у единственного поставщика. Кроме того, правительство наделено полномочиями по увеличению начальной (максимальной) цены контракта и годового объема закупок отдельных лекарств и МИ.

Заключение

Таким образом, проанализировав общее состояние рынка медицинских изделий, можно сделать следующие выводы:

1. Рынок медицинских изделий (МИ) является одним из самых быстрорастущих, прибыльных и перспективных на данный момент. Он обладает свойствами и значительным потенциалом для роста, в особенности на международных рынках. Рынок медицинских изделий относительно недавно стал областью экономических отношений, который обозначил себя как отдельный объект исследования.

2. Требуется провести патентный анализ, чтобы выявить какие виды и свойства товаров необходимо улучшать в процессе производства и продвижения российских медицинских изделий.

3. Регулирование рекламы медицинских изделия затрагивает не только собственно прямую рекламу, но и любую деятельность, направленную на продвижение медикаментов, в том числе деятельность медицинских и фармацевтических представителей, проведение научных мероприятий, выдачу бесплатных образцов товаров и любую другую деятельность, относящуюся к коммуникационной стратегии фармацевтического предприятия.

4. Для повышения обеспечения МИ населения наиболее эффективной моделью будет являться система задействования всех финансовых потоков, а именно использование средств федерального бюджета, ОМС, ДМС, а также применение механизмов соплатежей и накопительной системы.

5. Были выявлены следующие фундаментальные особенности рынка медицинских изделий: высокая социальная значимость, наличие значительных внешних эффектов, длительность бизнес-цикла, широкая номенклатура медицинских изделий; неэластичность спроса по цене, несуверенность потребителя, гетерогенность по источникам финансирования, специфичность рекламы, государственный контроль обращения медицинских изделий, что существенно отличает рынок МИ от рынка непродовольственных товаров и фармацевтического рынка.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.09.00 Медицинские материалы, средства и изделия

ЛИТЕРАТУРА

1. О федеральном государственном контроле (надзоре) за обращением медицинских изделий : Постановление Правительства РФ от 30 июня 2021 г. N 1066 [Электронный ресурс]. URL.: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_388979/

2. Путин В.В. Нам нужна новая экономика // Ведомости. 2012. 30 янв.

3. Пивень Д.В., Кицул И.С. Обращение медицинских изделий: многочисленные проблемы нормативного регулирования или что должен делать главный врач. Часть 1. // Менеджер здравоохранения. 2014. N 7. С. 15-22.

4. Тенденции развития розничного сектора российского фармацевтического рынка в контексте инновационного развития экономики / А.А. Лин [и др.] // Экономика и управление. 2009. N 11. С. 22–26.

5. DSM Group, база данных аналитической компании. [Электронный ресурс]. URL: https://dsm.ru/

6. Лин А.А., Соколова С.В. Фармацевтический рынок: фундаментальные особенности // Проблемы современной экономики. 2012. N 3(43). С. 322–325.

7. Журавлева Н.В., Лопаткин Д.С. Обязательное медицинское страхование как источник финансирования здравоохранения // Финансы и кредит. 2019. N 10(538). С. 63-66

SUMMARY

MEDICAL DEVICES MARKET: FUNDAMENTAL FEATURES

Khorunzhaya A.A., leading specialist in EO and DOT
Supervisor: **Puhakainen Yu.A.**, Ph.D., Associate Professor
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
197376, St. Petersburg, Prof. Popova, 14, Russian Federation
E-mail: anastasiya.horunzhaya@spcpu.ru

The article describes a number of issues and aspects of the circulation of medical devices. An overview of systemic regulatory changes in the sphere of circulation of medical devices in the Russian Federation in 2021 is given. The successful experience of regulating the circulation of medical devices during the pandemic of a new coronavirus infection is reflected. The main prospects for the development of the circulation of medical devices are formulated.

Keywords: *medical products, comprehensive assessment, public procurement of medical products, world market of medical products.*

REFERENCES

1. On Federal State Control (Supervision) over the circulation of medical devices : Decree of the Government of the Russian Federation No. 1066 of June 30, 2021 [Internet]. URL.: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_388979/ (in Russian)

2. Putin V.V. We need a new economy // Vedomosti. 2012. 30 Jan. (in Russian)

3. Piven, D.V., Kitsul I.S. Circulation of medical devices: numerous problems of regulatory regulation or what the chief physician should do. Part 1 // Health care manager. 2014. N 7. P. 15-22. (in Russian)

4. Trends in the development of the retail sector of the Russian pharmaceutical market in the context of innovative economic development / A.A. Lin [et al.] // Economics and management. 2009. N 11. P. 22-26. (in Russian)

5. DSM Group, database of the analytical company [Internet]. URL: https://dsm.ru/

6. Lin A.A., Sokolova S.V. Pharmaceutical market: fundamental features // Problems of modern economy. 2012. N 3(43). P. 322-325. (in Russian)

7. Zhuravleva N.V., Lopatkin D.S. Compulsory medical insurance as a source of healthcare financing // Finance and credit. 2019. N 10(538). P. 63-66. (in Russian)

УДК 661.12

АНАЛИЗ ФИНАНСОВЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КЛЮЧЕВЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ АКТИВНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ В РОССИИ

Хрол Д.Д., магистрант 2 года обучения (ORCID: 0000-0002-6403-7326, ResearcherID: K-3677-2017)
Научный руководитель: **Трофимова Е.О.**, докт. фарм. наук, проф. (ORCID: 0000-0002-4940-9953)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: daria.khrol@spcpu.com

В последние годы в производстве лекарственных препаратов в России все больше используются отечественные активные фармацевтические субстанции (АФС). Цель исследования состояла в анализе финансовых результатов деятельности производителей АФС. В период с 2016 г. по 2020 г. выручка компаний в среднем увеличилась в два раза, рентабельность по EBITDA – с 13,5% до 27,1%, рентабельность по чистой прибыли – с 10,3% до 16,2%. Стоимость основных средств увеличилась более, чем в 5 раз, однако инвестиции в развитие производства были характерны для ограниченного числа компаний. Компании финансово устойчивы и по состоянию на 2020 г. демонстрируют хорошие возможности по обслуживанию кредитных обязательств.

Ключевые слова: *активные фармацевтические субстанции, фармацевтическое производство, анализ финансовых показателей, российский фармацевтический рынок, инвестиционная активность.*

В советский период фармацевтическая промышленность обеспечивала активными фармацевтическими субстанциями (АФС) не только свои заводы по выпуску готовых лекарственных субстанций (ГЛС), но и занималась экспортом АФС и помощью в создании соответствующих производств в других странах [1]. В то же время основные инвестиции в развитие производственных мощностей в советский период были сделаны в 60-70-е годы XX века в рамках широкомасштабной программы развития химико-фармацевтического производства. В течение последующих 30 лет таких крупных и целенаправленных государственных инвестиций не было. Фармацевтическая промышленность финансировалась по остаточному принципу. В 1991 г. износ основных производственных фондов отечественной фармацевтической промышленности в среднем составлял 70%, действующие технологии значительно отставали от мирового уровня и не соответствовали требованиям GMP [2]. Отечественная фармацевтическая промышленность выпускала ограниченный перечень АФС, разработанных в основном еще в 50-70-е. Значительная часть лекарственных препаратов производилась на территории восточноевропейских стран социалистического блока и импортировалась в страну.

В 90-е годы XX века производство АФС в натуральном выражении неуклонно снижалось, поскольку затраты на производство резко возросли, и сфера производства АФС оказалась неконкурентоспособной в условиях рыночной экономики. Медленный рост объема производства АФС начался только в 2003 г., при этом, например, в 2005 г. уровень производства АФС был равен всего лишь 16% от уровня производства 1992 г. [1, 3]. Собственное производство АФС находилось в упадке, его возрождение стоило дорого, дешевле было закупать АФС из-за рубежа, в результате чего производители ГЛС в течение 20 лет использовали преимущественно импортные АФС, в первую очередь, китайского происхождения. Промышленность России стала зависима от импортных поставок. По состоянию на 2018 г. соотношение иностранных и российских поставщиков АФС составляло 9:1, а отечественные компании производили только 15% всего объема субстанций, необходимого для фармацевтической промышленности [3].

В 2020 г. доля производства готовых лекарственных форм (ГЛФ) из собственных субстанций возросло до 20%. Пандемия COVID-19 и локдаун в Китае четко обозначили имевшуюся и ранее проблему зависимости от импортных поставок АФС. Пандемия вызвала дефицит импортного сырья. Кроме того, ранее Китай, главный импортер АФС, выигрывал в конкурентной борьбе за счёт низкой стоимости рабочей силы и пренебрежения к экологическим требованиям, но со временем заработная плата в этой стране выросла, а экологические нормы ужесточились на государственном уровне, вследствие этого стоимость китайских АФС выросла в 2018-2019 гг. на 20% [4]. По российскому законодательству, цены на препараты из перечня ЖНВЛП регулируются, и, хотя для отечественных препаратов предусмотрена их индексация на размер прогнозируемой инфляции, в рамках действующей системы госзакупок возможности для повышения цен почти полностью отсутствуют. Все это негативно сказывается на производстве, использующем в основном импортные АФС, и стимулирует компании к организации полного цикла производства. В случае, когда речь идет о собственных разработках российских компаний, прежде всего в сфере биотехнологий, а также при производстве современных дорогостоящих воспроизведенных препаратов, это становится особенно актуальным.

В последнее десятилетие российские производители получили значительную поддержку со стороны государства в виде: прямой финансовой поддержки в рамках отраслевой федеральной целевой программы на исследования и разработки, трансфер технологий и импортозамещение; субсидирования части понесенных затрат на разработку схожих по фармакотерапевтическому действию и улучшенных аналогов инновационных лекарственных препаратов, проведение клинических исследований, создание производства субстанций; предоставления льготных займов на реализацию инвестиционных проектов в сфере развития высоких технологий и импортозамещения. Российские производители получили также значительные преимущества в системе госзакупок, особенно это касается выпуска продукции полного цикла производства.

Рынок АФС в России за последние годы стремительно меняется, и интерес представляет изучение состояния дел его игроков.

Целью исследования являлся анализ финансовых показателей деятельности ключевых производителей АФС в России.

В задачи исследования входило:

- определение основных бизнес-моделей, в рамках которых действуют российские производители АФС;
- сравнение между собой и с общеотраслевыми показателями финансового состояния включенных в выборку предприятий, производящих АФС.

Материалы и методы. В выборку было включено 9 компаний, использующих различные бизнес-модели. Деятельность компаний изучена с использованием информации, представленной на их сайтах и в отраслевых источниках. Финансовые результаты деятельности изучены на основании форм 1 и 2 бухгалтерской отчетности за 2016-2020 гг., взятых из открытых источников (www.audit-it.ru). При анализе учитывались средние показатели по всей выборке компаний, а также по отдельным бизнес-моделям.

Результаты и обсуждение. В России в настоящее время функционирует порядка 40 предприятий, занимающихся производством АФС. При производстве АФС используются методы химического синтеза, выделения из химического сырья, биотехнологии, выделения из источников различного природного происхождения (растительного, животного, минерального). Профиль производства является одним из основных критериев для классификации бизнес-моделей.

Наиболее активно развивающимся направлением являются биотехнологии, но основным методом производства АФС в России всё ещё является химический синтез. В связи с этим в целях настоящего исследования были отобраны

предприятия, производящие АФС преимущественно методом химического синтеза. Среди них были определены различные группы компаний по принципу наличия у них стадии производства ГЛФ и связей (через права собственности) с производителями готовых лекарственных препаратов.

Среди рассматриваемых компаний можно выделить три группы, отличающиеся по бизнес-моделям:

- самостоятельные компании, занимающиеся только производством АФС и поставками клиентам, не связанным с ними правами собственности;
- производители, чьей основной деятельностью является производство АФС, но они также производят из собственных субстанций узкую номенклатуру ГЛФ;
- самостоятельные юридические лица, находящиеся в составе фармацевтического холдинга или группы компаний и обслуживающие их производственные нужны.

Из сформированной выборки в каждую из классификационных групп вошли по три компании.

В таблице 1 представлены средние показатели по каждой из бизнес-моделей.

Таблица 1 – Средние показатели по группам бизнес-моделей

Показатель	Самостоятельные компании	Производители АФС и ГЛФ	Компании, связанные с производителями ГЛФ
Количество выпускаемых субстанций	37	120	23
Производственные мощности, т/год	193	520	125
Количество сотрудников, чел.	137	573	166
Срок существования, лет	18	55	14

Рассматриваемые производители АФС, входящие в состав холдингов, существуют в течение относительно непродолжительного времени, что связано с тем, что производители ГЛФ долгое время использовали зарубежные субстанции, и начали инвестировать в производство АФС тогда, когда у них был накоплен достаточный капитал. Дочерние компании производят узкую номенклатуру АФС, имеют наименьшую среди бизнес-моделей производственную мощность, рассчитанную на покрытие собственных производственных нужд. Производители АФС и готовых форм характеризуются максимальными показателями номенклатуры АФС и мощностей производства. Большинство из этих компаний представляют собой наследие советского периода. Самостоятельные компании – производители АФС относятся к числу вновь созданных компаний.

В таблице 2 представлены средние финансовые показатели по всей выборке предприятий и их динамика в 2020 г. по отношению к 2016 г.

Таблица 2 – Усредненные финансовые результаты деятельности производителей АФС (млн рублей)

Баланс							
	2016	2020	+/-%		2016	2020	+/-%
Внеоборотные активы, в т.ч.:	109,2	461,.2	322%	Собственный капитал	151,1	626,6	175%
основные средства	62,5	353,0	465%	Заемные средства, т.ч.:	86,8	383,5	342%
Оборотные активы, в т.ч.:	257,4	752,6	192%	долгосрочные	66,6	369,0	315%
дебиторская задолженность	128,3	307,9	140%	краткосрочные	20,2	14,4	-28%
денежные средства	17,2	89,6	422%				
Актив	366,6	1213,8	231%	*Пассив*	366,6	1213,8	231%
Финансовые результаты				**Расчетные показатели**			
Выручка от продаж (без учета НДС)	57,1	227,3	107%	Чистый финансовый долг/ EBITDA	1,29	1,22	
EBITDA	63,4	262,6	314%	Доля собственного капитала, %	41%	52%	
Рентабельность по EBITDA,%	13,5%	27,1%		Доля заемных средств, %	24%	32%	
Чистая прибыль (ЧП)	48,4	157,0	224%	Доля основных средств, %	17%	29%	
Рентабельность по ЧП, %	10,3%	16,2%		Доля оборотных средств, %	70%	62%	

Анализ финансовой отчетности компаний показал, что выручка от продаж в период с 2016 г. по 2020 г. в среднем увеличилась на 107% (табл. 2). Наибольший вклад в эту динамику принадлежит группе независимых производителей АФС. Прежде всего это АО «Активный компонент», у которого на протяжении нескольких лет наблюдается линейный рост выручки. Высокие показатели динамики в 2020 г. по отношению к предыдущему году показали и другие самостоятельные компании, поскольку потребность в российских субстанциях целого ряда препаратов, прежде всего противовирусных иммуномодуляторов, существенно возросла, и производители ГЛФ разметили значительно более объемные заказы у локальных производителей на выпуск соответствующих субстанций.

Динамика *EBITDA* в рассматриваемый период носила более выраженный характер (+314%), поскольку темпы роста себестоимости по сравнению с выручкой были гораздо ниже. Средний показатель *рентабельности по EBITDA* свидетель-

ствует, в целом, об успешной деятельности рассматриваемых предприятий. За анализируемый период этот показатель вырос с 13,5% до 27,1%. В 2020 г. компании демонстрировали схожий уровень по показателю операционной рентабельности, из общего ряда выбивалась только одна зависимая компания (2,9%).

Рентабельность по *чистой прибыли* у производителей АФС в среднем увеличилась с 10,3% в 2016 г. до 16,2% в 2020 г. Только у нескольких компаний чистая прибыль увеличивалась в течение всего периода (часть демонстрировала также убытки в разные годы). В то же время практически у всех рассматриваемых компаний чистая прибыль резко возросла в 2020 г. Средний показатель чистой прибыли в 2020 г. соответствовал высокому уровню, достаточному для реализации инвестиционных программ.

Стоимость активов практически у всех производителей АФС постепенно росла в период до 2019 г., а в 2020 г. наблюдалось ее кратное увеличение, что было обусловлено расширением объемов производства в период пандемии и увеличением связанного оборотного капитал. В то же время по отношению к 2016 г. темпы роста оборотного капитала в среднем по выборке отставал от динамики внеоборотных активов (+192% против 322%). Если посмотреть в разрезе отдельных компаний, то станет очевидно, что рост стоимости основных средств в течение рассматриваемого периода был обусловлен преимущественно за счет АО «Активный компонент», которое занималось активным инвестированием и вводом в эксплуатацию новых основных производственных фондов.

В конце 2020 г. была запущена первая очередь завода «Активный компонент» в Пушкинском районе Санкт-Петербурга. Инвестиции составили 2,7 млрд рублей. Новое производство позволяет примерно в два раза расширить номенклатуру АФС. Вторую очередь завода планируется запустить в 2024 г.

Увеличение стоимости основных средств было характерно также для компаний, входящих в состав фармацевтических холдингов.

В целом по всей выборке в 2020 г. стоимость оборотных активов превысила стоимость внеоборотных почти в 2,5 раза. Практически отсутствовали накопления *нематериальных активов* (0,03% в структуре активов в 2020 г. против 0,06% в 2016 г.). Полученные в результате проведенных НИОКР интеллектуальные права часто относят на *прочие внеоборотные активы*, доля которых за последние пять лет также была незначительной: 5,6% в 2020 г. и 8,6% в 2016 г.

Доля *оборотных средств* в структуре активов в период с 2016 г. по 2020 г. сократилась с 70% до 62% (табл. 2). Одновременно произошло небольшое увеличение доли *денежных средств* в структуре баланса (с 5% до 7%). *Дебиторская задолженность* составляла относительно стабильную долю в структуре оборотного капитала (40-50%).

Доля *собственного капитала* компаний в течение рассматриваемого периода увеличилась с 41% до 52% (т.е. достигла требований к финансовой устойчивости). В абсолютном выражении рост собственного капитала происходит за счет накопления нераспределенной прибыли.

Заемный капитал представлен краткосрочными и долгосрочными заимствованиями (в основном в виде банковских кредитов). Рост среднего показателя в 4,4 раза обусловлен привлечением средств для реализации инвестиционных проектов. В 2016 г. долгосрочные заимствования в 3,3 раза превышали краткосрочные, в 2020 г. – в 25 раз.

Для расчета долговой нагрузки компаний был произведен расчет чистого долга. Соотнесение среднего показателя *чистого долга* к *EBITDA* демонстрирует низкую долговую нагрузку компаний как в 2016 г., так и в 2020 г. Рассчитанный показатель демонстрирует, что среднестатистическая компания отрасли сможет успешно обслуживать свои долговые обязательства.

Поскольку 2020 г. был не типичным для отрасли, что связано с пандемией COVID-19 и увеличением спроса на ряд препаратов (в первую очередь, противовирусных), подробный сравнительный анализ финансовой устойчивости и платежеспособности был проведен по 2019 г. Сравнивали средние показатели по выделенным бизнес-моделям с общеотраслевыми показателями (ОКВЭД 21.20 «Производство лекарственных препаратов и материалов, применяемых в медицинских целях»). Средние показатели финансовой устойчивости практически по всем бизнес-моделям оказались выше среднеотраслевого значения, при этом если рассматривать отдельных представителей, то есть компании как с показателями хуже средних по отрасли, так и лучше.

Заключение. Проведенное исследование показало, то в составе отрасли по производству АФС синтетического происхождения можно выделить три основные группы компаний (бизнес-модели) – независимые производители АФС, производители АФС, осуществляющие в том числе выпуск ГЛФ из собственных субстанций, а также производители АФС, входящие в состав фармацевтических производственных холдингов. В период с 2016 г. по 2020 г. все выделенные бизнес-модели продемонстрировали быстрое увеличение выручки, прибыли и показателей рентабельности. В 2020 г., который был особенно успешным на фоне пандемии COVID-19, средняя рентабельность по EBITDA составила 27,1%, рентабельность по чистой прибыли – 16,2%. Собственный капитал компании в составе пассивов составляет 52%. Долговая нагрузка соответствует низкому уровню. В среднем по бизнес-моделям финансовая устойчивость выше, чем в целом по отрасли. Инвестиционная деятельность в течение рассматриваемого периода осуществлялась в основном независимым производителем АО «Активный компонент».

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

06.81.00 Экономика и организация предприятия. Управление предприятием
06.81.30 Основной и оборотный капитал предприятия. Капиталовложения. Финансы
06.81.45 Себестоимость. Рентабельность. Прибыль. Ценообразование на предприятии
06.56.21 Рыночная структура. Концентрация. Конкуренция. Предпринимательство

ЛИТЕРАТУРА

1. Денисова Е.В. Производство фармацевтических субстанций в Российской Федерации: кризис на рубеже XX и XXI веков // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. N 2. С. 288-296

2. Дорофеев В.И. Фармацевтическая промышленность России в условиях переходного периода. М.: Медицина, 1995. 144 с.

3. Раднаева С.Э., Мацкевич И.В., Ухакшинова Е.М. Фармацевтическая отрасль в России: анализ и экономические аспекты развития // Вестник Бурятского государственного университета. Экономика и менеджмент. 2020. N 3. С. 31–40.

4. Мажуга А. Как стать независимыми от импорта АФС // GXP News. 2022 [Электронный ресурс]. URL: https://gxpnews.net/2022/02/stat-nezavisimymi-ot-importa-afs/ (дата обращения: 23.02.2022)

SUMMARY

FINANCIAL ANALYSIS FOR THE KEY MANUFACTURERS OF ACTIVE PHARMACEUTICAL SUBSTANCES IN RUSSIA

Khrol D.D., 2nd year undergraduate student, ORCID: 0000-0002-6403-7326, ResearcherID: K-3677-2017
Academic advisor: **Trofimova E.O.**, PhD, DSc, Prof., ORCID: 0000-0002-4940-9953
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University;
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: daria.khrol@spcpu.com

In recent years, domestic active pharmaceutical ingredients (APIs) have been increasingly used in medicines production in Russia. The purpose of the study was to analyze the financial performance of API manufacturers. In the period from 2016 to 2020, the companies' revenue doubled on average, EBITDA margin and net profit margin have grown from 13.5% to 27.1% and from 10.3% to 16.2% respectively. The cost of fixed assets increased by more than 5 times, however, investments to the production development were common for a limited number of companies. The companies are financially stable and, as of 2020, demonstrate good opportunities for servicing loan obligations.

Keywords: *active pharmaceutical ingredients, pharmaceutical production, financial analysis, Russian pharmaceutical market, investment activity.*

REFERENCES

1. Denisova E.V. Production of pharmaceutical substances in the Russian Federation: crisis at the turn of the 20th and 21st centuries // Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv. 2017. N 2. P. 288-296 (in Russian).

2. Dorofeev V.I. Pharmaceutical industry in Russia in the transition period. Moscow.: Medicina, 1995. 144 з. (in Russian).

3. Radnaeva S.E., Matskevich I.V., Ukhakshinova E.M. Pharmaceutical industry in Russia: analysis and economic aspects of development // Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta. Ekonomika i menedzhment.. 2020. N 3. P. 31–40 (in Russian).

4. Mazhuga A. How to become independent from API imports // GXP News. 2022 [Internet]. URL: https://gxpnews.net/2022/02/stat-nezavisimymi-ot-importa-afs/ (Accessed: 23.02.2022). (in Russian).

УДК 615.15

РАЗРАБОТКА ИНФОРМАЦИОННОГО РЕСУРСА ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЕТЕЙЛА

Чуднов А.А., аспирант 3 года обучения
Руководитель: **Умаров С.З.,** докт. фарм. наук, проф.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anatolij.chudnov@pharminnotech.com

Исследование посвящено разработке информационного ресурса для фармацевтического ретейла. В данной работе основной акцент сделан на цели разрабатываемого ресурса, а, именно, – повышение осведомленности пользователей сайтов аптечных организаций в аспекте грамотности осуществления покупок товаров аптечного ассортимента, а также разрабатываемых инструментов оценки законности работы вышеупомянутых сайтов.

Ключевые слова: *интернет-аптека, онлайн-аптека, web-аптека, интернет-сайт, дистанционная торговля лекарственными препаратами, лекарственные препараты.*

Фармация, как один из стремительно развивающихся секторов экономики, требует постоянного вовлечения новых технологий, которые позволили бы оптимизировать существующие бизнес-процессы, а также ускорить решение поставленных задач.

В данном вопросе немаловажную роль играют информационные технологии. Они уже вовлечены в процессы движения товара от производителя до аптечной организации. Без них не обходится обучение фармацевтических работников, поддержка научных исследований, а также развитие новых проектов, к которым относятся система электронных рецептов, маркировка лекарственных препаратов и дистанционная реализация товаров аптечного ассортимента [1,2].

В данной работе мы хотели бы остановиться на такой составляющей информационных технологий, как интернет-технологии, и коммуникативной функции, которую они выполняют в сфере фармации.

На наш взгляд, данный вопрос является достаточно актуальным вследствие активного становления дистанционной торговли лекарственными препаратами, что опосредовано созданием интернет-сайтов аптечных организаций, а также разработкой веб-сервисов, направленных на различные аспекты движения лекарственных средств (сайты государственных органов власти, форумы для общения фармацевтических работников и др.).

Одновременно с ростом числа сайтов аптечных организаций, предоставляющих услуги по дистанционной покупке лекарственных препаратов, должна быть увеличена активность независимых информационных ресурсов, направленных на увеличение уровня знаний интернет-пользователей как в части государственных инструментов по регулированию деятельности интернет-аптек, так общего представления об их функционировании.

На основании вышеизложенного, целью данной работы является разработка информационного ресурса, в задачи которого будут включены независимая оценка деятельности существующих в России сайтов аптечных организаций, а также разработка теоретических материалов, направленных на увеличение осведомленности интернет-пользователей в аспекте деятельность интернет-аптек.

Обращаясь к опыту организации деятельности интернет-аптек за границей, а, именно, в США и Европейском Союзе, можно сделать вывод, что государственными органами власти активно разрабатываются инструменты оценки их деятельности [3]. Они включают как государственный контроль (реестр законно работающих интернет-аптек), так и самостоятельной контроль со стороны интернет-пользователей (специализированные домены, логотипы и др.), что связано со стремительно растущим числом интернет-аптек, отследить деятельность которых не всегда представляется возможным.

Однако, как показывают исследования [4], процесса разработки для эффективного функционирования данной системы еще недостаточно, что связано с малой осведомленностью относительно данных инструментов как со стороны обычных пользователей, так и фармацевтических работников.

Данное обстоятельство делает необходимым проведение соответствующих просветительских мероприятий, направленных на повышение уровня знаний относительно инструментов оценки деятельности интернет-аптек всех задействованных лиц.

Одним из инструментов, который может быть включен в данные мероприятия, является разработка специализированных информационных ресурсов, выполняющих функции по предоставлению информации по различным аспектам функционирования интернет-аптек.

В связи с этим нами была поставлена цель по разработке независимого информационного ресурса, выполняющего несколько функций:

- оценка деятельности сайтов аптечных организаций России и предоставление результатов проведенного анализа на данном веб-сайте в доступной и понятной для пользователей форме;
- предоставление теоретических материалов о пользовании сайтами аптечных организаций на данном ресурсе;
- предоставление актуализированной нормативной информации в части регулирования деятельности интернет-аптек;

Функционирование данного проекта основано на нескольких принципах:

- основа проводимого анализа – государственная политика в области регулирования деятельности дистанционной торговли товарами аптечного ассортимента;
- открытость методики проведения анализа и его результатов;
- доступность предоставляемой информации.

Для достижения высокого уровня эффективности при разработке информационного ресурса весь процесс от постановки цели проекта до его практической реализации был разделен на четыре этапа.

В данной работе мы остановимся на функциональной составляющей данного проекта, которая затрагивает первый и второй этап. На первом этапе была определена цель проекта: разработка информационного ресурса, направленного на повешение уровня знаний интернет-пользователей относительно деятельности интернет-аптек России. В задачи, которые необходимо решить для выполнения его функций входит:

- разработка критериев оценки деятельности сайтов аптечных организаций;
- проведение анализа и предоставление его результатов;
- разработка теоретических материалов для пользователей интернет-аптек;

На втором этапе проводилась практическая реализация данного проекта. Она включает разработку структуры информационного ресурса, его дизайн и стилистическое оформление. Далее на основании разработанного проекта был проведена верстка сайта (разработка HTML-, CSS- и JavaScript-кода) и наполнение текстовой и графической информацией. Также на данном этапе проводилась работа по выбору хостинг-провайдера, который представил услуги по размещению разработанного проекта в сети Интернет.

На основании установленных функций были выделены следующие разделы, которые будет включать информационный ресурс: «О проекте», «Актуализированная информация о деятельности интернет-аптек», «Обзор интернет-аптек», «Обучающие материалы» и «Нормативная документация».

В разделе «Обучающие материалы» были размещены теоретические материалы, представленные в текстовом и видео-форматах, посвященных самостоятельной оценке пользователями деятельности интернет-аптек с помощью сайта Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения, обязательной информации, которая должна содержаться на сайтах аптечных организаций, а также роли инструкции по медицинскому применению и необходимости ознакомления с ней.

Раздел «Обзор интернет-аптек» включает результаты проведенного анализа сайтов аптечных организаций по ряду критериев, разработанных на основании нормативной документации России, США и Европейского Союза.

На данный момент было разработано четыре критерия:

1) Требование рецепта: включают ли рецептурные лекарственные препараты, предложенные в анализируемой интернет-аптеке, требование о том, что они отпускаются по рецепту? Исключена ли возможность приобретения рецептурных лекарственных препаратов без рецепта?

2) Контактные данные: представлены ли на сайте интернет-аптеки контактные данные стационарных аптечных организаций (адрес и указание на карте), также контактного номера телефона и электронной почты?

3) Лицензия: представлена ли на сайте интернет-аптеки лицензия на осуществление фармацевтической деятельности и разрешение на осуществление дистанционной торговли лекарственными препаратами? И их проверка на сайте Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения (https://roszdravnadzor.gov.ru/) в разделах «Единый реестр лицензий» и «Реестр выданных разрешений на осуществление розничной торговли лекарственными препаратами для медицинского применения дистанционным способом», а также адреса аптечной организации и контактных данных ответственных лиц

4) Инструкция по применению: представлена ли на сайте инструкция по медицинскому применению лекарственного применения? Выделены ли противопоказания, побочные эффекты и условия хранения?

При этом достаточно важной задачей является организовать такую структуру веб-сайта, навигация по которой была бы максимально удобной для пользователей и адаптируемой под различные виды мобильных устройств. Разработанная структура проекта представлена на рисунке 1.

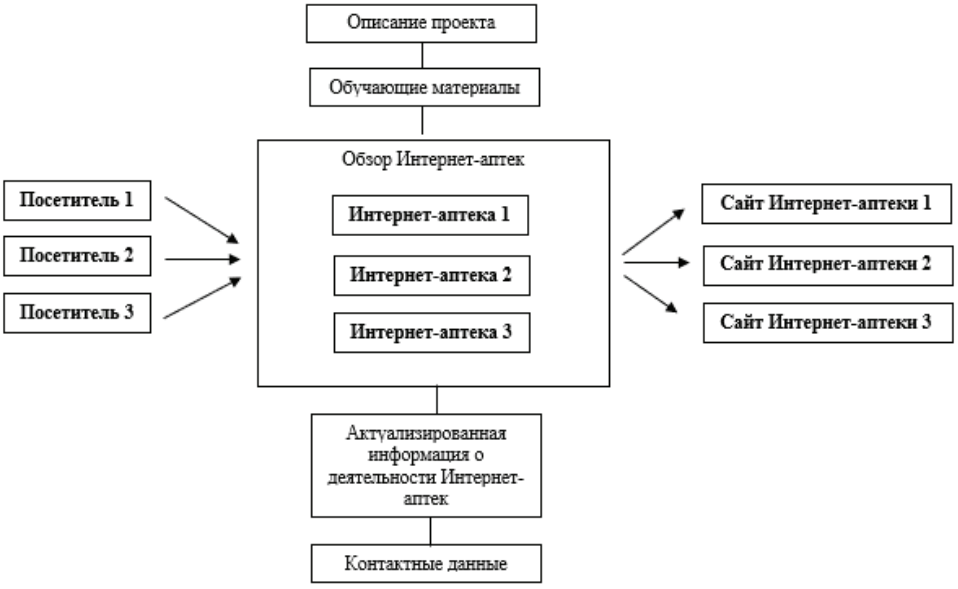


Рисунок 1. Схема навигации информационного ресурса

Данная схема веб-сайта предполагает, что пользователь, посещая данный информационный ресурс может ознакомиться с информацией, представленной в разделах, описанных выше. На основании этого было сделано предположение, что у пользователей будет повышаться осведомленность о регулировании деятельности интернет-аптек в России. Далее на основе результатов, размещенных в разделе «Обзор интернет-аптек», посетителю предоставится возможность перейти на веб-сайт соответствующего сайта аптечной организации по ссылке.

Общая схема информационного ресурса, а также входящих в нее веб-страниц приведена на рисунке 2.

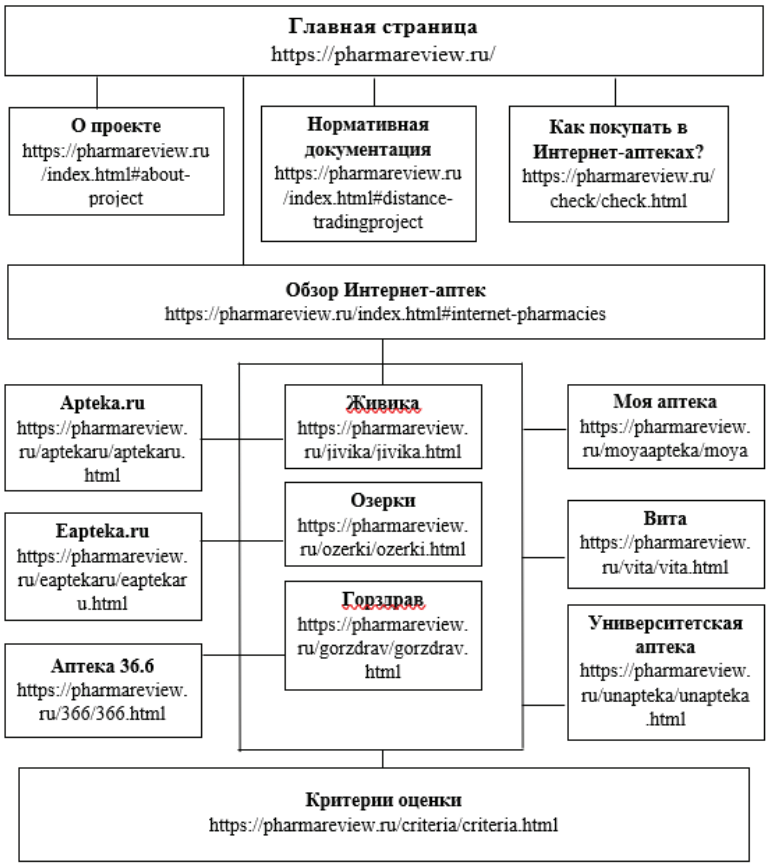


Рисунок 2. Структура информационного ресурса

Внедрение новых технологий, в том числе и в профессиональные области, по своим мотивам, имеет сугубо гуманистические мотивы. Особенно ускоряют данный процесс все вновь возникающие вызовы, к которым за последнее время относится новая короновирусная инфекция. Появились новые задачи, к которым относится обеспечение населения лекарственными препаратами в условиях ограниченной мобильности. И, несомненно, в данных условиях дистанционная торговля лекарственными препаратами является одним из решений.

Однако, как фармацевтическим работниками, так и рядовым гражданам не стоит забывать о корыстном интересе, который сопровождает новые технологии, а, особенно, - услуги, оказываемые на основе новых технологий. И дистанционная торговля лекарственными препаратами не является исключением. Помимо интернет-аптек, реализующих свои услуги исключительно законным путем, появляются новые «интернет-аптеки», предоставляющие возможность приобретения лекарственных препаратов без необходимых на то документов, к которым относится рецепт.

В соответствии с этим, очень важна как государственная политика, направленная на ограничение деятельности незаконно работающих интернет-аптек, так и деятельность независимых организаций, деятельность которых включала бы обучение пользователей и анализ интернет-аптек.

На основании вышеизложенного, нами был разработан информационный ресурс, основной целью которого является повышение осведомленности пользователей относительно деятельности сайтов аптечных организаций России и их общем функционировании.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.01.29 Информационная деятельность

ЛИТЕРАТУРА

1. Основные направления развития интернет-технологий в здравоохранении (систематический обзор) / Лебедев Г.С. [и др.] // Социальные аспекты здоровья населения. 2017. Т. 57. N 5. С. 10.

2. Лобова Е.Д., Смолина В.А. Использование интернет-технологий при оказании фармацевтической помощи // Саратовский научно-медицинский журнал. 2014. Т. 10. N 2. С. 322-326.

3. Online Pharmacy Guide for Acquirers // Visa Inc. 2016 [Internet] URL.: https://bd.visa.com/content/dam/VCOM/global/support-legal/documents/online-pharmacy-guide-for-acquirers-vbs-18-apr-2016.pdf

4. Evaluation of pharmacists' awareness of illegal online pharmacies and perceived impact on safe access to medicines / J.B. Hertig [et al.] // Medicine Access Point of Care. 2021. Vol. 5. https://doi.org/10.1177/23992026211005642

SUMMARY

DEVELOPMENT OF INFORMATION RESOURCE FOR PHARMACEUTICAL RETAIL

Chudnov A.A., 3rd year postgraduate student
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: anatolij.chudnov@pharminnotech.com

The study is devoted to the development of an information resource for pharmaceutical retail. In this work, the main focus is on the purpose of the resource being developed, namely, raising the awareness of users of the online-pharmacy in terms of the literacy of making purchases of pharmacy goods, as well as the tools being developed to assess the legality of the above-mentioned sites.

Keywords: *internet pharmacy, online pharmacy, web-pharmacy, website, distance selling of drugs, drugs.*

REFERENCES

1. Osnovnye napravlenija razvitija internet tehnologij v zdravoohranenii (sistematicheskij obzor) / G.S. Lebedev [et al.] // Social'nye aspekty zdorov'ja naselenija. 2017. Vol. 57(5). P. 10. (in Russian)
2. Lobova E.D., Smolina V.A. Ispol'zovanie internet-tehnologij pri okazanii farmacevticheskoj pomoshhi // Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2014. Vol. 10(2). P. 322-326. (in Russian)
3. Online Pharmacy Guide for Acquirers // Visa Inc. 2016 [Internet] URL.: https://bd.visa.com/content/dam/VCOM/global/support-legal/documents/online-pharmacy-guide-for-acquirers-vbs-18-apr-2016.pdf
4. Evaluation of pharmacists' awareness of illegal online pharmacies and perceived impact on safe access to medicines / J.B. Hertig [et al.] // Medicine Access Point of Care. 2021. Vol. 5. https://doi.org/10.1177/23992026211005642

УДК 614.273

ОЦЕНКА ЭКОНОМИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Широбоков Я.Е., аспирант 3-го года обучения
Научные руководители: **Гладунова Е.П.,** д.фарм.н., профессор кафедры управления и экономики фармации
Бородулина Е.А., д.мед.н, заведующий кафедрой фтизиатрии и пульмонологии
Самарский государственный медицинский университет
443099, Российская Федерация, г. Самара, ул. Чапаевская, 89
E-mail: yshirobokov@gmail.com

В ходе исследования проведен ретроспективный анализ тактики лечения 218 пациентов, госпитализированных в ковид-госпиталя г. Самары в 2021 г. и проходивших лечение в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРиИТ). За исследуемый период 52,48% пациентов получили терапию ингибиторами рецепторов интерлейкина-6 (ИЛ-6). Проведение терапии ингибиторами рецепторов ИЛ-6 снизило стоимость лечения пациентов на 12% за счет снижения времени пребывания в ОРиИТ и необходимости проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и неинвазивной вентиляции легких (НИВЛ), а также сокращения использования других групп лекарственных препаратов (ЛП).

Ключевые слова: *коронавирусная инфекция, лекарственный препарат, биологическая терапия, фармакоэкономический анализ, лекарственное обеспечение*

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) в апреле 2020 года заявила о новой пандемии – COVID-19 [1]. Для лечения коронавирусной инфекции Минздравом России были выпущены временные рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», которые по мере накопления новых клинических данных и обобщения тактики лечения, а также с учетом мирового опыта, неоднократно пересматривались [2]. При этом ряд ковид-госпиталей используют собственный опыт тактики ведения пациентов с COVID-19 [1]. Учитывая патогенез и изменение лабораторных показателей при цитокиновом шторме, вызванном COVID-19, препараты, воздействующие на систему ИЛ-6, многими авторами указываются как основные для лечения данного состояния. На сегодняшний день доступны препараты с разными мишенями воздействия: ингибиторы ИЛ-6 (олокизумаб]) и ингибиторы рецепторов ИЛ-6 (тоцилизумаб, сарилумаб, левилимаб) [3]. В настоящее время актуальной проблемой является оценка клинико-экономической эффективности использования биологической терапии, а именно применение ингибиторов рецепторов ИЛ-6 у пациентов с коронавирусной инфекцией. Целью исследования явилась оценка экономической эффективности применения ИЛ-6 у пациентов с коронавирусной инфекцией.

Для реализации поставленной цели необходимо было решение следующих задач:

1. Изучить амбулаторные карты, листы назначения и истории болезней пациентов с диагнозом COVID-19, находившихся на лечении в ОРиИТ

2. Составить 2 группы пациентов, одна из которых получала стандартную терапию с применением ингибиторов рецепторов ИЛ-6, а другая без применения ингибиторов рецепторов ИЛ-6.

3. Провести сравнительную оценку пациентов двух групп по демографическим, амнестическим, клиническим и лабораторным показателям.

4. Определить показатели к назначению ингибиторов рецепторов ИЛ-6

5. Провести оценку эффективности применения ингибиторов рецепторов ИЛ-6 с помощью инкрементального показателя «затраты-эффективность»

Материалы и методы. В ходе исследования проведен ретроспективный анализ лечения 218 пациентов с коронавирусной инфекцией, которые проходили лечение в ОРиИТ ковид-госпиталей г. Самары в 2021 г. Изучены возрастные, анамнестические, лабораторные показатели с использованием стандартизированных баз данных пациентов с COVID-19 (Свидетельства государственной регистрации № 2020622119 и №2021621990).

Пациенты были разделены на 2 группы: первая группа пациентов получала стандартную терапию без применения ингибиторов рецепторов ИЛ-6, пациентам второй группы к стандартной терапии дополнительно назначали ингибиторы рецепторов ИЛ-6.

Оценка эффективности применения ингибиторов рецепторов ИЛ-6 осуществлялась по следующей формуле:

$$ICER = \frac{C2-C1}{E2-E1}$$

где ICER – инкрементальные затраты, C2 – затраты на терапию с использованием ингибиторов рецептора ИЛ-6, C1 – затраты на терапию без использования ингибиторов рецептора ИЛ-6, E2 – эффективность применения ингибиторов рецептора ИЛ-6, E1 – эффективность терапии

За эффективность принимали число дней нахождения в ОРиИТ и длительность нахождения на ИВЛ и НИВЛ.

Показаниями к назначению ингибиторов рецепторов ИЛ-6 являлись:

• вовлечение паренхимы легкого ≥ 50%

• число лейкоцитов < $3{,}0\times10^9$/л;

• уровень С-реактивный белок (СРБ) > 75 мг/лили рост уровня СРБ в 3 раза на 3-5 дни заболевания;

• SpO_2 ≤ 93%, одышка в покое/прогрессирующая одышка в течение первых 2-3 дней.

В процессе исследования были использованы следующие методы анализа: ретроспективный, логический, экономическо-математический, аналитический методы. Статическая обработка полученных результатов проводилась с использованием прикладного программного пакета Statistica 10.0.

В основу методологии исследования положены принципы доступности и качества медицинской помощи, а также основные принципы организации оказания медицинской помощи в соответствии с Федеральным законом от 21.11.2011 N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

Результаты и обсуждение.

Проведенный анализ позволил провести оценку демографических данных на предмет наличия статистически значимых отличий.

Согласно полученным данным между двумя группа госпитализированных пациентов не было статистически значимых различий по показателю «пол» (χ^2=0,00 p=0,9495). Доля женщин в первой группе составила 47,47%, а во второй 47%, доля мужчин составила 52,53 и 53% соответственно.

Возраст пациентов в выборке колебался от 21 до 90 лет. Средний возраст госпитализированных пациентов составил 56,93± 14,85 ДИ [56,04–59,26]. Средний возраст пациентов двух групп также существенно не различался. Средний возраст пациентов первой группы составил 59,61±1,38 лет и 57,60±1,24 лет во второй группе. Критерий Манна–Уитни составил U=4,251 при p=0,495, что подтверждает отсутствие статистических различий по показателю «возраст пациента».

У пациентов двух групп, основными симптомами при поступлении были сухой кашель (63,01% и 57% соответственно, χ^2=0,49 p=0,4817), кашель с трудноотделяемой мокротой (35% и 38,07%, χ^2=3,31, p=0,0689), одышка (87,06% и 86%, χ^2=0,00 p=0,9850), сдавленность в грудной клетке (17% и 19,27%,χ^2=0,08 p=0,7829), потеря обоняния и вкуса (6% и 3.07%, χ^2=0,98 p=0,3223).

Большинство включенных пациентов первой и второй групп имели хотя бы одно сопутствующее заболевание: 28,29% пациентов первой группы и 31,32% пациентов второй группы имели артериальную гипертензию (χ^2=0,18 p=0,6748), 7,07% и 8,08% пациентов – ишемическую болезнь сердца (χ^2=0,00 p=0,9839), 20,21% и 18,19% –сахарный диабет II типа (χ^2=0,16 p=0,6927); 9,09% и 4,04% пациентов имели ожирение (χ^2=1,36 p=0,2436); 22,23% и 23,24% – пациентов имели в анамнезе хронические заболевания почек (χ^2=0,02 p=0,8947).

Результаты компьютерной томографии (КТ) показали, что у 38,99% поступивших пациентов регистрировали легкая форма пневмонии с участками «матового стекла» (КТ-1 – выраженность патологических изменений менее 25%), у 20,64% пациентов умеренная пневмония (КТ-2 – поражено 25-50% легких), у 8,26% пациентов среднетяжелая пневмония (КТ-3 – поражено 50-75% легких), у 0,46% пациентов тяжелая форма пневмонии (КТ-4 – поражено >75% легких).

Прогрессирование поражения более 50% происходило в течение 24-48 часов после госпитализации.

Сравнительный анализ пациентов со степенью поражения легких более 50% показал, что среди пациентов первой группы при переводе в ОРиИТ у 79,65% регистрировали степень поражения легких КТ-3, а у 10,55% КТ-4. На момент

назначения ингибиторов рецепторов ИЛ-6 пациентам второй группы у 54,78% была зарегистрирована степень поражения легких КТ-3,а у 45,22% – КТ-4.

При поступлении в ОРиИТ у пациентов регистрировали лейкопению, повышение уровня СРБ и падение сатурации. Так средний уровень числа лейкоцитов составил 2,69±0,31 в первой группе и 2,44±0,36 во второй группе (U=5,231 p=0,384), средний уровень СРБ составил 83,39 и 79,19 мг/л соответственно (U=3,892 p=0,513), а средний уровень сатурации 86 и 89% соответственно

Среди пациентов первой группы 12% были на ИВЛ, 40% находились на неинвазивной ИВЛ (НИВЛ). Во второй группе 18% находились на ИВЛ, 32% на НИВЛ.

Результаты анализа ЛП, используемых для лечения COVID-19 и внебольничной пневмонии в условиях ОРиИТ показали, что всего используется 70 групп ЛП по анатомо-терапевтическо-химической классификации. Однако, наиболее часто используются только 6 групп ЛП (антибактериальные препараты (J01), антикоагулянты (B01), муколитические и отхаркивающие препараты (R05), противовирусные препараты (J05), глюкокортикостероиды (H02)).

ЛП, входящие в группу иммунодепрессанты (L04) были использованы только для лечения пациентов второй группы.

Средняя стоимость терапии ингибиторами рецепторов ИЛ-6 составила 68545±2113 руб, средняя стоимость ИВЛ за сутки составила 59705,47 руб, НИВЛ – 41,793,83 руб.

Как показало исследование использование ингибиторов рецепторов ИЛ-6, привело к сокращению длительности нахождения в ОРиИТ на 2,59±1,24 дня, использования ИВЛ на 1,71±1,36 дней, НИВЛ на 1,25±1,11 дней. Длительность нахождения в ОРиИТ у пациентов в первой группе составила в среднем 10,02±2,61 дней, а длительность ИВЛ 3,21±1,62 дней, НИВЛ – 4,21±1,35 дней. Во второй группе длительность пребывания в ОРиИТ составила 7,43±2,45 дней, длительность ИВЛ составила 1,5±1,89 дней, НИВЛ – 2,96±2,45 дней.

За счет этого снизилась стоимость применения антибактериальных препаратов, антикоагулянтов, муколитиков и отхаркивающих препаратов, глюкокортикостероидов.

Так стоимость антибактериальной терапия составила 9 454,8 руб в первой группе и 7 563,84 руб во второй группе, стоимость антикоагулянтной терапии составила 4675,3в первой группе и 3740,6руб во второй группе, стоимость отхаркивающей терапии составила 2509,71 в первой группе и 2007,77 во второй группе. Затраты на глюкокортикостероиды составили 2221 и 1236 руб.

Как показало исследование использование ингибиторов ИЛ-6 привело к существенному снижению инкрементальных затрат при лечении пациентов с COVID-19 ОРиИТ на 4 900,69 руб/сут на 1 пациента, несмотря на их высокую цену. Средняя стоимость лечения была ниже на 12%.

Заключение.

По результатам проведенного исследования были сделаны следующие выводы:

1. Пациенты двух групп были схожи по демографическим, амнестическим, клиническим и лабораторным показателям. Статистически значимых различий между двумя группами не обнаружено.

2. Применение ИЛ-6 снижало стоимость лечения пациентов с поражением легких > 50% за счет сокращения сроков пребывания в ОРиИТ и длительность пребывания на ИВЛ и НИВЛ, а также сокращения использования других групп ЛП.

На основе полученных данных можно зафиксировать главный и важный результат: препараты, воздействующие на систему ИЛ-6, являются затратно-эффективной опцией терапии у тяжелой когорты пациентов с COVID-19, в т.ч. с признаками развития цитокинового шторма.

Результаты проведенных исследований могут быть положены в основу формирования оптимального ассортимента ЛП с целью прогнозирования потребности в ЛП на основе научно обоснованных фармакоэкономических подходов.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Экономические аспекты лечения COVID-19 в условиях стационара / Е.А. Жидкова [и др.] // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2021. Т. 10. N 3. С. 41–48. https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-3-41-48

2. Динамика изменений перечня лекарственных препаратов для лечения COVID-19 во временных методических рекомендациях / Я.Е. Широбоков [и др.] // Врач. 2021. Т. 32. N 11. С. 29–35. https://doi.org/10.29296/25877305-2021-11-06

3. Фролов М.Ю., Саласюк А.С., Рогов В.А. Оценка экономического эффекта применения биологической терапии у пациентов с тяжелым течением Covid-19 и развитием цитокинового шторма // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2020. Т. 13. N 4. С. 377-387. https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2020.076

SUMMARY

EVALUATION OF THE ECONOMIC IMPACT OF BIOLOGICAL THERAPY IN PATIENTS WITH COVID-19

Shirobokov Ya.E., a third-year graduate student
Gladonova E.P., d. Farm, Assistant Professor, Professor of Management and Pharmacy Economics
Borodulina E.A., d.Meden, professor, head of the Department of Phthisiaria and Pulmonology
Samara State Medical University
443099, Russian Federation, Samara, Chapayevskaya St. 89
E-mail: yshirobokov@gmail.com

The study carried out a retrospective analysis of the treatment of 218 patients hospitalized in the Samara COVID-hospital in 2021 and treated in the Intensive Care Unit. In the study period, 52.48% of patients received interleukin-6 inhibitors therapy. Treatment with interleukin-6 inhibitors reduced the cost of patient treatment by 12 per cent by reducing the time spent in intensive care unit and the need for artificial lung ventilation and non-invasive ventilation as well as reducing the use of other drug groups.

Keywords: *coronavirus infection, drug, biological therapy, pharmacoeconomic analysis, drug supply.*

REFERENCES

1. Ekonomicheskie aspekty lechenija COVID-19 v uslovijah stacionara / E.A. Zhidkova [et al.] // Infekcionnye bolezni: novosti, mnenija, obuchenie. 2021. Vol.10(3). P. 41–48. https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-3-41-48 (in Russian)
2. Dinamika izmenenij perechnja lekarstvennyh preparatov dlja lechenija COVID-19 vo vremennyh metodicheskih rekomendacijah / Ja.E. Shirobokov [et al.] // Vrach. 2021. Vol.32(11). P. 29–35.https://doi.org/10.29296/25877305-2021-11-06 (in Russian)
3. Frolov M.Yu., Salasyuk A.S., Rogov V.A. Ocenka ekonomicheskogo effekta primeneniya biologicheskoj terapii u pacientov s tyazhelym techeniem Covid-19 i razvitiem citokinovogo shtorma // Farmakoekonomika. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya. 2020. Vol. 13(4). P. 377-387. https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2020.076 (in Russian)

УДК 61:615.1

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОНСОЛИДИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ (НА ПРИМЕРЕ СТАЦИОНАРОВ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ)

Шуваева А.С., соискатель (ORCID: 0000-0001-6586-7148, ResearcherID: F-1181-2019)
Научный руководитель: **Немятых О.Д.**, доктор фарм. наук, профессор кафедры управления и экономики фармации (ORCID: 0000-0001-5933-2120, ResearcherID: AAN-4303-2020)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, Российская Федерация
E-mail: annaxo@mail.ru

В работе представлены результаты сравнительной оценки централизованных и децентрализованных закупок лекарственных препаратов (ЛП) на примере районных больниц (РБ) Красноярского края (КК). Результаты исследования свидетельствуют об увеличении экономической и физической доступности консолидированных закупок. Установлено, что экономия предельного бюджета РБ КК посредствам совместных торгов за период 2015-2020 гг достигает 16% в условиях повышения величин линейного индекса дистрибуции индикаторных ассортиментных позиций.

Ключевые слова: *лекарственное обеспечение, консолидированные закупки, оптимизация затрат.*

Лекарственное обеспечение населения и медицинских организаций (МО) РФ остается одной из самых острых социальных проблем в системе государственных интересов, влияющих на состояние здоровья нации, возможность активного участия населения в трудовой деятельности, увеличение продолжительности их жизни.

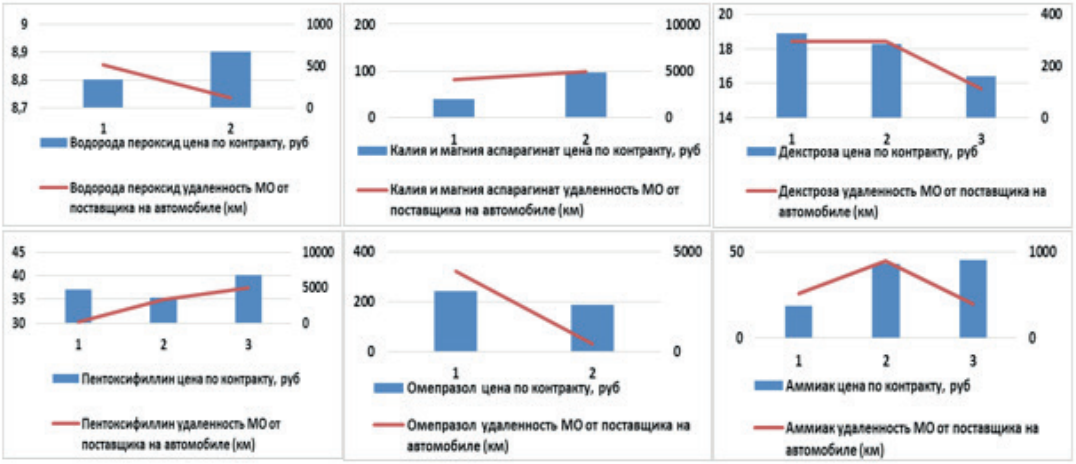
В условиях ограниченности бюджетного финансирования КК и средств обязательного медицинского страхования актуальна проблема лекарственного обеспечения (ЛО) не только населения, имеющего право на льготы при амбулаторном лечении, но и обеспечения больных в стационарах, в т.ч расположенных в отдаленных населенных пунктах.

Сложившаяся обстановка определяет необходимость разработки эффективных моделей управления ЛО в системе здравоохранения с учетом новых экономических условий. Одним из механизмов, направленных на оптимизацию ЛО МО, является проведение совместных (централизованных) торгов.

Целью работы было провести оценку эффективности консолидированных закупок лекарственных препаратов на примере районных стационаров КК.

Задача данной работы заключалась в оценке физической и экономической доступности до и после консолидации закупок стационарных отделений районных больниц Красноярского края.

Сравнительный анализ децентрализованных закупок ЛП МО показал, что при увеличении территориальной удаленности от поставщика возрастает цена контракта (рис. 1).



1, 2, 3 – районные больницы

Рисунок 1. Оценка изменения цены на ЛП при увеличении территориальной удаленности от поставщика (децентрализованные закупки)

Анализ физической доступности проводился на основе методологии ВОЗ/HAI [1]. Рассчитывался линейный индекс дистрибуции (LDI), определяемый как процентное соотношение количества РБ, в которых ЛП присутствует, к общему числу РБ по данным ассортимента закупок до проведения централизации и после [2]. В качестве индикаторных позиций выбирались ЛП из глобального списка (27 ТН) ВОЗ и высокозатратные ЛП, отобранные на этапе проведения ABC-анализа (14 ТН).

Установлено, что параметрами максимальной физической доступности (LDI>80%) характеризуется позиция кеторолака как до централизации (80%), так и после консолидации процесса (100%). Кроме того, в условиях, централизованных закупок ЛП максимальная физическая доступность отмечается у следующих МНН/группировочных наименований: амиодарон, верапамил, гепарин натрия, декстроза, инозин+никотинамид+рибофлавин+янтарная кислота, лидокаин, мифепрестон, натрия хлорид, омепразол, ципрофлоксацин (таблица).

Таблица – Результаты динамики LDI в условиях проведения консолидированных закупок

№ п/п	Наименование ЛП	Централизованные закупки ЛП РБ		Закупки ЛП РБ до централизации	
		LDI	Ранг	LDI	Ранг
1	Алтеплаза лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 50 мг	27,5	35	25	34
2	Амиодарон раствор д/в/в введения 50мг/мл 3мл N5	85	7	67	11
3	Амитриптилин таблетки 25мг N50	45	27	30	31
4	Амоксициллин таблетки 250мг N20	55	20	60	16
5	Амоксициллин таблетки 500мг N20	75	14	45	22
6	Ацетилсалициловая к-та таблетки 100мг N30	40	31	35	29
7	Ацетилсалициловая к-та таблетки 500мг N10	67,5	16	55	17
8	Верапамил раствор для в/в введения 2,5мг/мл 2мл N5	92,5	3	78	2
9	Гепарин натрия раствор 5000 МЕ/мл 5мл N5	82,5	9	76	4
10	Декстроза раствор д/инф.5% 200мл	87,5	5	69	9
11	Диазепам раствор для инъекций 5мг/мл 2мл N10	65	18	63	14
12	Диазепам таб.5мг N20	2,5	40	0,4	40
13	Диклофенак раствор для в/м введения 25мг/мл 3мл N5	52,5	22	52	18
14	Диклофенак раствор для инъекций 25 мг/мл 3 мл N 10	45	28	45	23
15	Инозин+Никотинамид+Рибофлавин+Янтарная кислота раствор в/в 10мл N10	82,5	10	74	7
16	Каптоприл таблетки 25мг N40	55	21	50	19
17	Каптоприл таблетки 50мг N20	32,5	33	29	33
18	Кеторолак раствор 0,03/мл N10	100	1	80	1

№ п/п	Наименование ЛП	Централизованные закупки ЛП РБ		Закупки ЛП РБ до централизации	
		LDI	Ранг	LDI	Ранг
19	Лидокаин спрей д/местн.прим.10% 38,0	85	8	74	6
20	Меропенем порошок д/пригот. раствора д/в/в введения 1,0 N10	47,5	25	40	26
21	Мифепристон таблетки 200мг N3	80	12	65	13
22	Натрия хлорид раствор д/инф.0,9% 200мл	87,5	6	73	8
23	Октреотид раствор д/в/в,п/к введения 0,1мг/мл 1мл N5	45	29	32	30
24	Омепразол капсулы 20мг N30	97,5	2	76	3
25	Омепразол лиоф.д/приг.раствора в/в введ.40мг	82,5	11	46	21
26	Парацетамол раствор д/инф.0,01/мл 100мл N12	52,5	23	42	25
27	Парацетамол супп.рект. 50мг N10	35	32	20	37
28	Парацетамол сусп. д/внутр.прим.120мг/5мл 100мл	52,5	24	39	27
29	Парацетамол таблетки 200мг N10	12,5	39	25	35
30	Парацетамол таблетки 500мг N20	77,5	13	69	10
31	Проурокиназа лиоф.д/ин. 2млнМЕ 50мл	67,5	17	61	15
32	Сальбутамол аэр. д/инг.дозир.100мкг/доза 200 доз	47,5	26	50	20
33	Сальбутамол раствор д/инг. 1мг/1мл 2,5мл N20	17,5	37	14,3	38
34	Симвастатин таблетки 10мг N84	15	38	14	39
35	Симвастатин таблетки 20мг N84	30	34	29,2	32
36	Цефтриаксон пор.д/ин. в/м, в/в 1,0 N50	72,5	15	65,9	12
37	Цефтриаксон пор.д/приг.раствора для инъекций 1,0	27,5	36	21	36
38	Ципрофлоксацин раствор д/инф.0,002/мл 100мл	90	4	74	5
39	Ципрофлоксацин таблетки 500мг N10	57,5	19	37	28
40	Эноксапарин натрия раствор д/п/к 10 тыс.анти-Ха МЕ/мл 0,4мл N10	45	30	43	24

Важно подчеркнуть, что минимальная физическая доступность отмечена у таблетированной формы диазепама. При этом в условиях централизованных закупок величина LDI увеличивается практически в 6 раз.

Оценка результатов состоявшихся торгов на фоне консолидации бизнес-процесса демонстрирует экономию финансовых ресурсов системы здравоохранения МО Красноярского края на 9-16,5 % (рис. 2).

Рисунок 2. Динамика экономии предельного бюджета РБ за 6 лет

Стоит подчеркнуть, что за период 2015-2020 гг в стоимостном выражении доля консолидированных закупок увеличилась на 14,0 % (с 79,3% до 93,3%). При этом доля децентрализованных закупок уменьшилась на 12,0% (с 15,4% до 3,3%) (рис. 3). Высокая доля консолидированных закупок ЛП (93% бюджета РБ), превышающая рекомендованный показатель в 75%, что свидетельствует о высокой эффективности данного подхода к организации лекарственного обеспечения РБ Красноярского края.

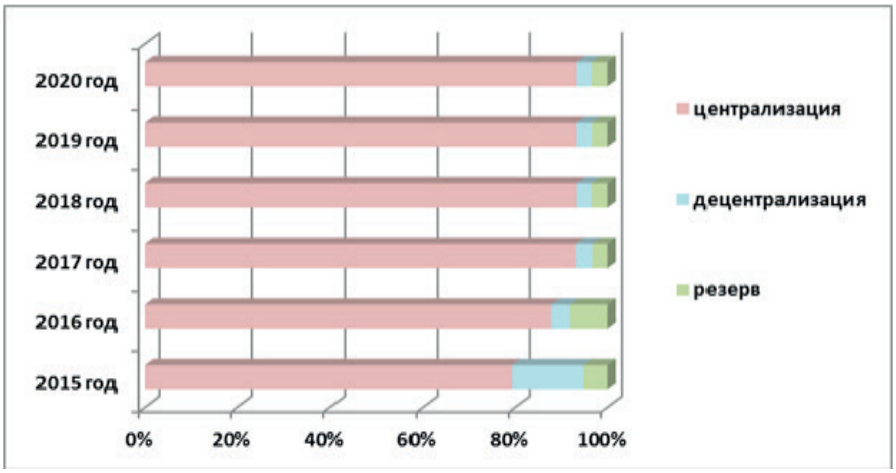


Рисунок 3. Структуризация затрат бюджета РБ КК на закупки ЛП (%)

Таким образом, обобщая полученные данные, есть основания заключить, что консолидация закупок, направленная на преобразования системы лекарственного обеспечения стационарных больных Красноярского края, реализуется увеличением доступности лекарственного обеспечения для пациентов и обеспечивает экономию финансовых ресурсов системы здравоохранения.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.00.00 Медицина и здравоохранение

76.75.75 Экономика, организация, управление, планирование и прогнозирование здравоохранения

ЛИТЕРАТУРА

1. Availability, pricing and affordability of essential medicines in Eastern Ethiopia: a comprehensive analysis using WHO/HAI methodology / M. Sisay [et al.] // Journal of Pharmaceutical Policy and Practice. 2021. Vol. 14(1). P. 57. doi: 10.1186/s40545-021-00339-2.

2. Общественный портал госзакупок [Электронный ресурс] URL.: http://www.zakupki.gov.ru (дата обращения: 06.03.2021)

SUMMARY

EVALUATION OF THE EFFICACY OF CONSOLIDATED MEDICINES (BY THE EXAMPLE OF HOSPITALS OF THE KRASNOYARSK REGION)

Shuvaeva A.S., applicant (ORCID: 0000-0001-6586-7148, ResearcherID: F-1181-2019)
Academic advise: **Nemyatykh O.D.**, Doctor of Pharmacy, Professor
(ORCID: 0000-0001-5933-2120, ResearcherID: AAN-4303-2020)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: annaxo@mail.ru

The paper presents the results of a comparative assessment of centralized and decentralized procurement of medicines on the example of district hospitals of the Krasnoyarsk Region. The results of the study indicate an increase in the economic and physical accessibility of consolidated purchases. It has been established that the savings of the marginal budget of the district hospitals of the Krasnoyarsk Region through joint bidding for the period 2015-2020 reaches 16% in the context of an increase in the values of the linear distribution index of indicator assortment positions.

Keywords: *medicine supply, consolidated purchases, cost optimization.*

REFERENCES

1. Availability, pricing and affordability of essential medicines in Eastern Ethiopia: a comprehensive analysis using WHO/HAI methodology / M. Sisay [et al.] // Journal of Pharmaceutical Policy and Practice. 2021. Vol. 14(1). P. 57. doi: 10.1186/s40545-021-00339-2.

2. Public portal of public procurement. URL: http://www.zakupki.gov.ru (date of access: 03.06.2021)

Секция 7. World Young Pharmacy

12 апреля 2022 года в рамках XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» в формате онлайн состоялось заседание Секции «World Young Pharmacy», которое проводилось на английском языке. Заседанию Секции предшествовали отборочные этапы, состоявшиеся в марте 2022 г. Модератором заседания Секции выступил Рожков Г.А., директор НОЦ ИЯМК СПХФУ. В заседании Секции в общей сложности приняло участие около 100 человек, среди которых были студенты, магистранты, аспиранты, преподаватели, а также представители ряда российских фармацевтических компаний и предприятий.

На заседании Секции были заслушаны 11 докладов, представленные студентами и аспирантами СПХФУ.

Все выступления были посвящены актуальным проблемам фармацевтической науки. Проблемы, поднятые докладчиками, заинтересовали аудиторию, что подтверждается большим количеством вопросов и живой дискуссией, сопровождающими выступления практически каждого участника.

Оценивало доклады участников Секции компетентное Жюри, в которое вошли профессор Повыдыш М.Н., д-р биол. наук, заведующая кафедрой Биохимии, доцент Лалаев Б.Ю., к.х.н., заведующий кафедрой Органической химии и доцент Рожков Г.А., к.п.н. директор НОЦ ИЯМК СПХФУ.

Жюри отметило высокий уровень докладов, их практическую направленность, умение выступающих отстаивать свою позицию и общаться с аудиторией. Представленные в большинстве докладов результаты проведенных исследований демонстрируют высокий уровень научного потенциала. Этим качествам соответствовали практически все работы, представленные на Секции. Решением Жюри лучшим был признан следующий доклад:

1 место – «The development of technology for enzyme complex isolation (amylase, protease, lypase)» («Разработка технологии выделения комплекса ферментов (амилаза, кислая протеаза, липаза») Головина Лидия Андреевна – студ. 4 курса ФПТЛ, ТБ-1981. Руководители – канд. хим. наук, доцент Н.В. Котова, ст. преподаватель НОЦ ИЯМК Н.В. Жидкова.

Следует отметить отличную организацию в проведении всех этапов и Пленарного заседания XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего».

Модератор секции
Григорий Александрович Рожков, к.п.н., доц.
директор научно-образовательного центра иностранных языков и межкультурных коммуникаций
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, канд.пед.наук

УДК 615.322

PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF IMPATIENS GLANDULIFERA ROYLE GRASS

Alexandrov M.A., 2nd year student
Scientific adviser: **Waley A.K.**, Ph.D., **Pankratova A.O.**, M.Sc. of the Department of Pharmacognosy;
Bobysheva T.V., senior lecturer of the English language
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popova St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: mark.aleksandrov@spcpu.ru

As a result of a preliminary phytochemical analysis of the herb Impatiens glandulifera, 4 secondary metabolites of a flavonoid nature were isolated in an individual form – eriodictyol, ampelopsin, kaempferol and quercetin. The structures of the isolated substances were established using 1H-NMR spectroscopy and compared with literature data. Eriodictyol was isolated for the first time from I. glandulifera in an individual form.

Keywords: *Impatiens glandulifera Royle, iron impatiens, secondary metabolites, flavonoids, fractions, H-NMR spectra.*

Introduction. *Impatiens glandulifera* is an annual herbaceous plant of the Balsaminaceae family. I. glandulifera grows mainly in the northern hemisphere, where it occurs along the banks of rivers, in floodplain forests, and in ruderal places. I. glandulifera originates from the Western Himalayas, from where it was brought to Europe as a garden ornamental plant, from where I. glandulifera subsequently easily ran wild and is now distributed in the temperate latitudes of the Northern Hemisphere and on some islands of Australasia [1]. In the European part of Russia, one of the widespread introduced species, from the Murmansk region and Karelia in the north to the Caucasus in the south. In Asia, the plant settled in the Asian part of Russia, Kazakhstan and Japan. The main group of secondary metabolites of I. glandulifera are polyphenols, among which flavonols are the most common [2].

The purpose of this study is to study the main secondary metabolites of the herb I. glandulifera by isolating them individually and establishing their structure using modern physicochemical methods of analysis.

The objectives of this study were:

1) Obtaining a total extract of the herb I. glandulifera with its subsequent purification by liquid-liquid extraction and open column chromatography.

2) Isolation of individual compounds from purified subfractions by preparative liquid chromatography.

3) Determination of the structure of isolated compounds by 1H-NMR spectroscopy.

Main part. The grass I. glandulifera was collected in the summer during the flowering period in the vicinity of the village of Sosnovo in the Priozersky district of the Leningrad region in 2021. Isolation of substances individually from the herb I. glandulifera was carried out using open column chromatography on sorbents with different selectivity – RP sorbent based on a styrene-divinylbenzene matrix (Diaion HP-20 Lot 110742, USA), Sephadex for size exclusion chromatography (Sephadex LH-20 Lot 10272530, Sweden) and molselect G-25 (dextran bead-polymer gel, particle size 40-120 μm). The subfractions obtained after column chromatography were subjected to preparative HPLC on a KnaurSmartline instrument equipped with a P-1800 preparative pump, a UV Detector 2520 programmable spectrophotometric detector, and a Kromasil preparative column (250 x 30.5 μm). When establishing the structure of the isolated substances, spectral methods of analysis were used. UV spectroscopy (SF-2000, OKB Spektr, Russia), NMR spectroscopy (Bruker Avance III 400 NMR Spectrometer, USA).

To determine the main groups of secondary metabolites contained in the herb I. glandulifera, with the aim of subsequent isolation of major secondary metabolites in an individual form, the raw material of I. glandulifera was subjected to repeated extraction by maceration with stirring at room temperature. For this, 3.2 l of 96% ethanol was added to 400 g of dried and crushed vegetable raw material (the ratio of raw materials to extractant is 1:8). Plant material was extracted at room temperature with stirring using a mechanical overhead stirrer (RZR 2021, Heidolf, Germany). As the solvent was saturated with extractables, the extract was filtered off and concentrated under vacuum at 60°C to a thick consistency using a rotary evaporator (Hei-VAP Advantage, Heidolf, Germany). The distilled off solvent was added back to the feed flask and, if necessary, the solvent level was brought back to 3.2 L with a fresh portion of 96% ethanol. The obtained portions of the extract after thickening were combined. This procedure was repeated many times until complete extraction of the raw material.

The resulting total extract was evaporated to a volume of 400 ml and subjected to exhaustive liquid-liquid extraction (LL-extraction) with equal volumes of n-hexane. The n-hexane extracts were combined and concentrated into the total hexane fraction. After LL-extraction with n-hexane, 100 ml of water was added to the alcohol-water residue, and an exhaustive LL-extraction was performed with equal volumes of dichloromethane. The resulting dichloromethane extracts were combined and concentrated into the total dichloromethane fraction. After LL-extraction with dichloromethane, another 100 ml of water was added to the water-methanol residue to carry out an exhaustive LL-extraction with n-butanol. The n-butanol extracts were combined and concentrated into the total n-butanol fraction. After HPLC analysis of the obtained fractions, it was found that the dichloromethane fraction is the richest in secondary metabolites in qualitative and quantitative terms (Figure 1).

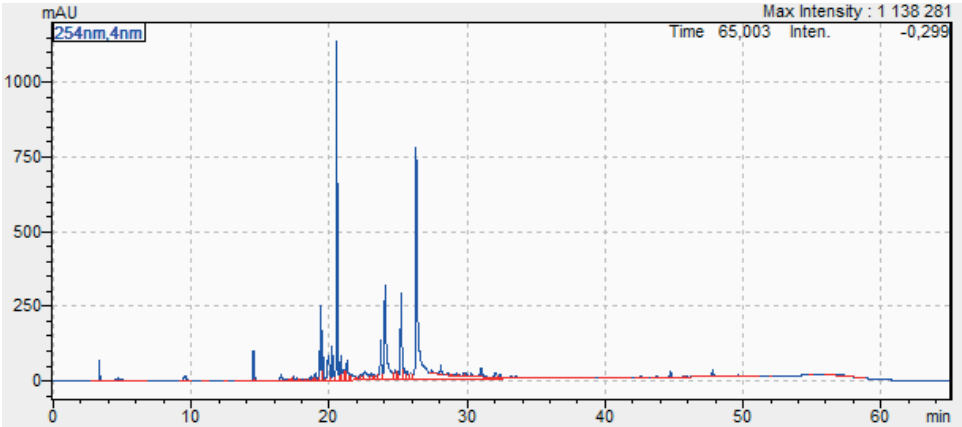


Figure 1. HPLC chromatogram of the dichloromethane fraction of I. glandulifera

The obtained dichloromethane fraction was evaporated to a volume of 100 ml and isocratically chromatographed on a column with a Sephadex LH-20 sorbent, using ethanol as an eluent. The eluate was collected in 10 ml tubes, the contents of which were then compared with each other using TLC in the butanol – acetic acid -water 4:1:2 system. Substances of similar composition were combined in subfractions and evaporated to 10 ml. As a result, two subfractions No. 1 and No. 2 were obtained, the first of which contained a mixture of quercetin and kaempferol, while the second contained a mixture of eriodictyol and ampeplopsin.

It is worth noting that quercetin has an antioxidant effect, the antioxidant properties of quercetin protect the brain, heart and other tissues from damage caused by ischemia and reperfusion, toxins and other factors leading to oxidative stress [3]. Kaempferol also has an antioxidant effect, its use reduces the risk of developing diseases of the cardiovascular system due to the strengthening of the walls of blood vessels and capillaries, ensures the patency of the vessels that feed the heart muscle and stimulates metabolic processes in the myocardium [4]. Eriodictyol is able to reduce the bitterness of the bitter compound. Ampeplopsin improves glucose and lipid metabolism and has potentially beneficial anti-inflammatory effects in patients with alcohol dependence[5].

Subfractions No. 1 and No. 2 were subsequently subjected to preparative high-performance liquid chromatography, as a result of which eriodictyol, ampelopsin, kaempferol and quercetin were isolated individually, Figure 2 shows the structures of the isolated compounds. Conditions of preparative chromatography are presented in table 1: mobile phase A – 0.1% vol. TFA in ultrapure water; mobile phase B – 0.1% vol. TFA in HPLC grade acetonitrile, mobile phase rate was 40 ml/min.

Table 1 – Preparative HPLC conditions

Mobile phase composition, %B	Time, min.
5	0
5	5
50	35
50	40
5	41
5	45

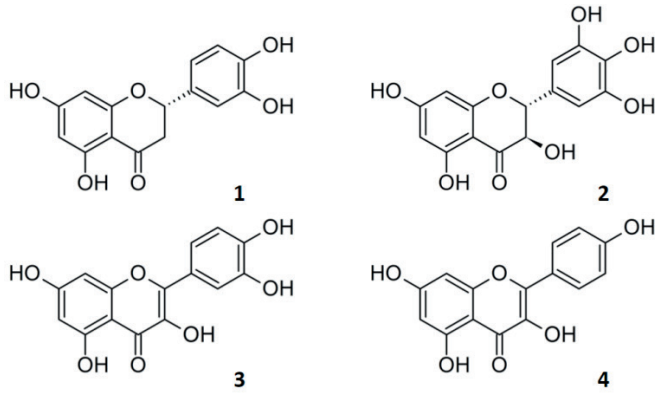


Figure 2. Structures of (1) eriodictyol, (2) ampelopsin, (3) quercetin, and (4) kaempferol

To confirm the structure of the isolated compounds, their 1H-NMR spectra were recorded. 1H-NMR data for eriodictyol, ampelopsin, kaempferol and quercetin are shown in Table 2.

Table 2 – 1H-NMR data for eriodictyol, ampelopsin, kaempferol and quercetin

Eriodictyol		Ampelopsin		Kaempferol		Quercetin	
2	5.38 (2H, dd, J = = 12.5, 2.9 Hz)	2	4.91 (1H, d, J = = 10.7 Hz)	3-OH	9.37 (1H, s)	3-OH	9.29 (1H, s)
3a	2.69 (1H, dd, J = = 17.6, 2.9 Hz)	3	4.41 (1H, d, J = = 10.7 Hz)	5-OH	12.48 (1H, s)	5-OH	12.49 (1H, s)
3b	3.19 (1H, dd, J = = 17.6, 12.5 Hz)	3-OH	5.75 (1H, br. s)	6	6.20 (1H, d, J = = 2.0 Hz)	6	6.19 (1H, d, J = = 1.9 Hz)
5-OH	12.14 (1H, s)	5-OH	11.89 (1H, s)	7-OH	10.78 (1H, s)	7-OH	10.78 (1H, s)
6	5.89 (1H, m)	6	5.86 (1H, d, J = = 2.0 Hz)	8	6.45 (1H, d, J = = 2.0 Hz)	8	6.42 (1H, d, J = = 1.9 Hz)
7-OH	10.78 (1H, s)	7-OH	10.83 (1H, s)	2',6'	8.05 (2H, d, J = = 8.9 Hz)	2'	7.68 (1H, d, J = = 2.1 Hz)
8	5.89 (1H, m)	8	5.90 (1H, d, J = = 2.0 Hz)	3',5'	6.93 (2H, d, J = = 8.9 Hz)	five'	6.89 (1H, d, J = = 8.5 Hz)
2'	6.88 (1H, m)	2',6'	6.40 (2H, s)	4'-OH	10.10 (1H, s)	6'	7.55 (1H, dd, J = = 8.5, 2.1 Hz)
five'	6.75 (1H, m)	3',5'-OH	8.89 (2H, s)			3'-OH	9.35 (1H, s)
6'	6.75 (1H, m)	4'-OH	8.21 (1H, s)			4'-OH	9.58 (1H, s)
3'-OH	9.01 (1H, s)						
4'-OH	9.06 (1H, s)						

Conclusion. As a result of the research, a total ethanol extract from the herb I. glandulifera was obtained, after the LJ extraction of which it was determined that dichloromethane farction is the most promising for further research. Four individual compounds, eriodictyol, ampelopsin, kaempferol, and quercetin, were isolated from n-butanol farction by open column chromatography and preparative high-performance liquid chromatography, which are major secondary metabolites of I. glandulifera. The data obtained indicate that flavonols, flavans and flavanols are the main groups of secondary metabolites of flavonoid nature in the herb I. glandulifera.

REFERENCES

1. Vieira M.N., Winterhalter P., Jerz G. Flavonoids from the flowers of Impatiens glandulifera Royle isolated by high performance countercurrent chromatography // Phytochemical Analysis. 2016. Vol. 27(2). P.116-125. https://doi.org/10.1002/pca.2606

2. Clavin M., Gorzalczany S., Macho A. Anti-inflammatory activity of flavonoids from Eupatorium arnottianum // Ethnopharmacol. 2007. Vol. 112(3). P.112-113. https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.04.007.

3. Guerrero C., Lopez-Lazaro M. A Review of the Dietary Flavonoid Kaempferol // Mini Rev Med Chem. 2011. Vol. 11(4). P. 298-344. https://doi.org /10.2174/138955711795305335.

4. Olsen and Jing Liang. Dihydromyricetin as a new drug for alcohol intoxication / I. Sean [et al.] // Journal of Neurology. 2012. P.390-401. https://doi.org /10.1523/JNEUROSCI.4639-11.2012.

5. Spedding G., Ratty A., Middleton E. Jr. Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids // Antiviral Res. 1989. Vol. 12(2). P. 99-110. doi: 10.1016/0166-3542(89)90073-9.

SUMMARY

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЙ ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАВЫ НЕДОТРОГИ ЖЕЛЕЗКОНОСНОЙ (IMPATIENS GLANDULIFERA ROYLE)

Александров М.А., студ. 2 года обучения

Руководители: **Уэйли А.К.**, к.ф.н., м.н.с. кафедры фармакогнозии; **Понкратова А.О.**, м.н.с. кафедры фармакогнозии, **Бобышева Т.В.,** старший преподаватель английского языка

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический-университет

197376 г. Санкт-Петербург, ул. проф. Попова 14, Российская Федерация.

E-mail: mark.aleksandrov@spcpu.ru

В результате предварительного фитохимического анализа травы *Impatiens glandulifera* были выделены 4 вторичных метаболитов флавоноидной природы в индивидуальном виде – эриодиктиол, ампелопсин, кемпферол и кверцетин. Структуры выделенных веществ были установлены с применением ^{1}H-ЯМР спектроскопии и в сравнении с литературными данными. Эриодиктиол был впервые выделен из *I. glandulifera* в индивидуальном виде.

Ключевые слова: *Impatiens glandulifera Royle, недотрога желёзконосная, вторичные метаболиты, флавоноиды, фракции, H-ЯМР спектры.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Виейра М.Н., Винтерхальтер П., Еж Г. Флавоноиды из цветков Impatiens glandulifera Royle, выделенные методом высокоэффективной противоточной хроматографии // Phytochemical Analysis. 2016. Т. 27. N 2. С.116-125. https://doi.org/10.1002/pca.2606

2. Клавин М., Горзальчани С., Мачо А. Противовоспалительная активность флавоноидов из Eupatorium arnottianum // Этнофармакол. 2007. Т. 112. N 3. С.112-113. https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.04.007.

3. Герреро К., Лопес-Лазаро М. Обзор диетического флавоноида Кемпферола // Mini Rev Med Chem. 2011. Т. 11. N 4. P. 298-344.2011. С. 298-344. https://doi.org /10.2174/138955711795305335.

4. Дигидромирицетин как новый препарат для лечения алкогольной интоксикации / И., Шон [и др.] // Неврологический журнал. 2012. С.390-401. https://doi.org /10.1523/JNEUROSCI.4639-11.2012.

5. Спеддинг Г., Рэтти А., Миддлтон Э.-младший Ингибирование обратных транскриптаз флавоноидами. // Antiviral Res. 1989. Т. 12. N 2. P. 99-110. doi: 10.1016/0166-3542(89)90073-9.

УДК 60:615.3

THE DEVELOPMENT OF SORPTION-CHROMATOGRAPHIC METHOD FOR ENZYME COMPLEX ISOLATION (A-AMYLASE, ACID PROTEASE, LIPASE) FROM ASPERGILLUS ORYZAE NATIVE SOLUTION

Golovina L.A., 4th year student
Scientific advisers: **Kotova N.V.,** Ph.D (chemistry), associate prof., department of biotechnology,
Zidkova N.V., senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: lidiya.golovina@spcpu.ru

This paper considers the possibility of enzyme complex isolation (α-amylase, acid protease, lipase) from the native solution of mold fungus Aspergillus oryzae using sorption-chromatographic method. It is established, that the obtained native solution has a dissimilar protein composition; also enzymes molecular mass are discovered as the result of elution gel-chromotography.

Keywords: *Aspergillus oryzae, lypase, acid protease, a-amylase, sorption, gel-chromotography.*

Introduction. The enzymes production is one of the key fields of modern industrial biotechnology. The volume of its production is growing every year, separation and purification technologies are improving, the number of applications is increasing. A great attention to enzymes obtaining is explained by their non-toxicity, high specificity, bioactivity and by their irreplaceable role in biochemical reactions catalysis. The industrial production of enzymes, especially proteolytic enzymes – amylase, protease, and lipase, makes it possible to create more effective drugs and intensify already existing technologies.

Hydrolytic enzymes (α-amylase, acid protease, lipase) are widely used in various industries of national economy:

- Food industry. Application in the baking industry – to improve the properties of the final product, it is also used in brewing, cheese production and in processing of meat products.
- Light industry. It is used for materials processing in leather manufacturing, improvement of silk and wool properties.
- Medical industry. The enzyme complex is used in the treatment of the gastrointestinal tract diseases, and is also used as a complementary therapy in the treatment of purulent-inflammatory processes.
- Agriculture. Enzymes are used as food additives.

Proteases and amylases are obtained from sources of plant, animal, and microbial origin. However, the isolation of enzymes from plant and animal raw materials is a rather laborious process that requires significant material and financial resources. The most promising and economical way of producing enzymes is the cultivation of microorganisms, among which mold fungi Aspergillus oryzae are of particular interest. [4]

Research objective is the development of sorption-chromatographic method for enzyme complex isolation (α-amylase, acid protease, lipase) from Aspergillus oryzae native solution.

In order to reach this objective the following tasks are to be completed:

- the production of Asp. Oryzae culture fluid, evaluation of enzyme activity in it;
- determination the component composition of the native solution;
- selection of optimal sorption conditions on various sorbents;
- selection of an optimal sorbent for the development of an efficient method of enzyme complex isolation.

Main part. During the research the following materials and methods were used:

1. Cultivation of Asp. Oryzae strain 55

Cultivation is produced by the deep method with constant stirring at the temperature of 28 ± °C for 72 hours. A liquid nutrient medium of standard composition is used: glucose – 3%, starch – 3%, corn extract – 3%, soy flour – 2%, ammonium sulfate – 0.2%, calcium carbonate – 0.3%, the pH of the medium is 6.7-7.0.

2. Determination of enzymes activity

2.1 Determination of an acid protease activity

The necessary solutions were prepared (1h NaOH, 0.5n NaOH, 1M KH2PO4, 5% trichloroacetic acid solution, Folin-Chokalteu phenolic reagent, 0.2n HCl, 1mM L-tyrosine, hemoglobin solution – substrate), a calibration curve was constructed for L-tyrosine solution in different concentrations and then the difference between the absorption of the native solution and the comparison solution was determined on a spectrophotometer at λ= 750nm.

2.2 Determination of an α-amylase activity

The method is based on the quantitative determination of hydrolyzed starch by amylolytic complex enzymes at a temperature of 30°C, pH = 4.7 in 10 minutes.

The necessary solutions were prepared (1h NaOH, 1h CH3COOH, acetate buffer with pH = 4.7, 1% starch solution – the substrate, 0.2n HCl, basic and working iodine solutions, 0.1 n HCl).

As a unit of amylolytic activity (AS), the amount of the enzyme was taken, which, at pH = 4.7 and 30°C, catalyzes 1g of the substrate to dextrins in 1 minute.

3. Determination of lipase activity

The method is based on titrimetric determination by the amount of fatty acids formed during the hydrolysis of the substrate under the action of an enzyme in 1 hour at 37 ± 1°C.

The necessary solutions were prepared for the analysis (2% soap solution, sunflower oil emulsion – substrate, 1/15M Na2HPO4*2H2O, 1/15M KH2PO4, 1/15M K-Na-phosphate buffer with pH=6.0, 1h NaOH, 0.05n NaOH). [5]

4. Determination of total protein by the Lowry method

The method is based on the reduction of the phenyl group of tyrosine by phosphomolybdic acid, which is part of the Folin-Chokalteu reagent, and the formation of blue color of the solution with its subsequent spectrophotometry at λ = 750nm. The concentration is determined according to the calibration schedule based on albumin.

5. Gel chromatographic determination of the composition of the native solution

Gel chromatography was performed to determine the molecular weight of proteins (enzymes) that are part of the native solution. The chromatographic column was calibrated according to model solutions of proteins with a known molecular weight at a concentration of 2 mg/ml. Sephadex G75 was used as a carrier; chromatographic column d*h=1.0*20cm.

The following sorbents with accompanying characteristics were used in the work [1], [2], [3] (Table 1):

Table 1 – Characteristics of the sorbents used in the work

Sorbent	Average grain radius, mm	Swelling coefficient	Appearance of the grains	Functional groups
KU-23	0,25-0,4	1,5	Spherical, light gray to dark gray in color	SO_3H^-
KB-2	0,4	2,6	Spherical, white	COO^-
C-106	0,4	2,2	Spherical, translucent cream particles	COO^-
C-150	0,45-1,2	1,8	Spherical, white	SO_3H^-

Investigation of the component composition of the native Asp solution. Oryzae pcs. 55 by elutive gel chromatography. This process was carried out on a chromatographic column d * h = 1.0*20cm according to the method described earlier. The obtained chromatograms are shown in Figures 1,2.

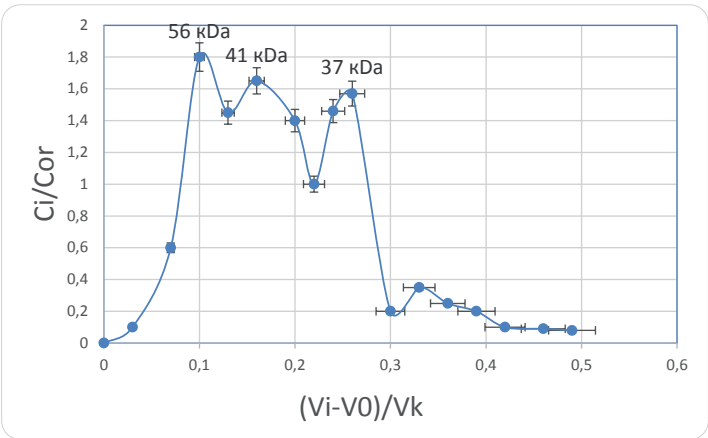


Figure 1. Gel chromatography of native Asp solution. Oryzae pcs. 55 by protein

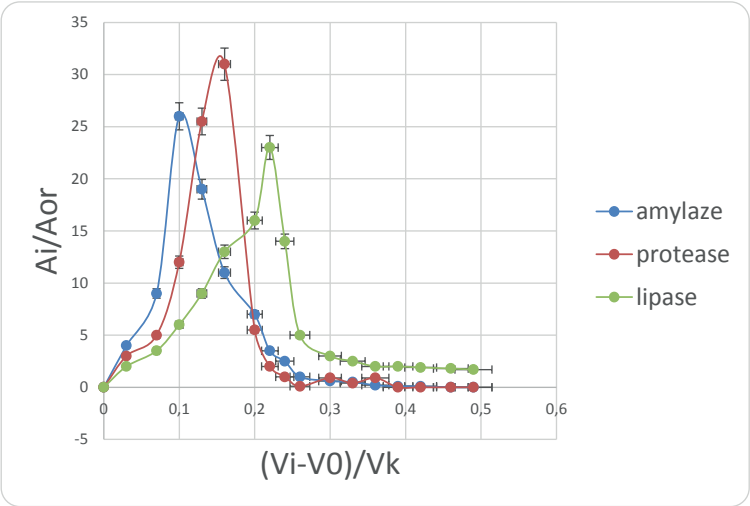


Figure 2. Gel chromatography of native Asp solution. Oryzae pcs. 55 by the activity of the enzymes

The result of the study of the native solution by gel chromatography shows that the solution is heterogeneous in protein. The presence of amylase, acid prosthesis, and lipase has been confirmed, and their molecular weights have been established according to the peaks on the graphs: 1 peak – amylase – 56kDa, 2 peak – protease – 41kDa, 3 peak – lipase – 37 kDa.

Investigation of the effect of pH on the sorption capacity of acid protease and amylase on the cationites used. The study was conducted in the pH range: 2.5 – 7.0 under static conditions. The following dependencies are obtained: Figures 3,4 show the dependence of the enzyme sorption capacity on pH on various sorbents.

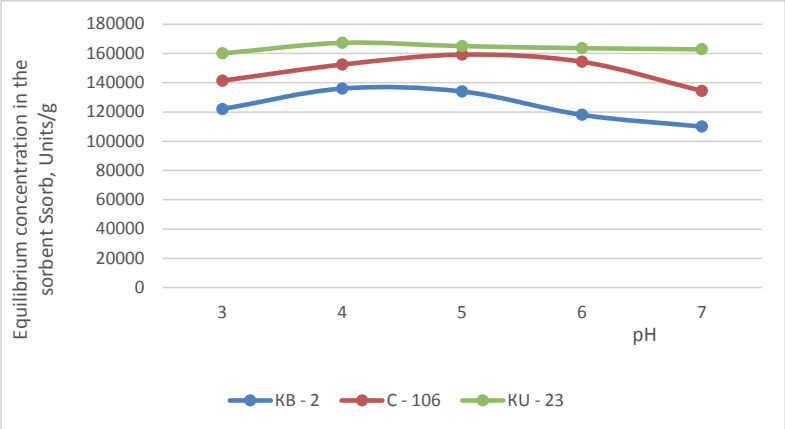


Figure 3. Dependence of α-amylase sorption capacity on pH on various sorbents

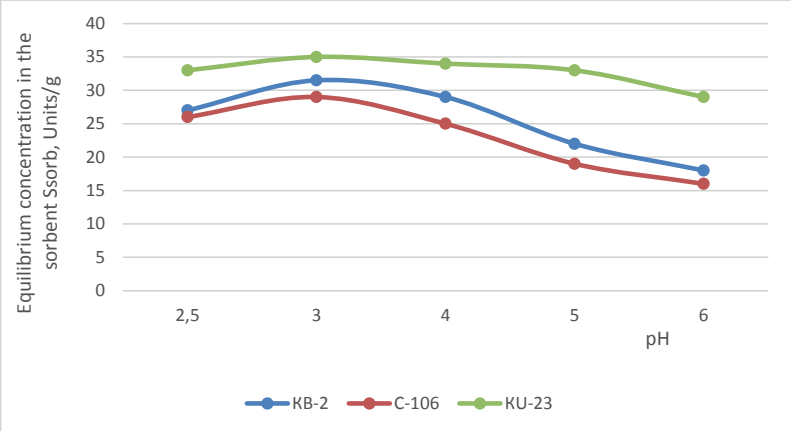


Figure 4. Dependence of acid protease sorption capacity on pH on various sorbents

It is shown that on carboxylic cationites, the maximum sorption capacity of enzymes is observed at pH values close to their isoelectric points (pI). For acidic protease pI ≈ 3.5, for α – amylase ≈ 4.5. The enzyme molecules are in a poorly dissociated state, which allows them to be well sorbed on the grain.

It can be seen from the graphs that pH ≈ 4.0 is optimal for carrying out the sorption process of the enzyme complex, since under these conditions high values of the sorption capacity of cationites were obtained, both for acid protease and α – amylase.

Further, it is planned to study the equilibrium and kinetic parameters of the sorption process of the complex of the enzymes under consideration and the choice of the optimal sorbent, as well as the construction of the dependence of the lipase sorption capacity on various cationites.

Conclusion.

1) The method of obtaining of the culture fluid of the considered mold fungus Asp. oryzae has been worked out; the enzymatic activity of lipase, acid protease, α-amylase was determined.

2) The component composition of the native solution was determined by the method of elutive gel chromatography, the molecular weights of the corresponding enzymes were determined.

3) Optimal conditions for carrying out the sorption process on various sorbents have been selected.

REFERENCES

1. Adsorption and chromatographic properties of polymer sorbents of the «Stirosorb» type / Belyakova L. D [et al.] // ZhFKh. 1995. Vol. 69(4). P. 696-700. (in Russian)

2. Polyanskii N.G., Gorbunov G.V., Polyanskaya N.L. Ionites research methods. M.: Chemistry, 1976. 208 p. (in Russian)

3. GOST 20298-74. Ion-exchange resins. Cationites. Technical conditions. – Instead of GOST 13505-68. GOST 5.1428-72. Scince. 01.01.76. till 01.01.96. Gosudarstvennyi Komitet standartov Soveta Ministrov SSSR from 21.11.74. (in Russian)

4. Morozova K.A. Development of biotechnology of acid protease preparations based on a highly active mutant strain of Aspergillus oryzae 107 for use in alcohol production: abstract for the degree of Candidate of Technical Sciences (05.18.07). Moscow, 2006. (in Russian)

5. Berezin I.V. Engineering enzymology. Biotechnology. M.: Izd-vo EE Media, 2012. 143 p. (in Russian)

SUMMARY

РАЗРАБОТКА СОРБЦИОННО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ КОМПЛЕКСА ФЕРМЕНТОВ (КИСЛАЯ ПРОТЕАЗА, ЛИПАЗА, А-АМИЛАЗА) ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ASPERGILLUS ORYZAE

Головина Л.А., студ. 4 курса
Руководители: **Котова Н.В**., доцент кафедры биотехнологии, к.х.н.,
Жидкова Н.В., старший преподаватель, НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14
E-mail: lidiya.golovina@spcpu.ru

В данной работе рассматривается возможность выделения комплекса ферментов (амилаза, протеаза, липаза) сорбционно-хроматогафическим методом из нативного раствора плесневого гриба Aspergillus oryzae. Установлено, что нативный раствор неоднороден по белковому составу. Установлены молекулярные массы ферментов методом элютивной гельхроматографии, определены оптимальные условия проведения процесса сорбции на различных сорбентах.

Ключевые слова. *Культуральная жидкость Aspergillus oryzae, липаза, а-амилаза, сорбция, кислая протеаза, гельхроматография.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Адсорбционные и хроматографические свойства полимерных сорбентов типа «Стиросорб» / Л. Д. Белякова [и др.] // ЖФХ. 1995. Т.69. N4. С. 696-700.

2. Полянский Н.Г., Горбунов Г.В., Полянская Н.Л. Методы исследования ионитов. М.: Химия, 1976. 208 с.

3. ГОСТ 20298-74. Смолы ионообменные. Катиониты. Технические условия. – Взамен ГОСТ 13505-68, ГОСТ 5.1428-72. Введ. С 01.01.76. по 01.01.96. Государственный Комитет стандартов Совета Министров СССР от 21.11.74.

4. Морозова К.А. Разработка биотехнологии препаратов кислых протеаз на основе высокоактивного мутантного штамма Aspergillus oryzae 107 для использования в производстве спирта: автореферат на соискание ученой степени кандидата технических наук (05.18.07). Москва, 2006.

5. Березин И.В. Инженерная энзимология. Биотехнология. М.: Изд-во ЁЁ Медиа, 2012. – 143 с.

УДК 579:579.6

ANALYSIS OF RESEARCH DIRECTIONS IN THE FIELD OF NEW NATURAL SUBSTANCES WITH ANTITUBERCULAR ACTIVITY

Zamkina M.A., 2nd year student, **Akhmetchanova A.V.**, 2nd year student
Scientific advisers: **Tikhomirova O.M.**, Candidate of Biological Sciences, senior lecturer,
Bobysheva T.V., senior lecturer
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: mariya.zamkina@spcpu.ru

We conducted a comparative bibliographic analysis and a qualitative analysis of scientific articles containing information on the search and study of natural substances with anti-tuberculosis activity. Our goal was to identify new compounds of natural origin, which have been studied since 2016 and up to the present, with active properties against Mycobacterium tuberculosis. After studying more than 100 reports, we can note that plants have the greatest potential in the fight against tuberculosis.

Keywords: *antitubercular activity, antimycobacterial activity, Mycobacterium tuberculosis, bibliometric review, international research, current trend.*

Introduction. Tuberculosis, caused mainly by *Mycobacterium tuberculosis*, affects about 9.4 million people annually in the world and is a social problem, especially in underdeveloped countries. Mycobacteria are small, slow-growing aerobic bacilli. The main source of infection is a person with tuberculosis of the respiratory system, secreting microbes into the environment with sputum; a secondary role in the spread of tuberculosis is played by sick farm animals and people with an irregular form of tuberculosis, secreting pathogens with urine and feces. The main ways of transmission of infection are airborne, airborne dust and, much less frequently, food, contact and intrauterine pathways. Despite the fact that the death rate from tuberculosis has decreased by 47% since 1990, it still claims up to 1.5 million lives every year [1]. The cure rate ranges from 85 to 95% in case of timely treatment, however, up to 12% of patients still die and up to 7% relapse.

The ineffectiveness of treatment is explained by the emergence of drug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* [2]. This fact encourages researchers all over the world to make a searching for new drugs.

We conducted a bibliometric analysis of scientific reports published from 2016 to the present days, in order to find modern research trends and to identify promising kinds of substances of natural origin for obtaining a drug against tuberculosis.

To achieve these goals the following tasks are formulated:

1) To conduct a bibliometric analysis of research programs in the field of discovery of anti-tuberculosis substances.

2) Process the data.

3) To determine research directions in the field of discovery of anti-tuberculosis substances and make a conclusion about modern research trends.

During the screening of the information, we used articles databases such as ASM Journal, Scopus, J-STAGE, eLiabrary. We used an internal advanced search, and established a keyword search for «antitubercular» or «antimycobacterial». In the course of the work, only those articles were considered in which the results of the evaluation of the antimicrobial activity of compounds of natural origin were presented in relation to *Mycobacterium tuberculosis* test strains, the results of studies only in silico were not considered, also articles in which mycobacteria of other species were used as a test microbe (due to differences in sensitivity) and in which the absence of antitubercular activity or extremely low activity was found were not taken into account.

We have divided the substances found by their origin: plant origin, bacterial origin, fungal origin, viral origin and animal origin.

Main part. It is clear that we found the greatest variety of opportunities for studying antitubercular activity among the plants. Plants of the families *Asteraceae, Zingiberaceae, Rutaceae, Lamiaceae, Apiaceae, Orchidaceae* are of the greatest interest to study new anti-tuberculosis substances.

Information about these and other families is presented in the table below.

Some of the articles studied did not contain information about specific substances that have an anti-tuberculosis effect. Some described general groups, without specifying specific species. In such cases, a dash is placed on the table.

Table – Substances with anti-tuberculosis activity isolated from plants

FAMILY	KIND	SUBSTANCE/RAW MATERIAL
Acanthaceae	-	-
Alangiaceae	*Alangiaceae salvifolium*	-
Amaranthaceae	*Chenopodium ambrosioides L.*	-
Annonaceae	*Phaeanthus ophthalmicus* *Uvaria grandiflora*	tetrahydrobisbenzylisoquinoline alkaloids tetrandrine and limacusine
Apiaceae	*Trachyspermum copticum*	essential oils
Geraniaceae	*Pelargonium graveolens*	essential oils

FAMILY	KIND	SUBSTANCE/RAW MATERIAL
Apocynaceae	*Tabernaemontana alba* *Tabernaemontana arborea*	alkaloid extracts alkaloid extracts
Arecaceae	*Area catechu*	-
Asteraceae	*Aspilia pluriseta Schweinf.* *Tithonia diversifolia* *Bidens pilosa* *Gynura procumbens* *Sphaeranthus africanus* *Vernonanthura nudiflora*	extracts - Zingiberene - carvotacetones Flowers
Basellaceae	-	-
Buddlejaceae	*Buddleja saligna*	-
Calophyllaceae	*Mesua ferrea L.*	Linoleic and oleic acids
Commelinace	*Amishophacelus axillaris*	-
Euphorbiaceae	*Euphorbia ebracteolata Hayata* *E. paralias L.*	- -
Fabaceae	*Albizia coriaria Welw ex. Oliver*	Stem Bark
Lamiaceae	*Ocimum Sanctum* *Salvia hypargeia* *S. huberi* *S. dichroantha* *Satureja rechingeri* *Satureja khuzestanica Zataria multiflora*	Active ingredients of Ocimum sanctum - - - - -
Meliaceae	-	-
Menispermaceae	-	-
Moraceae	*Artocarpus lakoocha*	Flavanones from the twigs and barks
Myrtaceae	*Eugenia sp.* -	Eugenol sesquiterpene alcohol
Ochnaceae	*Lophira lanceolata*	-
Orchidaceae	*Rhynchostylis retusa* *Tropidia curculioides* *Satyrium nepalense*	- - -
Piperaceae	-	-
Polygonaceae	*Japonica houtt.*	Rhizome preparations
Rhamnaceae	*Colubrin Asiatica (L.) Brongn*	Triterpene acid
Rubiaceae	*Canthium dicoccum* *Mussaenda luteola*	- -
Rutaceae	*Spiranthera odoratissima* *Murraya paniculata (L.) jack* *Zanthoxylum schinifolium*	essential oils essential oils from ripe and unripe fruits -
Santalaceae	*Santalalum album L.*	-
Solanaceae	*Solanum chrysotrichum*	-
Urticaceae	*Pilea cavaleriei H.Lev*	-
Verbenaceae	*Vitex negundo Linn*	Ursolic acid
Zingiberaceae	*Alpinia galanga* *Curcuma xanthorrhiza* *Curcuma sp.*	- - Curcumin
Ericaceae	*Moneses uniflora*	Flowers
Piperaceae	*Piper crocatum Ruiz&Pav*	-
-	*Ocotea discolor Kunth*	-
Lots of	*Cinnamomum camphora Nees* *Santalum album Linn., Pterocarpus Santalinus Linn.f.* *Lactuca Sativa Linn.* *Acacia arabica Wild.* *Portulacaoleracea Linn.& Cucurbita maxima Duch. Cucumis Sativus Linn. Cucumis utilissimus Roxb. Scillasarrata Crab*	Collection of 10 plants

FAMILY	KIND	SUBSTANCE/RAW MATERIAL
Lots of	Venezuelan plant species	extracts
Marine brown algae	*Sargassum swartzii*	Flavonoids
Conifers	-	Terpenoids

We have found several more representatives of wildlife, whose chemical compounds can be considered as a means of combating *Mycobacterium tuberculosis*. For further consideration, we classify the group of compounds of biological origin into the kingdoms – Animals, Fungi, Bacteria and Viruses. The following is a list of the organisms we found:

I. Animals:

● Sea sponges

1. *Acanthongylophora sp.*
2. *Chelonaplysilla sp.*
3. *Hipposngia metachromia* (Ilimahinon)

● Marine invertebrates (Bengamids).

II. Fungus:

● Fungus

1. Deep shroom *Diaporthe longicolla* FS429 (diterpenoids, cytochalazine, polyketides)
2. *Fusarium* (Enniatin A1)
3. *Penicillium citrinum* BCC71086
4. *Pseudorobillarda sp.*
5. Endophytic fungus *Xylomelasma sp.*
6. *Pleurotus ostereatus* (phenolic compaunds)
7. *Macrolepiota procera* (Lanostane triterpenoids)

● Lichens

1. *Usnea sp.*
2. *Psoroma sp.*
3. *Alectoria sp.*

III. Bacteria:

1. Human intestinal microbiota (indole-3-propionic acid)
2. Actinobacteria of marine origin *Streptomyces atratus* SCSIO ZH16 (Ilamycin F) and soil origin (vollamides, cyclipostins)
3. *Enterococcus faecalis* (Bacteriocin AS-48)
4. *Pediococcus acidilactici*
5. *Nonomuraea sp.*
6. Australiansoil *Amycolatopsis sp.*

IV. Viruses

1. macrophages (β-oxidation of fatty acids)

Below we have compiled a drawing that shows the frequency of occurrence of reports with information about the respective kingdoms.

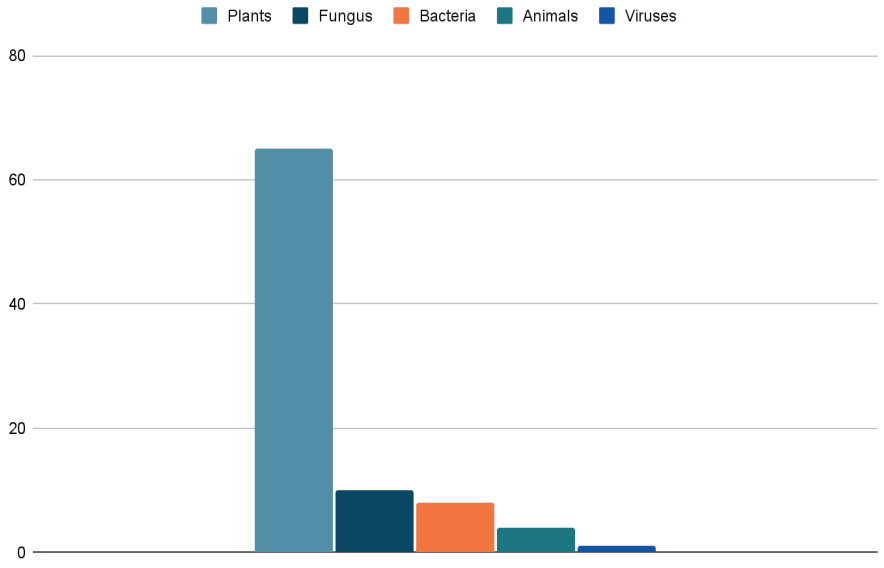


Figure 1. Quantitative ratio of groups of anti-tuberculosis compounds divided by their origin

The following diagram shows the percentage ratio between the articles published in different years on our subject.

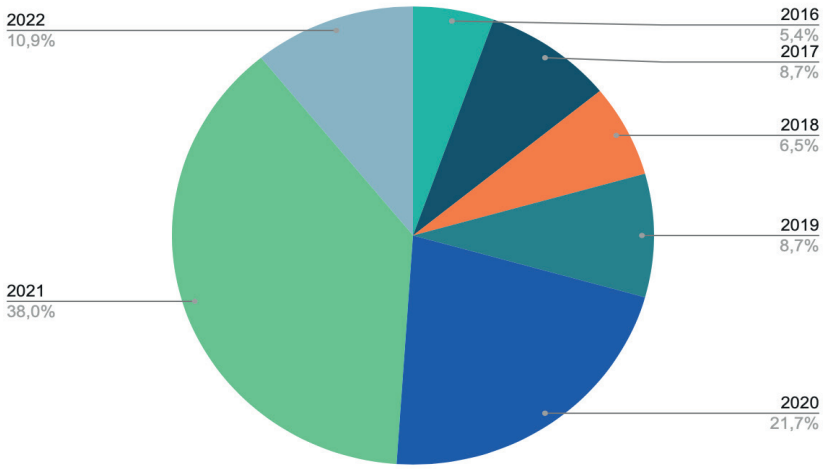


Figure 2. Percentage ratio between published articles in different years from 2016 to 2022

We can see an increase of the research activity that started in 2020. Presumably, we can relate this to the spread of COVID-19 and the general mobilization of scientists.

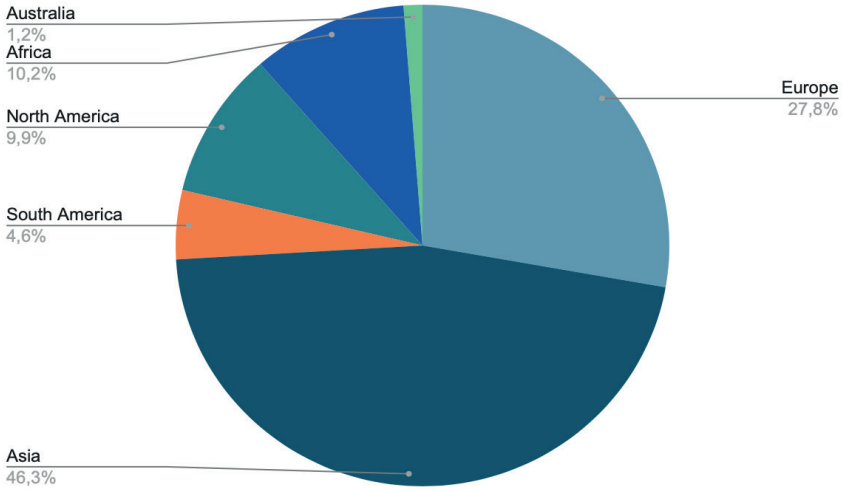


Figure 3. Percentage ratio between countries

A huge array of research is being done in India. Due to this, Asia occupies a leading position in this diagram (if we are talking only about substances with a natural origin). China and Singapore also make major contributions.

European researchers quite often cooperate with each other. The leaders in research are France, Belgium, Great Britain, the Czech Republic and others. Scientists from Russia also take part in such research, usually in cooperation with foreign colleagues. Among African countries, scientists from Saudi Arabia, Egypt, and South Africa are doing a huge amount of work. In North America, both the United States, Canada and Mexico are working on finding a cure for tuberculosis. Brazil, Chile and others in South America too. Research is being carried out by Australia and New Zealand. In general, we can note a high degree of cooperation between scientists, countries and continents, which is not surprising, because the fight against tuberculosis is of global goal and interest.

Conclusion.

Summarizing all the data processed by us, we can say that the greatest interest in the study of anti-tuberculosis activity demonstrated by natural substances is represented by plants, from which it is possible to isolate substances with antimycobacterial activity. *Asteraceae, Zingiberaceae, Rutaceae, Lamiaceae, Apiaceae, Orchidaceae* and others may contain various alkaloids, terpenes and essential oils, indicating successful testing. Their activity against *Mycobacterium Tuberculosis* is very high. Microbiological organisms can be called a non-standard way of fighting, but no less promising. The bacteria are producers of various enzymes which can be detrimental to *Mycobacterium tuberculosis*. The potential of viruses (macrophages), in our opinion, is not sufficiently disclosed, and may also be the subject of further research.

REFERENCES

1. WHO. Global tuberculosis report 2018. Geneva: World Health Organization, 2018. [Internet] URL :https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/9789240013131 (дата обращения 03.03.2022).
2. Naumov A.G., Pavlunin A.V. Mechanisms of development of medicine stability Mycobacterium tuberculosis: is there a chance to win? // Pulmonologia 2021. Vol. 31(1). P.100-108. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-1-100-108 (in Russian).

SUMMARY

ПОИСК НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ С ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫМ ДЕЙСТВИЕМ: КРАТКИЙ БИБЛИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ (2016-2022)

Замкина М.А., студент 2 курса, **Ахметчанова А.В.**, студент 2 курса
Руководитель: **Тихомирова О.М.,** канд. биол. наук, доц. кафедры микробиологии,
Бобышева Т.В., старший преподаватель Научно-образовательного центра
иностранных языков и межкультурной коммуникации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: mariya.zamkina@spcpu.ru

Проведен библиометрический и качественный анализ научных статей, содержащих информацию о поиске и изучении природных веществ, обладающих противотуберкулезной активностью. Нашей целью было определение новых соединений природного происхождения, излучающееся с 2016 года по настоящее время, обладающих активными свойствами в отношении *Mycobacterium tuberculosis.* Изучив более 100 научных отчетов, мы можем отметить, что растения обладают наибольшим потенциалом в борьбе с туберкулезом.

Ключевые слова: *противотуберкулезная активность, антимикобактериальная активность, Mycobacterium tuberculosis, библиометрический обзор, международные исследования, современные направления.*

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO. Global tuberculosis report 2018. Geneva: World Health Organization, 2018. [Internet] URL :https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/9789240013131 (дата обращения 03.03.2022).
2. Наумов А.Г., Павлунин А.В. Механизмы развития лекарственной устойчивости Mycobacterium tuberculosis: есть ли шанс победить? // Пульмонология. 2021. Т. 31. N 1. С.100-108. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-1-100-108.

УДК 615.454.1

STUDY OF THE OSMOTIC ACTIVITY OF A SOFT ANTI-INFLAMMATORY DRUG FORM

Zufarova Z.Kh., 1st year applicant
Scientific adviser: **Yunusova Kh.M.**, dr. farm. sciences, prof.
Tashkent Pharmaceutical Institute, 100015,
Tashkent, Aybek str., 45, Republic of Uzbekistan
E-mail: zuhra_77@mail.ru

Modern medicine has a wide arsenal of anti-inflammatory drugs, however, along with a favorable pharmacological effect and a sufficient degree of clinical efficacy, all of them cause a number of undesirable side reactions. In this regard, the search for highly effective drugs that suppress inflammation and have minimal side reactions is relevant; soft dosage forms in the form of gels have recently been increasingly used in medical practice. The paper presents studies on the study of the osmotic activity of gels for the selection of the composition of the optimal soft dosage form.

Keywords: *phytopreparations, gel based on vegetable raw materials, ointment, gel, liniment, composition, base, production technology, analysis methods.*

Introduction. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are one of the most widely used groups of drugs in clinical practice, which are used for the symptomatic treatment of inflammatory processes that accompany many diseases. The problem of combating inflammatory diseases in medical practice is becoming increasingly important. In this regard, the creation of highly effective drugs for their prevention and treatment is an important task. Due to the multifaceted analgesic and anti-inflammatory therapeutic activity, the use of acetylsalicylic acid and salicylates has become widespread in medical practice [1,2,3,4].

However, despite the undoubted clinical efficacy, the use of NSAIDs has its limitations. This is due to the fact that even short-term use of these drugs in small doses can lead to the development of side effects, which in general occur in about 25% of cases, and in 5% of patients can pose a serious threat to life. The risk of side effects is especially high in elderly and senile people, who

make up more than 60% of NSAID users. It should also be noted that in many diseases there is a need for long-term medication. Therefore, in recent years, special attention has been drawn to the problem of the safe use of NSAIDs.

In order to expand the range of dosage forms that are easy to use, have sufficient bioavailability and storage stability, we are developing skin-acting dosage forms based on glycyram and salicylic acid, which have anti-inflammatory, antiviral, antipruritic and anti-allergic properties. Our research is aimed at developing soft dosage forms that provide the necessary pharmacotherapeutic effect on various aspects of the inflammatory process. Rheological studies of ointment bases showed that hydrogel bases, unlike other bases (anhydrous, low water content, water/oil and oil/water emulsions) retain their consistency at skin temperature. In addition, the base during storage should not change its appearance, should not be toxic, ensure maximum simplicity and safety of the technological process. [6,7,8].

The purpose of the study: The aim of the study was to develop a technology of gels with an anti-inflammatory agent based on medicinal raw materials and salicylic acid.

Materials and methods of research. The ointment base is an active carrier of medicinal substances, therefore, taking into account the data of foreign and domestic authors, we used hydrophilic, emulsion, absorption bases in the studies. When choosing auxiliary components in the development of the dosage form, we were guided by the following basic provisions: the components of the gel should be compatible, not cause an irritant effect, maximize the release of the active component, ensure ease of application and packaging of the gel. The release of the medicinal substance from ointments based on polymers is the most complete and even. As bases for gels, hydrophilic formers were studied: sodium carboxymethylcellulose, methylcellulose, carbopol, polyvinyl alcohol, polyethylene oxides 400 and 1500, and their various combinations with each other. In addition, glycerin was added to the composition of the bases as a plasticizer and in order to prevent their drying during storage.

Since the economic side of the developed soft dosage forms was the main criterion in fulfilling the tasks set, we tried to mainly use substances of local origin. Among the substances promising for inclusion in osmotically active formulations, our attention was drawn to polyethylene oxides (PEO with a molecular weight of 400-1500), propylene glycol and glycerin, which are widely used as excipients, as well as some other substances that we use to obtain comparative data. . Under production conditions, the toxic effect of PEG-400 and propylene glycol was not detected. PEG-400 and propylene glycol have the status of pharmacopoeial products and are widely used as excipients for the production of many drugs, including SDF soft dosage forms. [8,9].

When choosing auxiliary components in the development of the dosage form, we were guided by the following basic provisions: the components of the gel should be compatible, not cause an irritant effect, maximize the release of the active component, ensure ease of application and packaging of the gel. The release of the medicinal substance from ointments based on polymers is the most complete and even. Carboxymethylcellulose (CMC), methylcellulose (MC), and carbopol forming a gel-like form were used as structure-forming polymers. Based on these studies, to increase the rate of dissolution and solubility of active substances in the composition of the gels, PVP was chosen, in a ratio of 1:2 (by weight, in relation to active ingredient). Such a ratio of active ingredients and polymer makes it possible to increase the solubility of the substance by 2 times and increase the dissolution rate, which makes it possible to simplify the technological process for obtaining a soft dosage form of a sparingly soluble substance. PVP is widely used as an excipient in pharmaceutical technology. The polymer is easily soluble in water and alcohol, forming water-soluble complexes. Due to this, it improves the solubility and bioavailability of active substances. Also, when developing gel compositions, an attempt was made to use PEG-400 as a polymer that increases the solubility of active substances. In the proposed technology for obtaining gels, active substances with a polymer are introduced into the composition of a soft dosage form in the form of an aqueous or aqueous-alcoholic solution (in the case of using PVP) or as a solution in PEG-400. PEG is widely used in the pharmaceutical industry due to the absence of toxic effects on the body. In various dosage forms, PEG is included as a thickener, solubilizer, gelling agent, preservative, stabilizer, emulsifier. They easily dissolve in themselves, and also quite easily release hydrophilic and hydrophobic active substances. When developing the composition and technology and gels, the main attention was paid to the therapeutic concentration of the drug substance. The choice of the optimal concentration of active ingredients, providing a sufficient anti-inflammatory effect, was based on animal studies, based on the pharmacological results, a decision was made to develop the composition and technology of gels with a concentration of active ingredients in the dosage form. The determination of osmotic activity was carried out at 37±0.5°C by the method of dialysis through a semipermeable membrane by weight [5,10,11].

The dialyzer consisted of a glass vessel with a lid, in which a hollow cylinder with an inner diameter of 30 mm was fastened. The bottom of the cylinder was a cellophane film pre-soaked in purified water for 10–15 min (film thickness 0.25 mm). Initially, about 5.0 g (accurately weighed) of the studied gel samples was applied to the film surface in a uniform layer. The cylinder was placed in an outer vessel containing 25 ml of purified water. The immersion depth of the inner cylinder was 2 mm. The device was placed in a thermostat, in which the temperature (37+0.5)°C was maintained throughout the experiment. Every hour, the mass of the inner cylinder with a sample was weighed. The amount of liquid absorbed by the bases was determined gravimetrically on 6 samples and expressed as a percentage of the initial weight of the base. The experiment was carried out until a constant mass of the system under study was established.

Results and discussion: Osmotic properties are of particular importance when using medicinal systems intended for the treatment of purulent wounds, infected burns, bedsores, frostbite, diaper rash, dermatitis of various etiologies and other diseases characterized by the presence of exudative secretions. In this case, the osmotic effect of the drug is a therapeutic factor that provides an active outflow of purulent wound contents, eliminates tissue hypertension and inflamed edema (prevention of secondary necrosis), limits the absorption of decay products into the body, removes the phenomenon of intoxication, provides

faster cleaning and creates the necessary conditions for healing the surface of damaged tissue. The results obtained, presented in Table 1, show that the test substances are significantly superior to hypertonic sodium chloride solution both in strength and duration of action. Propylene glycol and glycerin are superior in activity to higher molecular weight diethylene glycol and triethylene glycol.

The technology for preparing the bases consisted in swelling sodium-CMC in purified water or another solvent (propylene glycol), subsequent neutralization to pH 5.0-7.0 with sodium hydroxide solution and the addition of osmotically active components (PEE-1500 was preliminarily melted) with constant stirring using a stirrer. The bases obtained were gel-like masses.

Table 1 – Osmotic activity of excipients

Test sample	Adsorbed water, %				Sample osmotic time, h
	Dialysis time, h				
	1	3	5	8	
Polyethylene oxide 400	93,6	202,6	252,1	281,2	8
Propylene glycol	72,2	164,9	220,2	226,0	8
Ethylene glycol	82,5	132,0	140,2	142,2	5
Triethylene glycol	84,1	144,4	158,5	164,4	6
Glycerol	86,1	164,0	182,5	189,2	6
10% sodium chloride solution	11,5	12,4	12,4	12,4	1,5

Model ointments were made in accordance with the properties of the incoming ingredients. Addition to the swollen mixture of Na-CMC and glycerol with constant stirring. Next, a solution of the GLAS substance and salicylic acid was obtained. Then, the base was mixed with a solution of GLAS and salicylic acid until a homogeneous gel was obtained. In the manufacture of Na-CMC gels, the powder is first poured with half the volume of cold water, after 60 minutes the rest of the water is added and heated to 50-70 ° C until completely dissolved.

The results of the studies have shown that the developed bases have a high osmotic activity sufficient to create the desired therapeutic effect.

Conclusion: Thus, the osmotic properties of the above macromolecular substances used in pharmaceutical technology in the development of osmotically active compositions, the technological parameters of compositions with excipients, which will be taken into account in the selection of the composition of drugs based on them, have been studied. The technological parameters of compositions with excipients, which will be taken into account in the selection of the composition of drugs based on them, have been studied.

REFERENCES

1. Kaminny A.I. Therapy with antiplatelet and non-steroidal anti-inflammatory drugs. The ratio of risk and benefit / A.I. Fireplace // Attending physician. – 2009. – No. 7. – S. 49-54. (in Russian)

2. Decrees of the President of the Republic of Uzbekistan No. PP-4554 dated December 30, 2019 «On additional measures to deepen reforms in the pharmaceutical industry of the Republic of Uzbekistan». (in Russian)

3. Slyusar O.I., Kalmykova T.P., Kermanian F. Study of the influence of various factors on the structural, mechanical and technological characteristics of acrylic acid polymer hydrogel bases // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2003. N 5. P. 51-53

4. Papazova N.A., Gabitov V.F., Abramovich R.A. Standardization of new antifungal hydrogels // Pharmacy – 2004. N 4. P. 32-34. (in Russian)

5. State Pharmacopoeia of the USSR. XI ed. Issue 2. M.: Medicine, 1990. P. 210-225. (in Russian)

6. Akovbyan V.A. Composite preparations for external treatment: the advantages are obvious // Clin.derm.and vener. 2003. N. 4. P. 50-53. (in Russian)

7. Anurova M.N., Bakhrushina E.O., Demina N.B. Review of modern gelling agents in the technology of dosage forms // Chemical Pharmaceutical Journal. 2015. N. 9. P. 39-46. (in Russian)

8. Development of composition and technology of dermatological gel of dry extract of Boswellia Serrata / M.N. Anurova [et al.] // Bulletin of VSU, series: Chemistry. Biology. Pharmacy. 2016. N. 4. P.127-132. (in Russian)

9. Anurova M.N., Bakhrushina E.O., Demina N.B. Development of the composition and technology of oral prolonged nimesulide gel // Pharmacy. 2016. Vol. .65(6). P. 30-34. (in Russian)

10. Zufarova Z.Kh., Yunusova Kh.M. The study of the stability of the gel «GLILAGIN» // Proceedings of the international scientific-practical conf. «The current state of the pharmaceutical industry: problems and prospects.» Tashkent, 2020. P. 87-88. (in Russian)

11. Zufarova Z.Kh., Rakhmatov Sh., Matchonov O. Development of the composition and technology of dental gel based on plant materials // International Journal of Pharmaceutical Research. 2020. Vol. 12(2). P. 763-768. doi.org/ ijpr/2020.12.02.0117

SUMMARY

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСМОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ПРОТИВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ

Зуфарова З.Х., соискатель 1-го года обучения
Руководитель: **Юнусова Х.М.**, докт. фарм. наук, проф.
Ташкентский фармацевтический институт, 100015, г.
г. Ташкент, ул. Айбека, 45, Республика Узбекистан
E-mail: zuhra_77@mail.ru

Современная медицина обладает широким арсеналом лекарственных средств противовоспалительного действия, однако наряду с благоприятным фармакологическим действием и достаточной степенью клинической эффективности, все они вызывают ряд нежелательных побочных реакций. В связи с этим актуальным является поиск высокоэффективных лекарственных средств, подавляющих воспаление и обладающих минимальными побочными реакциями, мягкие лекарственные формы в виде гелей в последнее время все чаще используют в медицинской практике. В работе приведены исследования по изучению осмотической активности гелей для подбора состава оптимальной мягкой лекарственной формы.

Ключевые слова: *фитопрепараты, гель на основе растительного сырья, мазь, гель, линимент, состав, основа, технология получения, методы анализа.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Каминный А.И. Терапия антиагрегантными и нестероидными противовоспалительными препаратами. Соотношение риска и пользы // Лечащий врач. 2009. N 7. С. 49-54.
2. Постановления Президента Республики Узбекистан №ПП–4554 от 30.12.2019 г. «О дополнительных мерах по углублению реформ в фармацевтической отрасли республики Узбекистан».
3. Слюсар О.И., Калмыкова Т.П., Керманиан Ф. Изучение влияния различных факторов на структурно-механические и технологические характеристики гидрогелевых основ полимера акриловой кислоты // Хим.-фарм.журнал. 2003. N 5. С. 51-53.
4. Папазова Н.А., Габитов В.Ф., Абрамович Р.А. Стандартизация новых противогрибковых гидрогелей // Фармация. 2004. N 4. С. 32-34.
5. Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып.2. М.: Медицина,1990. С. 210-225.
6. Аковбян В.А. Композиционные препараты для наружного лечения: преимущества очевидны // Клин. Дерм .и венер. 2003. №4. С. 50-53.
7. Анурова М.Н., Бахрушина Е.О., Демина Н.Б. Обзор современных гелеобразователей в технологии лекарственных форм // Химико-фармацевтический журнал. 2015. N 9. С. 39-46.
8. Разработка состава и технологии дерматологического геля сухого экстракта босвелии пильчатой / М.Н. Анурова [и др.] // Вестник ВГУ: серия: Химия. Биология. Фармация. 2016. N 4. 127-132.
9. Анурова М.Н., Бахрушина Е.О., Демина Н.Б. Разработка состава и технологии перорального пролонгированного геля нимесулида // Фармация. 2016. Т. 65. N6. С.30-34.
10. Зуфарова З.Х., Юнусова Х.М. Исследование стабильности геля «ГЛИЛАГИН» // Матер.международной науч.-практ.конф. «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы». Ташкент. 2020. С. 87-88.
11. Zufarova Z.Kh., Rakhmatov Sh., Matchonov O. Development of the composition and technology of dental gel based on plant materials // International Journal of Pharmaceutical Research. 2020. Vol. 12(2). P. 763-768. doi.org/ ijpr/2020.12.02.0117

УДК 615.322

PERSPECTIVE OF APPLICATION OF BROWN ALGAE (LAMINARIA SACCHARINA ET FUCUS VESICULOSUS) AS RAW MATERIALS FOR PHARMACEUTICAL SUBSTANCES

Ilinykh S.I., 1st year student, **Zhulyaeva U.A.**, 1st year student
Scientific adviser: **Efimova A.A.**, senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: sofiya.ilinyh@spcpu.ru

Kelps, or Phaeophycaea, are widespread within northern latitudes, consequently, the question of application of the most universal species in terms of biochemical and population composition, namely Fucus vesiculosus (Fucus v.) and Laminaria saccharina (Laminaria s.), as perpective pharmaceutical raw material located in Gulf of Finland. After analysis of different values the investigators concluded, that these species have great potential to be actively used in pharmaceutical industry as there are

enough prerequisites connected with their distribution, chemical composition and approaches of obtaining of biologically active substances under consideration.

Keywords: *Fucus vesiculosus, Laminaria saccharina, pharmaceutical raw material, morphology, distribution in the Baltic Sea, biochemical composition, extraction.*

Introduction. Nowadays a huge quantity of medicinal plants is known. They are used on industrial levels due to their high content of biologically active substances (BAS). This fact is also confirmed by trust of patients to remedies made of plants. In recent years, the interest to seaweeds, which are characterised by unique compositions, has grown highly. The aim of this research is consideration of two species of kelp, Fucus v. and Laminaria s., as justified and profitable raw materials for a creation of medicines. To achieve this goal it was necessary: 1) to explore morphological features of Fucus v. and Laminaria s. to identify correctly the subjects of the research; 2) to assess possibility of these species to be widely distributed within Gulf of Finland depending on their geobotany in the Baltic Sea; 3) to explore BAS of Fucus v. and Laminaria s. and 4) to review the methods of their obtaining.

The previous works examined the above issues separately. This paper reviews the integration of accumulated data to determine the possibility to use explored species in pharmaceutical industry.

Main part. Fucus vesiculosus is characterised by a branded thallus, which grows to 30-35 cm and has an olive-brown colour. Attaching to a substrate is provided by a conical holdfast. Fronds are belt-shaped, with dichotomous branching, smooth margin and flatted middle rib. The lower part of thallus is cylindrical. On the fronds along the middle rib almost spherical air bladders are formed, which are usually paired one, and on the top of the fronds – receptacles, forming organs of sexual reproduction. (Figure 1).

Figure 1. Fucus v.

Figure 2. Laminaria s.

Description of Laminaria s.: thallus (Plur.) grow 10-110 cm length, 5-40 cm width and constitute the tight, leathery, wrinkled parts of the leaf-shaped fronds with a yellowish brown colour and mucous passages and lacunae, less frequently – a single plate. The margins are most often wavy. Middle of the plate is thick, smooth and wavy. Near the plate stipes is flat, near the base – round, ending by rhizoids. (Figure 2)

Specifics of distribution within the Baltic Sea

The explored species relate to class Brown algae (Phaeophyceae) and are marine plants. They got to the Baltic Sea about 7 thousand years ago through, first of all, Kattegat Strait, where salty water of The Atlantic Ocean mixes with fresh water of Danish and Swedish rivers. In addition to clear evolutionary relationships among brown algae, that place is perfect to compare degree of fitness of evolutionary marine kelps to: 1) progressive desalination of water; 2) different distances from the coastline.

Kelps, as Green algae, maintain comparative sustainability within the limits of the changes in salinity of the Baltic Sea and Kattegat Strait (24-35% of the total biomass of Baltic seaweeds) [1]. As the majority of algae, Fucus v. prefers suitable rocky substrata for attachment near coastlines. In accordance with data of Russian specially protected areas (OOPT), Fucus v. is classified as endangered because of two main reasons: 1) the fact of fitness to water salinity less than 2-2,5% was not proved, it is especially important in conditions of global warming; 2) this species (Sing) is highly sensitive to degree of eutrophication and water pollution, this problem has become very actual in Gulf of Finland during last several years [2, 3]. As for desalination, using empirical way it was shown that, although the fact of progressive decrease of salinity level of the Baltic Sea, Fucus v. has high survival potential because of wide genetic diversity [4]. Laminaria s., in contrast to Fucus v., is one the most widespread kelp within northern latitudes, i.e. its discovering in many regions, including Gulf of Finland, should not be difficult.

Biologically active substances of Fucus v.

The kelp contains proteins, free amino acids, mannitol, iodine, a great variety of phenols, polysaccharides, e.g., fucoidans and alginic acid, phlorotannins, and also high-valued molecules such as lipids. Particularly, the mannitol and fucoidans content of kelps, which were harvested in the region of Gulf of Finland, equals the same rates of Fucus v. from the White Sea [5]. This data lets the populations of Gulf of Finland to be seen as profitable source of BAS.

After careful review it became clear that substances of Fucus v. find various usage. Here are noticed only some of them, according to the perspective of their investigation. The first, presence of the high content of phlorotannins with radical scavenger activity and chelate complexes of iron (III) and copper allows its extract to inhibit lipid oxydation initiation by radicals. In addition, water, in comparison with acetone, showed more efficiency since not only termo- but also photooxydation processes were prevented [6]. Moreover, high content of carotenoids could inhibit reactions of free radicals, which additively negatively affects the formation of peroxydes. The action of these compounds could increase the duration of storage of lipid-based medicines and prevent appearance of rancidity substances. The only one disadvantage of the usage of the substances above is found – during the storage the medicine gets creamy brown colour connected with activity of chelate complexes and carotenoids, however, this disadvantage is only for aesthetic concerns.

The next, one of the most various group of BAS of Fucus v. are fucoidans. Fucoidans are a family of sulfated homo- and heteropolysaccharides of brown algae, whose composition includes L-fucose residues. They possess a wide range of physiological effects: anticoagulant, antithrombotic, antiviral, antitumor, and immunomodulating; acting as antioxidizing agents in food additives and decreasing the lipid level in the blood; the positive effects in the prevention of gastritis and pathologies of the liver and urinary system [7]. The main functions of fucoidans in algae is building of cell walls and detoxification of heavy metals by creation of neutral bind ions. Genus Fucus has a specific feature, which differs it from the other kelps: Fucus zygotes start synthesizing fucoidans immediately after fertilization, so fucoidans in the cell walls of 1 day-old of Fucus v. embryos constitute up to 20% of the total carbohydrates.

Polyunsaturated fatty acids (PUFA) represent equantlly valuable healing effects as they are characterised by prevention of extremely widespread diseases, namely cardiovascular diseases and cancer. These BAS were discovered in Fucus v. too, constituting 1-5% of total weight of dry mass [8]. Qualitative and quantitative compositions of polar lipids of Fucus v. were researched. The results of investigation showed that in winter (February), the effects of lower temperature and lower light exposition period lead to the increase of polyunsaturated esterified FA majorly of glycolipids, some phospholipid and DGTA betaine lipid classes. Some of 18 obtained PUFA are relevance for the anti-inflammatory, antitumoral and antimicrobial properties.

All of these facts foster the use of F. vesiculosus as a suitable raw material of active ingredients.

Biologically active substances of Laminaria s.

Laminaria s. is a source of dietary fibres (alginates, carrageenan, fucoidan, laminarin, porphyran, ulvan) and other carbohydrates (glucose, mannitol, xylose, furose, uronic acids), peptides, omega-3 fatty acids, carotenoids, phenolics, vitamins, minerals and antioxydants [8]. The content of laminarin and mannitol is variable, depending on the day length [9]. Aliginate does not depend on this factor and maintains its relatively constant concentration throughout life of thallus [10]. This BAS is used as thickening agents, due to its pronounced adsorbing property it founds a usage in medical practice for cleansing of gastrointestinal tract to neutralise accumulated toxins and heavy metals.

Equally important is that Laminaria s. contains all essential amino acids and some non-essential amino acids and their amount varies over the season having the highest rates in deep-water thallus (8 m). In contrast, polysaccharides and alcohols are most accumulated in June thallus growing at 3 m. Cellulose and laminarin are hydrolysed, i.e. they are the source of simple carbohydrates. Noteworthy, laminarin also is known for its antitumour, anti-apoptotic, anti-inflammatory, anticoagulant and antioxidant activity.

One more compound to be noticed is certainly digestible iodine as concentration of this halogen exceeds its content in seafood in 300-13000 times.

Moreover, in natural conditions Laminaria s. exists in symbiotic relationships with many strains of bacteria: Gram-positive divisions Firmicutes and the Actinobacteria as well as members of the Gram-negative Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, and Gammaproteobacteria [11]. The last group can compete with Actinomycetales because compounds they secrete have an antibiotic effect too. There are indications, that isolated strains could inhibit the growth of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and be used against members of clinically relevant Candida species, like Candida albicans.

Extraction of biologically active substances of Fucus v.

The extract of phlorotannins metioned above sustains in changing environmental factors (ultraviolet radiation and high temperature) specifically in water solvent. The process of obtaining of the extract is relatively simple as phlorotannin due to many hydroxy-groups dissolves in polar solvent (water). Furthermore, this type of extraction is nit only the simplest, but also profitable and comparatively effective way of obtaining substances [12]. To optimize manufacturing process two methods are commonly used: 1) increase of temperature and 2) time of extraction. In addition, this kind of extraction is applicable to all water-soluble substances of Fucus v., namely 12,4-91,5% of fibres, 1-11% of proteins and 23-36% of minerals.

To get an abundant content of focidan in water extract the modest effect on temperature level should be followed. The same recommendation should be taken into account in case of extraction of fucoidan in acid conditions, optimal variant is to extract at a temperature of 90 °C during 4 hours.

Iodine is obtained by water extraction, a temperature of process varies from 75 to 120 °C, the time remaines the same as in the case of fucoidan. The temperature interval has a practical value: 1) halogen containing molecules are released gradually, so excess of bioactive substances will not be reached too fast; 2) increase of release of the other water-soluble BAS.

Turning back to the obtaining of phlorotannin, this process has two specific features: the first, this compound as a phenolic one is better soluble in mixtures of acetone, methanol or ethanol with water, however, for safety reasons application of these solvents reduces (exemption is ethanol which is the base of tinctures); the second, phlorotannin, reacting with molecular oxygen, (the air conditions) undergo structural changes, in other words it is not possible to determine the yield theoretically. Moreover, temperature factor influences on yield level non linearly, according to different databases higher content of phlorotannin is obtained at the temperature of 25-50 °C and time factor does not influence the process.

For the simultaneous extraction of hydrophilic and lipophilic compounds from Fucus v. natural deep eutectic solvents (NADES) are used [13]. The method is based on investigation of the third liquid phase in plants, which has a phenomenal dissolving power for small molecules and biopolymers with low or non-water solubility – metabolites of living cells, in particular, sugars, organic acids, ammonium, and phosphonium salts. The solubility of the these compounds in the NADES significantly increases due to the mechanism of formation of hydrogen bonds with solutes. This method allows us to get the mixture of valuable substances: hydrophilic ascorbic acid, phlorotannins, and lipophilic fucoxanthin (specific pigment of kelps, which possesses antioxidative properties). As a result, the efficiency of extraction based on NADES for 60 min was, for different compounds, 1,1–2,7 folds higher than the conventional extraction (maceration with stirring at 60 °C).

Extraction of biologically active substances of Laminaria s.

Extracting laminarin, a specific low-molecular-weight polysaccharide of kelps, the fact that both water soluble and insoluble forms of laminarin exist depending mainly on the level of branching should be remembered [14]. Highly branched laminarin is soluble in both cold and hot water. However, laminarin with low level of branching is soluble only in hot water. The main stages of the extraction process include: 1) grinding, 2) precipitation in an acid or basic medium, 3)ultrafiltration and 4) dialysis. An exact method should be chosen according to the aim and technical support of a researcher. The conventional extraction in water solvent at the temperature of 50-70 °C allows to obtain sufficient level of the clean product. More intensive heating results the degradation of laminarin, so 70 °C is the upper bound for the process of extraction. In addition to water extraction, hot and mild acidic conditions are also effective (cold or hot hydrochloric or sulphuric acid). Separation of laminarin is achieved by dialysis since a majority of carbohydrates of a kelp is characterised by high molecular weight. If there is the necessity to obtain sulfated polysaccharides, which can provide antitumour effect, even in case of melanoma, the initial stages are similar to extraction of laminarin. The process starts to differ since the stage of cleansing of sulfated carbohydrates fractions and is the removing of endotoxin contamination from fucoidan fractions by the endotoxin removing gel [15].

Conclusion. The issue consists of morphological characteristics of Fucus vesiculosus and Laminaria saccharina, so the objects of the investigation were clearly separated from any other kelp. Analysing ecological linkages and evolutionary fitness we came to conclusion that these species have high chances on further survival and and cultivation for the needs of pharmacy industry because of, on the one hand, acceptable level of salinity and fitness to progressive change of this parameter, on the other hand, availability of nature reserves to prevent impact of biological and anthropogenic pollution. As for aspects of biochemical compositions, the most effective ones were only reflected, so this field remains actual for further research. Nevertheless, this work showed a great variety of biologically active substances and their influence on physiological processes. Methods of obtaining of perspective raw materials, most frequently, boil down to extraction in neutral or acidic media in combination with temperature effect to reach abundant level of yield. Incorporating reviewed datas, the researched objects are to become valuable pharmaceutical raw materials which can compete chemical medicines and gain interest of wide range of patients.

REFERENCES

1. Middelboe A.L., Sand-Jensen K., Brodersen K. Patterns of macroalgal distribution in the Kattegat-Baltic region //A Journal Phycologia. 1997. Volume 36 (3). P. 208-219

2. Fucus vesiculosus in the Red Book of the Leningrad Oblast [Internet]. URL: http://oopt.aari.ru/rbdata/45/bio/7638 (Accessed: 27/02/2022)

3. Eutrophication status of the North Sea, Skagerrak, Kattegat and the Baltic Sea in present and future climates: A model study / D.S. Morten [et al.] // Journal of Marine Systems. 2014. Vol. 132. P. 174-183

4. Johansson D. Evolution of the brown algae Fucus radicans and F. vesiculosus in the Baltic Sea // Doctoral Thesis, Department of Biological and Environmental Sciences University of Gothenburg. 2013. [Internet]. URL: https://gupea.ub.gu.se/handle/2077/32468 (Accessed: 27/02/2022)

5. Klindukh M.P., Obluchinskaya E.D. Comparative research of the chemical composition of the brown algae Fucus vesiculosus and Ascophyllum nodosum // Herald of MSTU. 2013. Vol. 16(3). P. 486-470 (In Russian)

6. Hermund D.B. Extraction, characterization and application of antioxidants from the Nordic brown alga Fucus vesiculosus // PhD thesis, National Food Institute, Technical University of Denmark. 2016. P. 94-104

7. Skriptsova A.V. Fucoidans of Brown Algae: Biosynthesis, Localization, and Physiological Role in Thallus // Russian Journal of Marine Biology. 2015. Vol. 41(3). P. 148-152

8. Lipidomic Signatures Reveal Seasonal Shifts on the Relative Abundance of High-Valued Lipids from the Brown Algae Fucus vesiculosus / E. Da Costa [et al.] // A Journal Marine Drugs. 2019. Vol. 17(335). P. 1-19

9. Praveen Kumar Sappati, Balunkeswar Nayak, G. Peter VanWalsum, Owen Thomas Mulrey: Combined effects of seasonal variation and drying methods on the physicochemical properties and antioxidant activity of sugar kelp (Saccharina latissima) // Journal of Applied Phycology. 2018. Vol. 31. P. 1311–1332 [Internet]. URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-018-1596-x (Accessed: 27/02/2022)

10. Seasonal and depth variations in the chemical composition of cultivated Saccharina latissima / S. Sharmaa [et al.]// A Journal Algal Research. 2018. Vol. 32. P. 107-112 [Internet]. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii.. (Accessed: 27/02/2022)

11. Diversity of Antibiotic-Active Bacteria Associated with the Brown Alga Laminaria saccharina from the Baltic Sea / J. Wiese [et al.] // A Journal Mar Biotechnol (NY). 2009. Vol. 11(2). P. 287-300. doi: 10.1007/s10126-008-9143-4.

12. Water Extraction Kinetics of Bioactive Compounds of Fucus vesiculosus / R.M. Ferreira [et al.] // A Journal Molecules. 2019. Vol. 24(18). P. 3408. https://doi.org/10.3390/molecules24183408

13. Efficacy of Natural Deep Eutectic Solvents for Extraction of Hydrophilic and Lipophilic Compounds from Fucus vesiculosus / E.D. Obluchinskaya [et al.] // A Journal Molecules. Vol. 26(14). P. 4198. doi: 10.3390/molecules26144198.

14. Kadam S.U., Tiwari B.K., O'Donnell C.P. Extraction, structure and biofunctional activities of laminarin from brown algae // International Journal of Food Science and Technology. 2014. Vol. 50(1). P. 24-31. https://doi.org/10.1111/ijfs.12692

15. Fucans, but Not Fucomannoglucuronans, Determine the Biological Activities of Sulfated Polysaccharides from Laminaria saccharina Brown Seaweed / D.O. Croci [et al.] // PLoS ONE. 2011. Vol. 6(2). P. 2 https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017283

SUMMARY

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ, НА ПРИМЕРЕ LAMINARIA SACCHARINA ET FUCUS VESICULOSUS, В КАЧЕСТВЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО СЫРЬЯ

Ильиных С.И., студ. 1 курса **Жуляева Ю.А.**, студ. 1 курса
Руководитель: **Ефимова А.А.**, старший преподаватель, НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: sofiya.ilinyh@spcpu.ru

Бурые водоросли имеют широкий ареал обитания в северных широтах, за счёт чего встаёт вопрос об использовании наиболее универсальных по биохимическому и популяционному составу виды Fucus vesiculosus (Fucus v.) и Laminaria saccharina (Laminaria s.) в качестве перспективного фармацевтического сырья, локализованного в области Финского залива. Рассмотрев различные показатели, авторы пришли к выводу, что данные виды имеют огромный потенциал для активного применения в фармацевтической промышленности, связанный с особенностями их распространения, химического состава и методов получения рассматриваемых БАВ.

Ключевые слова: *Fucus vesiculosus, Laminaria saccharina, фармацевтическое сырьё, морфология, распространение в Балтийском море, биохимический состав, экстракция.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Middelboe A.L., Sand-Jensen K., Brodersen K. Patterns of macroalgal distribution in the Kattegat-Baltic region //A Journal Phycologia. 1997. Volume 36 (3). P. 208-219

2. Fucus vesiculosus in the Red Book of the Leningrad Oblast [Internet]. URL: http://oopt.aari.ru/rbdata/45/bio/7638 (Accessed: 27/02/2022)

3. Eutrophication status of the North Sea, Skagerrak, Kattegat and the Baltic Sea in present and future climates: A model study / D.S. Morten [et al.] // Journal of Marine Systems. 2014. Vol. 132. P. 174-183

4. Johansson D. Evolution of the brown algae Fucus radicans and F. vesiculosus in the Baltic Sea // Doctoral Thesis, Department of Biological and Environmental Sciences University of Gothenburg. 2013. [Internet]. URL: https://gupea.ub.gu.se/handle/2077/32468 (Accessed: 27/02/2022)

5. Klindukh M.P., Obluchinskaya E.D. Comparative research of the chemical composition of the brown algae Fucus vesiculosus and Ascophyllum nodosum // Herald of MSTU. 2013. Vol. 16(3). P. 486-470 (In Russian)

6. Hermund D.B. Extraction, characterization and application of antioxidants from the Nordic brown alga Fucus vesiculosus // PhD thesis, National Food Institute, Technical University of Denmark. 2016. P. 94-104

7. Skriptsova A.V. Fucoidans of Brown Algae: Biosynthesis, Localization, and Physiological Role in Thallus // Russian Journal of Marine Biology. 2015. Vol. 41(3). P. 148-152

8. Lipidomic Signatures Reveal Seasonal Shifts on the Relative Abundance of High-Valued Lipids from the Brown Algae Fucus vesiculosus / E. Da Costa [et al.] // A Journal Marine Drugs. 2019. Vol. 17(335). P. 1-19

9. Praveen Kumar Sappati, Balunkeswar Nayak, G. Peter VanWalsum, Owen Thomas Mulrey: Combined effects of seasonal variation and drying methods on the physicochemical properties and antioxidant activity of sugar kelp (Saccharina latissima) // Journal of Applied Phycology. 2018. Vol. 31. P. 1311–1332 [Internet]. URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-018-1596-x (Accessed: 27/02/2022)

10. Seasonal and depth variations in the chemical composition of cultivated Saccharina latissima / S. Sharmaa [et al.]// A Journal Algal Research. 2018. Vol. 32. P. 107-112 [Internet]. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii.. (Accessed: 27/02/2022)

11. Diversity of Antibiotic-Active Bacteria Associated with the Brown Alga Laminaria saccharina from the Baltic Sea / J. Wiese [et al.] // A Journal Mar Biotechnol (NY). 2009. Vol. 11(2). P. 287-300. doi: 10.1007/s10126-008-9143-4.

12. Water Extraction Kinetics of Bioactive Compounds of Fucus vesiculosus / R.M. Ferreira [et al.] // A Journal Molecules. 2019. Vol. 24(18). P. 3408. https://doi.org/10.3390/molecules24183408

13. Efficacy of Natural Deep Eutectic Solvents for Extraction of Hydrophilic and Lipophilic Compounds from Fucus vesiculosus / E.D. Obluchinskaya [et al.] // A Journal Molecules. Vol. 26(14). P. 4198. doi: 10.3390/molecules26144198.

14. Kadam S.U., Tiwari B.K., O'Donnell C.P. Extraction, structure and biofunctional activities of laminarin from brown algae // International Journal of Food Science and Technology. 2014. Vol. 50(1). P. 24-31. https://doi.org/10.1111/ijfs.12692

15. Fucans, but Not Fucomannoglucuronans, Determine the Biological Activities of Sulfated Polysaccharides from Laminaria saccharina Brown Seaweed / D.O. Croci [et al.] // PLoS ONE. 2011. Vol. 6(2). P. 2 https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017283

УДК 31:316.77

PRACTICAL USE OF A FOREIGN LANGUAGE AS A FACTOR IN INCREASING THE MOTIVATION FOR LANGUAGE LEARNING AMONG NON-LINGUISTIC UNIVERSITY STUDENTS DURING THE COVID-19 PANDEMIC

Mishina P.A., 2nd year student
ORCID: 0000-0002-7063-3300
Scientific adviser: **Zhidkova N.V.**, senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: polina.mishina@spcpu.ru

This study was planned to reflect changes that have occurred within the educational system due to the COVID-19 pandemic restrictions. To this end, educational motivation will be increased and focused on the importance of a practical approach to learning a foreign language in other countries as a factor that stimulates language learning motivation of students. For this purpose, the author shares some personal experience gained in projects as a pharmacy student.

Keywords: *motivation, foreign language, practical use, pandemic, experience, GCSC.*

Introduction. The most difficult problem faced by all students in Russia is online learning and lack of motivation to study foreign languages. «Motivation plays an important role in the Foreign Language Learning process because it provides the first push to initiate a successful language learning process» [1, p.37]. The borders are closed. The pandemic changed the way we communicate. Mostly, social interaction between students is through the Internet as a consequence distance learning has become the link between the students and the university. «One of the examples of motivation can be a desire to correspond with foreigners. In order to be able to correspond with them you should have a good vocabulary, grammar accuracy and so on. Learners who study a language with the aim of better understanding a culture, language, and society are integratively motivated» [2, p.127]. As the result, motivation of students has reduced and career guidance has become a very important issue

For this purpose, the following specific objectives were pursued:

- to do a research how COVID-19 has affected pharmacy students and their motivation
- to take part in Global Case Study Challenge (GCSC)
- to get acquainted with foreign students from different countries

The findings:

As a result, 10 students who participated in this challenge were motivated more than other students. In addition, the participants were strongly motivated to continue learning English.

Materials:

- Interviews of students and survey at the Faculty of Pharmacy;
- Literature review in this area for the period 2006-2021 (E-LIBRARY).

Methods:

- Analyzing published studies on the subject of motivation during distance learning;

• Collecting information in SPCPU and making the issue of motivational factor development in the linguistic sphere;
• Obtaining information among 10 students and conducting qualitative analysis to identify their opinion;
• Interviewing the students to determine their motivation to learn English during the COVID-19 pandemic.

Main part. The research was conducted among non-linguistic students of the Faculty of Pharmacy. The key aspect is based on the following personal intentions of students.

Then each student was interviewed before and after their participation in GCSC. There is a big difference in their answers.

A survey among GCSC participants conducted by using Google Forms (Fig.1) have shown the following results:

• 8 out of 10 students answered that they were sure about their increasing motivation in learning English;
• 2 out of 10 answered that they did not agree with the statement that COVID-19 improved their motivation;
• 7 out of 10 students chose to practice English with foreign students as the main motivating factor;
• 3 out of 10 students chose to go abroad as the main motivating factor;
• 10 out of 10 would like to take part in this challenge

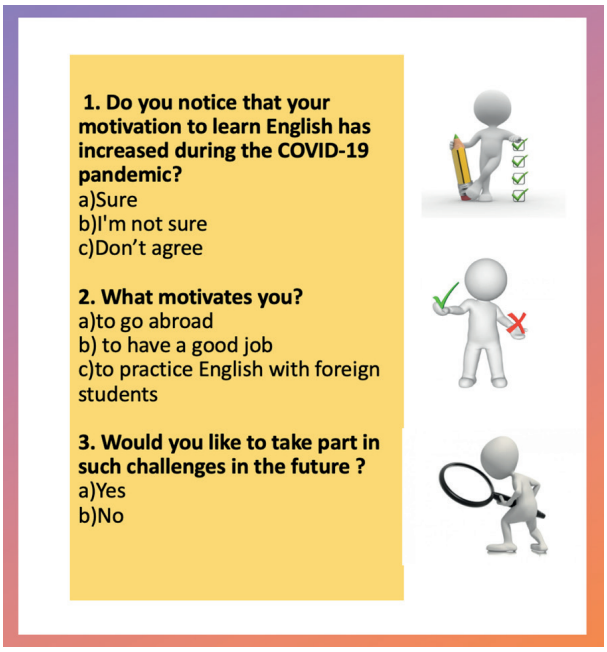


Figure 1. «Questions for analysis»

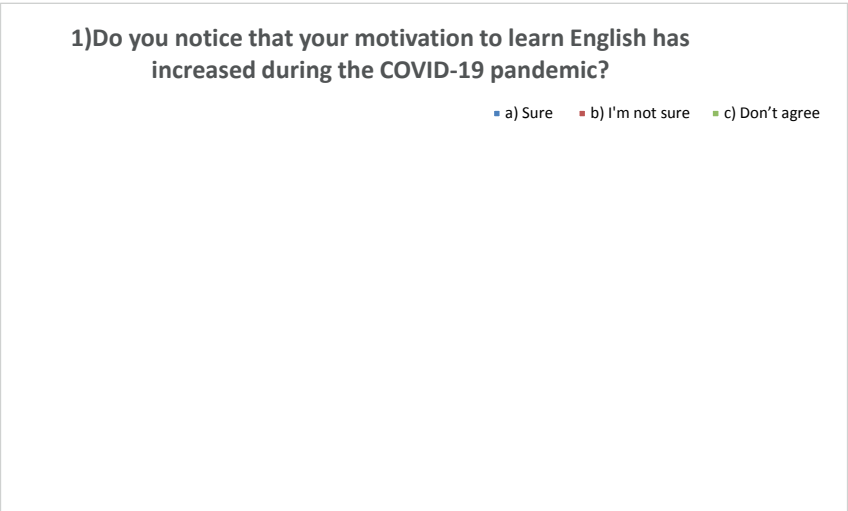


Figure 2. «Result of question № 1 before the GCSC»

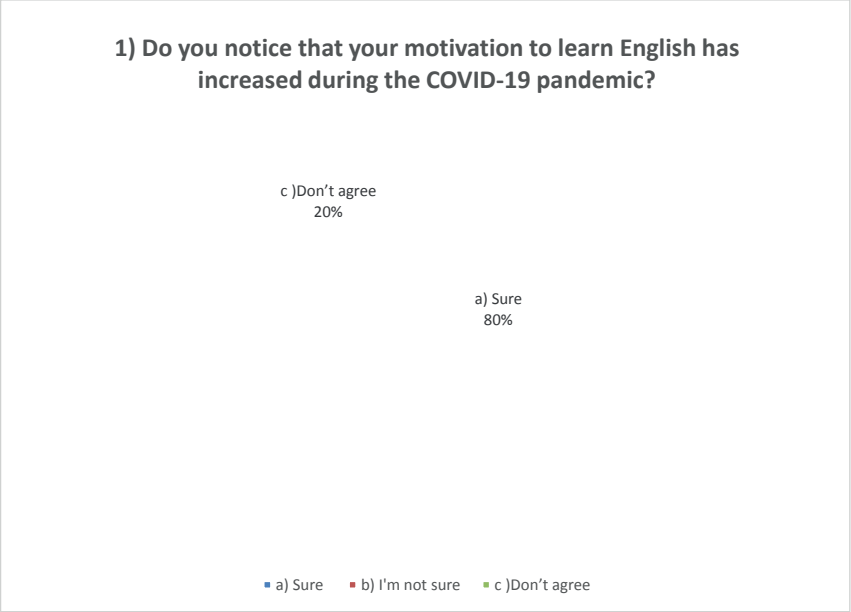


Figure 3. «Result of question № 1 after the GCSC»

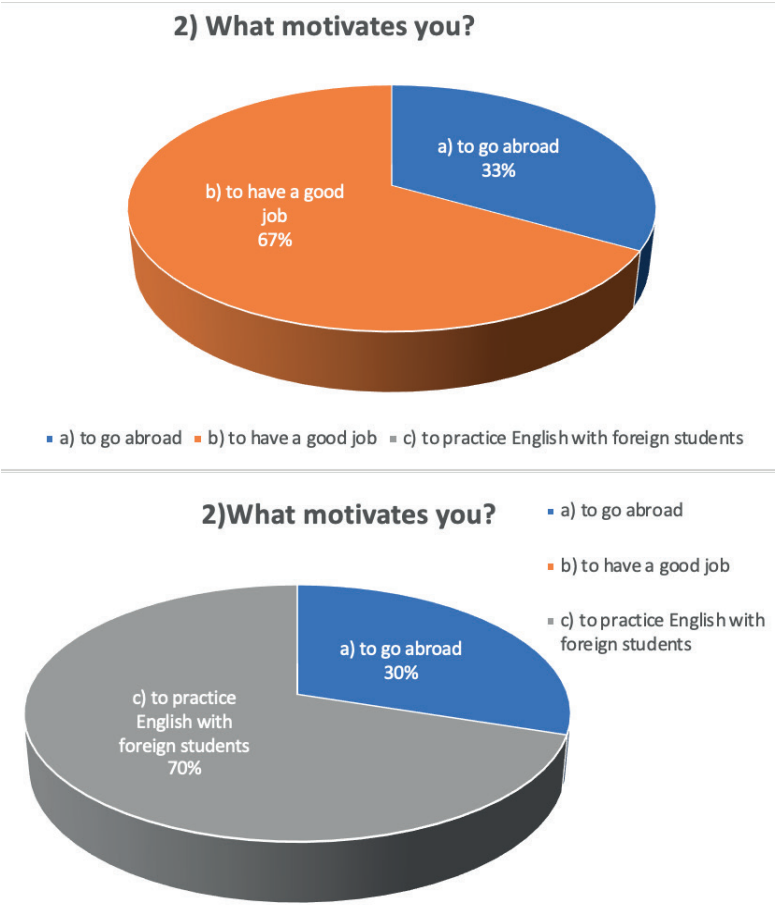


Figure 4. «Result of question № 2 before and after the GCSC»

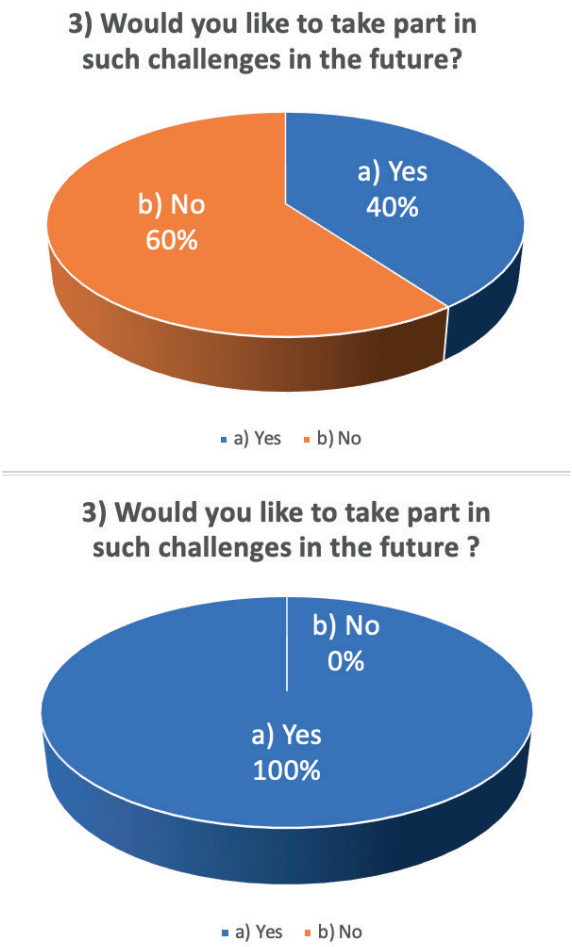


Figure 5. «Result of question № 3 before and after the GCSC»

Conclusion. According to our survey, a strong influence of COVID-19 on the motivation of pharmacy students to study foreign languages was revealed. Moreover, scientific society should provide more opportunities to students to take part in the challenges like GCSC. As a result, our findings suggest that cooperation of students in SPCPU and foreign students from different countries may be used as a motivation factor in language learning.

«Perhaps the most important way to increase motivation is to use English using English to read a good book, understand a song, watch an interesting movie, get an answer to a computer problem, exchange emails with a native speaker, the more he uses English, the more he wants to use it. This is good, because using English is learning English» [3, P.46].

REFERENCES

1. Abdurakhimova Sh.A. Influence of motivation on the process of teaching a foreign language // Science and education today. 2020. N 6-2(53). P. 37-38. (in Russian)

2. Zainalova M.A. Increasing motivation in learning English // Bulletin of the Bishkek University for the Humanities. 2014. N 1 (27). P. 127-129. (in Russian)

3. Usarov F.Yu. The meaning of attitude and motivation in language learning // Science, technology and education. 2021. N 7 (82). P. 46-48. (in Russian)

SUMMARY

ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНОСТРАННОГО ЯЗЫКА КАК ФАКТОР ПОВЫШЕНИЯ МОТИВАЦИИ СТУДЕНТОВ НЕЯЗЫКОВОГО ВУЗА К ЕГО ИЗУЧЕНИЮ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ

Мишина П.А., студ. 2 курса
Руководитель: **Жидкова Н.В.**, старший преподаватель английского языка,
НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: polina.mishina@spcpu.ru

Данное исследование было спланировано таким образом, чтобы отразить изменения, произошедшие в системе образования в связи с ограничениями, связанными с пандемией COVID-19. С этой целью будет повышена образовательная

мотивация и сделан акцент на важности практического подхода к изучению иностранного языка в других странах как фактора, стимулирующего мотивацию студентов к изучению языка. С этой целью автор делится некоторым личным опытом, полученным в проектах в качестве студента фармацевтического факультета.

Ключевые слова: *мотивация, иностранный язык, практическое использование, пандемия, опыт, GCSC.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдурахимова Ш.А. Влияние мотивации на процесс обучения иностранному языку // Наука и образование сегодня. 2020. N 6-2(53). С. 37-38.

2. Зайналова, М. А. Повышение мотивации при изучении английского языка // Вестник Бишкекского гуманитарного университета. 2014. N 1(27). С. 127-129.

3. Юсаров Ф.Ю. Значение установки и мотивации в изучении языка // Наука, техника и образование. 2021. N 7 82. С. 46-48.

УДК 61:615:1

ANTISEPTICS. THEIR RELEVANCE AND USEFULNESS IN THE FIGHT AGAINST COVID-19 INFECTION

Polyakova V.K., Tikhomirov V.A., 1st year students
Scientific adviser: **Efimova A.A.**, senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popova St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: vyacheslav.tihomirov@spcpu.ru
valeriya.polyakova@spcpu.ru

Antiseptics have actively entered our lives since the beginning of the pandemic in 2020. Antiseptics and disinfectants are very important in medical practice and people's daily lives. During a pandemic, we simply need them to maintain our health. Currently, there is a huge number of different antiseptics. We were interested in the relevance of the use of antiseptics among the 1st year students of the Faculty of Pharmacy and their prevention in the fight against COVID-19. Today, due to the difficult epidemiological situation in Russia and in the world, it is difficult to imagine your life without hand treatment with an antiseptic. The purpose of our study is to conduct a survey among SPCPU students and find out what kind of antiseptics they use. And to draw a conclusion about the most effective type of antiseptic. We will also talk about the use of antiseptics in the fight against coronavirus infection.

Keywords: *antiseptics, prevention, coronavirus.*

Introduction. Antiseptic is a Greek word that literally translates as «against putrefaction.» It is used in the fight against pathogenic bacteria, for example, in the area of an open wound of the skin.

According to the World Health Organization (WHO), hundreds of people die every day in the world from infections that are transmitted through contact with contaminated surfaces. To maintain hand hygiene and protect against pathogens of dangerous diseases, it is recommended to regularly use skin antiseptics.

Antiseptics are: against viruses, microbes, fungi, universal.

If you decide to buy an antiseptic, then first carefully study its composition. The drug may include many ingredients: alcohols, antibacterial components, plant extracts, chemicals, fragrances, thickeners, moisturizers, dyes, etc. All raw materials and the finished product are tested for the absence of unwanted impurities and compliance with safety standards. But personally, you may have an individual intolerance to some components, and this must be taken into account when choosing a suitable disinfectant.

To find out which antiseptics they choose and what means of preventing coronavirus infection students use, we have conducted a survey among 100 first-year students of the Faculty of Pharmacy.

Our survey included criteria such as:

- A form of antiseptic.
- What prevention methods do students use besides antiseptics?
- Do respondents use antiseptics in public places?
- Do they carry out processing of hands in principle?

The choice of the form of antiseptic is a matter of personal preference and ease of use. [1]

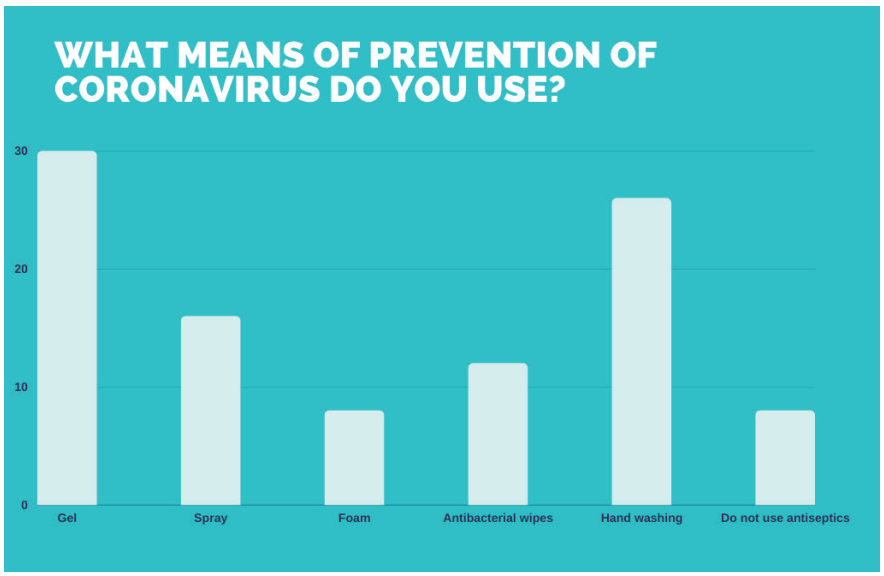


Figure 1. The choice of the form of antiseptic

At the end of the survey of one hundred respondents, we received the data that can be seen on the Figure 1:

• 30% use antiseptics in the form of a gel
• 26% prefer hand washing
• 16% use antiseptics in the form of a spray
• 12% use antibacterial wipes
• 8% use antiseptic foam
• 8% not used by any antiseptics

The most popular form among the respondents was the antiseptic in the form of a gel, in the second place was hand washing, and the third place was occupied by an antiseptic in the form of a spray.

We have conducted a detailed analysis of all forms of antiseptics and their chemical composition, concluding which antiseptic is most effective in preventing coronavirus and does not harm the skin of human hands. It should be noted that its effectiveness directly depends on the composition of the antiseptic.

In our article we want to consider Criteria for the classification of Disinfectants.

There are several criteria for dividing into groups. The first division is by type of release. They can be issued as:

• liquids;
• suspensions;
• powder;
• granules;
• gel;
• spray;
• napkins with impregnation;
• tablets

The second criterion – active substance which is the basis of disinfectants.

• Alcohol-based products are the most popular hand sanitizers (alcohol-based liquids are often used to decontaminate the skin before injections). Leave no residue, evaporate quickly, cheap (isopropyl alcohol, ethyl alcohol, propyl alcohol)

• Products based on quaternary ammonium compounds (QAC). Low toxicity and good cleaning properties. Effective against most strains of microbes. As part of an antiseptic, they help to eliminate the stickiness effect when applied.

• Means based on derivatives of guanidines (hexamethylene guanidine) Non-toxicity allows them to be used in the food industry. When applied to objects, they form a resistant layer.

• Means based on active oxygen (hydrogen peroxide) have no characteristic smell, low toxicity and are considered one of the safest for the environment.

• Means that release chlorine (chlorhexidine). Such compounds have a wide disinfecting effect.

Also important is the presence of glycerin and isopropyl myristate, which moisturize the skin of the hands. It is also possible to use flavorings as part of an antispective, but it is not recommended, as they dull the effect of the product.

Main part. We have analyzed the forms of antiseptics that participated in our survey:

Spray

Antiseptic spray is very practical and very popular. The product is easy to apply, quickly absorbed, and the smell of alcohol disappears instantly. Frequent use of alcohol-based sprays can dry out the skin. Make sure that the product contains moisturizing ingredients, such as glycerin, as well as quaternary salts, which will prevent skin stickiness. There are 20 ml pocket antiseptics on sale, which, thanks to a convenient dispenser, are highly economical in use compared to other forms of antiseptics.

Antiseptic gel

It dries the skin of the hands much less, but the stickiness of some types makes you want to immediately wash everything off or wipe it off with a napkin. Before buying, be sure to apply the product on your hands, it should be pleasant for you to use. The density of the gel varies depending on the preferences of the manufacturer and is usually determined by the type of packaging. The gel, like the spray, is also easy to apply, but it takes longer to rub.

Foam

The foam resembles soap – it is quickly absorbed, does not stick, the cost-effectiveness of using the product is higher than that of a gel, but less than that of a spray. As a rule, an antiseptic in this form does not contain alcohol.

Other coronavirus prevention measures used by the students interviewed:

Antiseptic wipes are a universal antiseptic. They can wipe both hands and various surfaces. They are simple and safe to use, but their effectiveness is much worse than that of other analogues. Napkins are not impregnated with alcohol, and therefore are not capable of killing either viruses or microbes.

Washing hands with soap – this seemingly simple and elementary procedure is currently considered the most effective prevention of COVID-19. Hands should be washed as often as possible, and this should be done within 40-60 seconds. If you wash your hands in a public place, turn off the faucet after washing your hands with the disposable towel you used to dry your hands with. It is recommended to use liquid soap, since microorganisms can remain on solid soap.

How to choose the most effective antiseptic in the fight against coronavirus infection?

It is worth drowning that antibacterial antiseptic is effective only against bacteria. Accordingly, in the fight against influenza, SARS or COVID-19, it will be useless. Therefore, here we simply choose a sanitizer that can destroy viral infections. It's easy to find out – just study the instructions (or product description if you buy online). Experts advise buying complex products with an antiseptic effect. They are equally effective against bacteria and viruses.

The alcohol content is also important. Hand sanitizer must contain at least 60% alcohol to effectively disinfect hands. Ethyl or isopropyl – it doesn't matter. If the content is less, then such a tool will not be able to destroy viruses. Those. will be absolutely useless. Therefore, here we choose a sanitizer with an optimal alcohol content– and you are guaranteed high-quality disinfection.

Why doesn't it make sense to use vodka? According to the WHO recommendation, 99.8% isopropyl alcohol is required for the preparation of antiseptics. Or ethanol 96%. In vodka, the concentration of ethanol is 40% – and this is known to everyone. So it won't give any results.

We propose the use of only the two most effective anti-coronavirus bases on which antiseptics are produced.

Alcohol-containing. It is considered the most effective in the fight against COVID-19. It also destroys other viruses and all kinds of microbes well. It is used not only to disinfect hands, but also to treat surfaces or things (for example, smartphones).

Aqueous with surfactants. Here the main component is chlorhexidine. This sanitizer does not dry the skin and has no smell. But sometimes it destroys the fatty layer in which the virus is enclosed. Action spectrum Each antiseptic has a certain action spectrum.

Based on the above factors about the application and composition, we have selected the most practical and non-harmful popular brands of antiseptics.

There is a wide range of antiseptics on the market, but not all of them are highly effective. Best of all, products from the following manufacturers have proven themselves:

Sterillium

Possesses the prolonged action. It is enough to apply the product on your hands, and in the next three hours the skin will be reliably protected from pathogenic microorganisms. Means are suitable for the treatment of hands and feet. Produced in bottles of different sizes. A manicurist can purchase a 5-liter canister with a margin. Antiseptics contain 75% alcohol. [2]

Figure 2. Sterillium

Sanitelle

Figure 3. Sanitelle

Domestic manufacturer representing a wide range of disinfectants. The master can purchase soap, bactericidal wipes, gels. The compositions contain 66.2% alcohol and various additives that neutralize its negative effects on the skin (vitamins, oils, extracts). [3]

Dettol

Like Sanitelle, it offers a wide range of products: gels, wipes, aerosols, soaps. The product contains 66% ethyl. Antiseptics can be used not only to treat hands, but also to disinfect surfaces (countertops, handles, railings). The composition includes numerous additives that soften the effect of alcohol and nourish the skin: extracts of chamomile, aloe, lavender, grape seeds. [4]

Dewel products are also highly efficient. The gels it makes can be used sparingly. Just one drop of antiseptic is enough to completely disinfect your hands. A narrow line of products of the domestic company Ecobreeze has proven itself well. Although the company does not offer the richest assortment, its antiseptics are universal and suitable for disinfecting hands, tools and work surfaces. You can also pay attention to the antiseptics from Forisept-Elect, Okteniman, Chisteya Lux, AHDEZ, Detoll, Edel, Desiptol and Maxi-Sept.

Figure 4. Dettol

Harm of antiseptics for skin microflora

When using antiseptics, you need to be careful, since most of them dry out the skin with frequent use, causing peeling. Usually, antiseptics, which do not contain additional emollient components, lead to such a consequence. In addition, it is not recommended to sanitize the hands with their help too often, since, together with pathogenic bacteria, they can suppress the action of the natural protective barrier of the skin.

Conclusion

As a result of our study we have come to the conclusion that antiseptics have a wide range of action and great importance in modern medicine, as well as have relevance in our daily lives. Unfortunately, people buy antiseptics of different chemical compositions in the hope to protect themselves from coronavirus infection, not knowing that only alcohol antiseptics with concentration of 60%-75% are effective against COVID-19 virus. Analysis of the results of our survey have allowed us to determine that the most relevant antiseptic agents among first-year pharmaceutical students are antiseptics in the form of spray and gel, as well as a large number of respondents wash their hands and use antiseptic wipes. We have also found the most effective form of antiseptic in the prevention of COVID-19 –the form of a spray.

Easy to use, it is used for hand disinfection, as well as for all types of surfaces. Ethanol alcohol content is 75%, has glycerin in its composition, it is such an antiseptic that meets these standards effectively fights against coronavirus infection.

REFERENCES

1. Kampf G., Kramer A. Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs// Clinical Microbiology Review. 2004. N 17. P. 863–893.

2. Zuev L.P. Recommendations for washing and antiseptic hands // St. Petersburg Educational and Methodological Center for Infection Control. 2006. P. 38. (in Russian)

3. Disinfection for the destruction of coronavirus: what disinfectants are most effective// Letter from Rospotrebnadzor. [Internet] URL: https://www.rospotrebnadzor.ru. (Accessed: 27/03/2022) (in Russian)

4. Krasilnikov A.P. Handbook of antiseptics. Minsk:»The Highest School», 1995. 367 p. (in Russian)

SUMMARY

АНТИСЕПТИКИ. ИХ АКТУАЛЬНОСТЬ И ПОЛЕЗНОСТЬ В БОРЬБЕ С ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19.

Полякова В.К., Тихомиров В.А., студ. 1 курса фармацевтического факультета
Научный руководитель: **Ефимова А.А.**, старший преподаватель старший преподаватель,
НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессор Попова, 14 лет, Российская Федерация
E-mail: vyacheslav.tihomirov@spcpu.ru
valeriya.polyakova@spcpu.ru

Антисептики активно вошли в нашу жизнь с начала пандемии в 2020 году. Антисептики и дезинфицирующие средства очень важны в медицинской практике и повседневной жизни людей. Во время пандемии они нам просто нужны для поддержания нашего здоровья. В настоящее время существует огромное количество различных антисептиков. Нас

интересовала актуальность применения антисептиков среди студентов 1 курса фармацевтического факультета и их профилактика в борьбе с COVID-19. Сегодня, в связи со сложной эпидемиологической ситуацией в России и в мире, трудно представить свою жизнь без обработки рук антисептиком. Цель нашего исследования – провести опрос среди студентов СПХФУ и выяснить, какие антисептики они используют. И сделать вывод о наиболее эффективном виде антисептика. Мы также поговорим об использовании антисептиков в борьбе с коронавирусной инфекцией.

Ключевые слова: *антисептики, профилактика, коронавирус.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Kampf G., Kramer A. Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs// Clinical Microbiology Review. 2004. N 17. P. 863–893.

2. Зуев Л.П. Рекомендации по мытью и антисептике рук //Санкт-Петербургский учебно-методический центр инфекционного контроля. 2006. С. 38.

3. Дезинфекция для уничтожения коронавируса: какие дезинфицирующие средства наиболее эффективны // Письмо Роспотребнадзора. [Электронный ресурс] URL: https://www.rospotrebnadzor.ru. (Дата обращения: 27.03.2022)

4. Красильников А.П. Справочник по антисептике. Минск: «Высшая школа», 1995. 367 с.

УДК 578.74

THE WORK OF COVID-19 VACCINES ON THE EXAMPLE OF VARIOUS INTERNATIONAL DRUGS

Potapova D.A., 2nd year student, **Stepkina D.M.**, 2nd year student
Scientific adviser: **Petrova M.V.**, senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
(ORCID: 0000-0002-5001-617X)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popova St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: darya.stepkina@spcpu.ru darya.potapova@spcpu.ru

The mechanisms of work of COVID-19 vaccines have been studied on the example of various international drugs. The types of vaccines, difference in structure have been considered. The conclusion has been made about the personal choice of the vaccine among the existing abundance, based on the individual characteristics of the body.

Keywords: *vaccine, vaccination, immunity, antibodies, antigens, SPUTNIK V, T-lymphocytes, B-lymphocytes.*

Introduction. Nowadays a large number of vaccines of various types have been developed. The lack of knowledge of mechanisms how vaccines work reduces the rate of vaccination. Therefore, we want to show on the example of various drugs what a vaccine is, and how immunity is induced after administration of a dose of a vaccine.

Main part. One of the ways to acquire immunity is vaccination. A vaccine is an antigen specially produced in large quantities. It is characteristic of a certain disease, strong enough to stimulate the formation of antibodies in the body, but not so strong as to cause the disease. Immunological memory is the ability of an organism to give an accelerated immunological response to repeated administration of an antigen. Antibodies are not detected immediately, but only for 5-7 days, then their number increases rapidly (Fig.1). Then the number of specific antibodies decreases, after a few months it is detected in low titers or is not detected at all.[1]

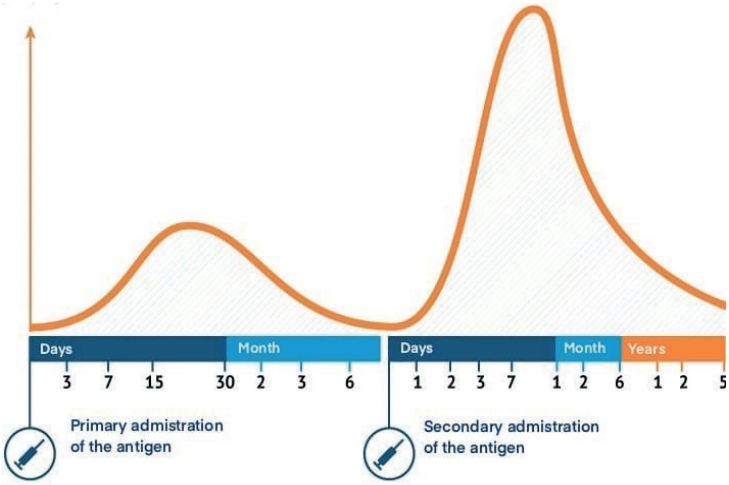


Figure 1. Immunological memory

Some vaccines create immunity the first time, others have to be administered repeatedly. Revaccination is an event aimed at maintaining the immunity developed by previous vaccinations.

Ingredients of vaccines

1. Antigen. All vaccines contain an active component which generates an immune response, or the blueprint for making the active component. The antigen may be a small part of the disease-causing organism, like a protein or sugar, or it may be the whole organism in a weakened or inactive form.

2. Preservatives. Preservatives prevent the vaccine from becoming contaminated once the vial has been opened, if it will be used for vaccinating more than one person.

3. Stabilizers. Stabilizers prevent chemical reactions from occurring within the vaccine and keep the vaccine components from sticking to the vaccine vial.

4. Surfactants. Surfactants keep all the ingredients in the vaccine blended together. They prevent settling and clumping of elements that are in the liquid form of the vaccine.

5. Residuals. Residuals are tiny amounts of various substances used during manufacturing or production of vaccines that are not active ingredients in the completed vaccine.

6. Diluent. A diluent is a liquid used to dilute a vaccine to the correct concentration immediately prior to use. The most commonly used diluent is sterile water.[2], [3]

Types of vaccines

Russian vaccines are divided into several groups:

• Viral Vector Vaccines. They are gene-spliced vaccines. Viral vector vaccines are created using the gene of one of the proteins of the virus. They include «Sputnik V» and «Sputnik Light». These vaccines provide effective production of antibodies and cellular immunity.

• Peptide Vaccines. These vaccines are created based on the prepared purified proteins of the virus. The peptide vaccine is «EpiVacCorona». · Whole Virus Vaccines. These vaccines are created based on the killed or attenuated virus particles. The whole virus vaccine is «CoviVac».

Foreign types of coronavirus vaccines:

• Messenger RNA (mRNA) Vaccines. They are Pfizer/BioNTech and Moderna. Viral proteins for the production of drugs are synthesized directly in the human body. Messenger RNA is a kind of instruction. After reading it, the cell begins to independently produce the encoded protein (a fragment of the coronavirus). After our cells make copies of the protein, they destroy the vaccine's genetic material. Our bodies recognize that the protein should not be there, and create T-lymphocytes and B-lymphocytes that will remember how to fight the virus that causes COVID-19 if we become infected in the future.

• Viral Vector Vaccines. They contain a modified version of a different virus from the one that causes COVID-19. There is material from the virus that causes COVID-19 inside the envelope of the modified virus. This is called a «viral vector». As soon as the viral vector is inside our cells, the genetic material gives instructions to the cells to make a protein unique to the virus that causes COVID-19. Using these instructions, our cells make copies of the protein. This process encourages our bodies to create T-lymphocytes and B-lymphocytes. Viral vector vaccine is AstraZeneca vaccine (Vaxzevria). It was made according to the principle of the «Sputnik V». The vector used by AstraZeneca is a modified chimpanzee virus.

• Whole Virus Vaccines. The whole virus vaccines are Sinopharm and Sinovac. They were made according to the principle of the «CoviVac».[4]

The mechanism of vaccine work on the example of Pfizer/BioNTech:

A weakened pathogen entering the human body causes the body's reaction to fight the virus. As a result of this fight, an organism produces antibodies to a specific virus. So, vaccines based on messenger RNA (mRNA), such as Pfizer's COVID-19 vaccine, teach cells to produce a protein that triggers the immune response if the virus attacks the organism.

It is true that none of the vaccines interacts with DNA or alters it in any way and therefore cannot cause cancer. Messenger RNA is not the same as DNA, so it cannot combine with DNA and change the genetic code. Messenger RNA is brittle, so when RNA transmits instructions to your cells, it will accumulate and will be excreted from the body in approximately 72 hours.

How mRNA Vaccines Work:

1. First, COVID-19 mRNA vaccines are injected into the upper arm muscle. The mRNA will enter the muscle cells and give instructions to the cells' machinery to produce a harmless piece of what is called the spike protein. The spike protein is found on the surface of the virus that causes COVID-19. After the protein piece is made, our cells break down the mRNA and remove it.

2. Second, our cells display the spike protein piece on their surface. Our immune system recognizes that the protein doesn't belong there. This triggers our immune system to produce antibodies and activate other immune cells to fight off what it thinks is an infection. This is what your body might do to fight off the infection if you got sick with COVID-19.

3. At the end of the process, our bodies have learned how to protect against future infection from the virus that causes COVID-19. [5]

The mechanism of vaccine work on the example of Sputnik V.

Sputnik V is the vaccine that is created based on an adenovirus vector (Fig.2). «Vectors» are vehicles, which can induce a genetic material from another virus into a cell. The gene from adenovirus, which causes the infection, is removed while a gene with the code of a protein from another virus spike is embed. This embedded element is safe for the body but still helps the immune system to react and produce antibodies, which protect us from the infection.

The technological platform of adenovirus-based vectors makes it easier and faster to create new vaccines through modifying the initial vector with genetic material from new emerging viruses that helps to create new vaccines in relatively short time. Such vaccines cause a strong response from a human immune system. Human adenoviruses are considered as some of the easiest to engineer in this way and therefore they have become very popular as vectors. [6]

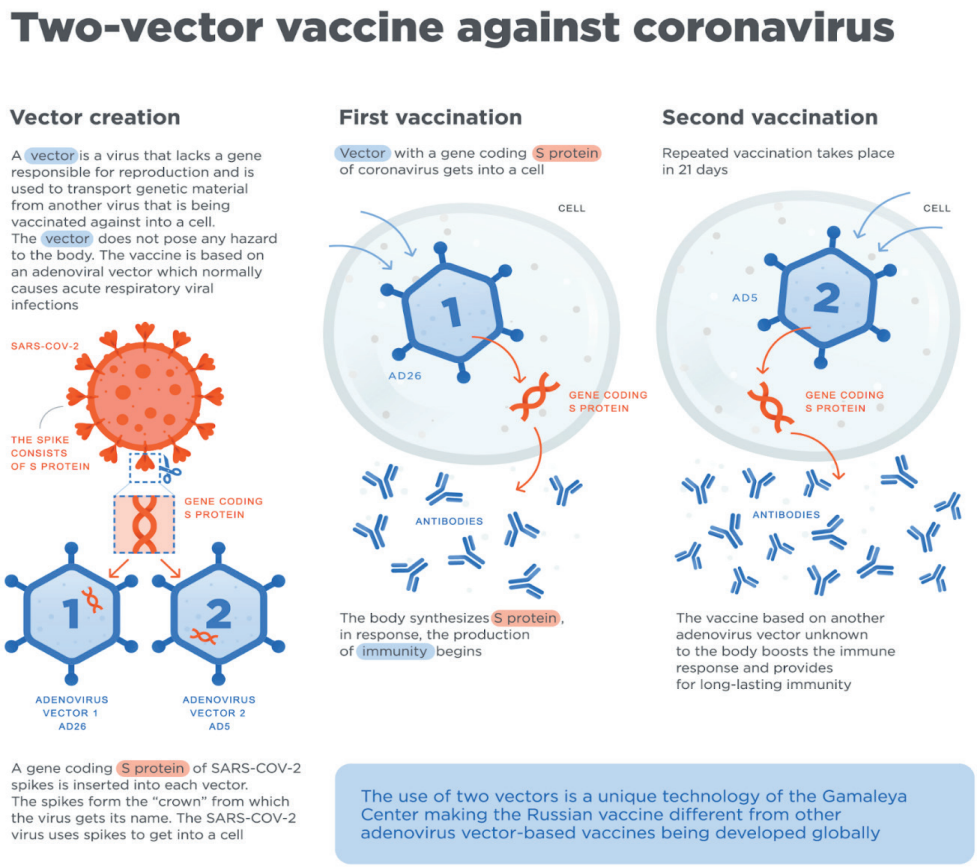


Figure 2. Two-vector vaccine against coronavirus

Conclusion. The mechanisms of work of COVID 19 vaccines have been studied on the example of various international drugs. We have revealed what a vaccine is, its composition, and various types to fight COVID-19. The conclusion has also been made that there are different types of vaccines, and each person should choose them for themselves based on their own characteristics of the body.

REFERENCES

1. Specialists about vaccinations. The principle of vaccination. [Internet]. URL: https://yaprivit.ru/vaccination/ (Date of treatment 02/27/2022). (in Russian)

2. Villee C. Biology: study guide. Moscow: «WORLD», 1966. 680 p. (in Russian)

3. How are vaccines developed. [Internet]. URL: https://www.who.int/ru/news-room/feature-stories/detail/how-are-vaccines-developed (Accessed 02/27/2022). (in Russian)

4. Federal State Budgetary Healthcare Institution «Medical and Sanitary Unit №59 of the Federal Medical and Biological Agency». Types of COVID-19 vaccines: which one to choose. [Internet]. URL: https://msch59.ru/news/виды-вакцин-от-covid-19-какую-выбрать/ (Accessed 03/01/2022). (in Russian)

5. National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD). Understanding mRNA COVID-19 Vaccines. [Internet]. URL: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines/mrna.html (Accessed 02/27/2022).

6. SPUTNIK V: The first registered vaccine against COVID-19. ABOUT SPUTNIK V. [Internet]. URL: https://sputnikvaccine.com/about-vaccine/ (Accessed 03/01/2022).

SUMMARY

РАБОТА ВАКЦИН ОТ COVID-19 НА ПРИМЕРЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕЖДУНАРОДНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Степкина Д.М., студ. 2 курса, **Потапова Д.А.**, студ. 2 курса
Руководитель: **Петрова М.В.**, старший преподаватель, НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: darya.stepkina@spcpu.ru darya.potapova@spcpu.ru

Изучены механизмы работы вакцин от COVID-19 на примере различных зарубежных препаратов. Рассмотрены различные по структуре типы вакцин. Сделан вывод о личном выборе вакцины из имеющегося изобилия, исходя из индивидуальных особенностей организма.

Ключевые слова: *вакцина, вакцинация, иммунитет, антитела, антигены, Спутник V, Т-лимфоциты, В-лимфоциты.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Специалисты о прививках. Принцип вакцинации. [Электронный ресурс] URL: https://yaprivit.ru/vaccination/ (Дата обращения 27.02.2022).
2. Вилли К. Биология: учебное пособие. Москва: «Мир», 1966. 680 с.
3. Как разрабатывают вакцины. [Электронный ресурс] URL: https://www.who.int/ru/news-room/feature-stories/detail/how-are-vaccines-developed (Дата обращения 27.02.2022).
4. ФГБУЗ МСЧ №59 ФМБА России. Виды вакцин от COVID-19: какую выбрать. [Электронный ресурс] URL: https://msch59.ru/news/виды-вакцин-от-covid-19-какую-выбрать/ (Дата обращения 01.03.2022).
5. National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD). Understanding mRNA COVID-19 Vaccines. [Internet] URL: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines/mrna.html (Accessed 27.02.2022).
6. SPUTNIK V: The first registered vaccine against COVID-19. ABOUT SPUTNIK V. [Internet] URL: https://sputnikvaccine.com/about-vaccine/ (Accessed 01.03.2022).

УДК 14.03.06

SCREENING METHOD FOR KAPPA-OPIOID AGONISTS IDENTIFICATION BASED ON PLATELET ACTIVATION MODEL

Pridvorov G.V., 1st year postgraduate student, **Mukha O.Y.**, 5th year graduate student
Scientific adviser: **Kalitin K.Y.**, PhD, Assoc. Prof.
(ORCID: 0000-0002-8070-693X)
Volgograd State Medical University,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russian Federation
E-mail: gleb.pridvorov@gmail.com, olay.myha14@gmail.com

Selective kappa-opioid receptor agonists are a new promising drug class that can be used as analgesic, anticonvulsant, and neuroprotective medicines. The successful search for active substances requires a high-throughput screening technique that allows the identification of compounds with kappa agonist activity.

Keywords: *screening, kappa-opioid agonists, platelet activation, neuroprotection, butorphanol, RU-1205.*

Introduction. The delta opioid receptor, kappa (KOR), mu and the nociceptin receptor make up the opioid receptor system. KORs perform different functions in the central nervous system, such as altering nociception, consciousness, motor control, and mood [1].

There are two potential ways for realization of KOR's effects. The first way is linked to G protein and the second is mediated by beta-arrestin. It is hypothesized that G protein-biased kappa agonists can reduce pain, but have fewer adverse effects, such as anhedonia and addiction [2].

Selective kappa-opioid receptor agonists are a new promising class of drugs and can be used as analgesic, anticonvulsant, and neuroprotective medicines [3]. The need to search for selective kappa-opioid receptor agonists is associated with its ability to affect pathogenesis of ischemic brain diseases and a strong increase in the survival of neurons [4].

The vast majority of clinically used opioids selectively activate the μ opioid receptor. However, the expected advantage of these κ receptor selective compounds was that they would be devoid of the serious and troublesome, mainly μ receptor mediated, side effects, associated with morphine and morphine-like compounds, such as physical dependence, respiratory depression, tolerance, constipation, itch, drug addiction and aversive response while still retaining analgesic properties [2]. Nevertheless, psychotomimetic disorders and dysphoria have been repeatedly identified in clinical trials of kappa opioids. However, it has been proven that the hallucinogenic effect is associated with their effect on delta opioid receptors or clusters formed from kappa and delta receptors, or by affecting other neurotransmitter systems. In studies it was shown that κ-opioid receptor agonists are potent analgesic agents with significantly fewer side effects and potential for misuse. Furthermore, the kappa opioid receptor system has been revealed as a pharmacotherapeutic target for the addiction treatment.

The ability of selective kappa agonists to cause activation of rabbit platelets formed the basis of the screening method [5, 6].

Main part. We used the RU-1205 compound because of its belonging to the class of condensed benzimidazols, which possess [3] pronounced kappa-opioid activity, as well as the reduced severity of adverse drug reactions.

The method is based on the ability of platelets as insoluble particles to cause changes in the light scattering of the solution that are recorded by the Light-Scan device (Lumex, Russia). Activation of platelets, in turn, leads to an increase in their size and, as a consequence, to an increase in light scattering. Small-angle scattering technique based on deflection of collimated radiation away from the straight trajectory after it interacts with particles suspended in a buffer solution.

Taking into account the high productivity of screening using this technique, it was proposed to implement it in the laboratory of electrophysiology of the Scientific Center for Innovative Medicines of Volgograd State Medical University. The purpose of this work was to adjust the method and reduce the impact of external factors that may affect the results of the experiment.

In the course of this study, blood was taken from the marginal ear vein of laboratory rabbits of the Soviet chinchilla breed. The animals were kept under standard vivarium conditions with a 12:12 h light:dark regimen with free access to food and water

(GOST 33215-2014). Plasma was separated using SIGMA 2-16PK centrifuge (Sigma, rotor 11192, Germany) at 2000 rpm for 15 minutes.

Butorphanol solution 0.1% (Federal State Unitary Enterprise Moscow Endocrine Factory) was used as a reference drug. A Tris-HCl solution (2.456 g NaCl, 0.472 g tris-(hydroxymethyl)-aminomethane hydrochloride, 300 ml solvent) pH 7.2 to 7.4 was used as a buffer solution. Test substance was a 0,1% aqueous solution of compound RU-1205 (Institute of Physical & Organic Chemistry SFU, Rostov-on-Don).

The intensity of the scattered light was measured with a Laser Particle Analyzer, «LaSca» (Lumex Ltd, St-Petersburg, Russia). The light passes through suspension of cells in a transparent cuvette while continuously mixing and controlling the temperature. The instrument was calibrated according to the supplied manual (the light scattering of the buffer solution was considered as the reference point for the scale). To prevent diluting the solution of the active substance, the following algorithm was proposed:

1. Instrument calibration;
2. Calculation of the basic coefficient of light scattering: sequential addition to a cuvette 8 ml of buffer solution and 0.5 ml of plasma with a three-time repetition and the subsequent calculation of the average value;
3. Calculation of the experimental light scattering coefficient: sequential addition of 7 ml of a buffer solution, 1 ml of a solution of the test substance and 0.5 ml of plasma into a cuvette with a three-time repetition and subsequent calculation of the average value;
4. Calculation of the difference between the value obtained in step 3 and the value obtained in step 2;
5. Converting the difference to a percentage.

Positive values obtained in step 4 were considered as potential evidence of kappa-opioid activity of the test substances. The values obtained in step 5 were considered as the level of kappa agonist activity. The algorithm described above is intended to avoid a decrease in light scattering due to dilution when adding solutions of experimental compounds.

The results of the tests carried out are presented in the tables below.

Table 1 – Results of calibration runs (plasma without added substances)

Test	Start value	Final value	Change
1	0,11	8,8	8,69
2	0,06	8,5	8,44
3	0,09	8,8	8,71

Note: as a result, the average value of the light scattering coefficient was 8.7, the average change was 8.61

Table 2 – Results of experimental runs (butorphanol)

Test	Start value	Final value	Change
1	0,12	14,9	14,78
2	0,11	15,2	15,09
3	0,09	15,4	15,31

Note: as a result, the average value of the light scattering coefficient was 15.167, the average change was 15.06. The difference from the control is 6.45 or 74.91%.

Table 3 – Results of experimental runs (RU-1205)

Test	Start value	Final value	Change
1	0,06	17,8	17,74
2	0,08	18,0	17,92
3	0,11	18,3	18,19

Note: as a result, the average value of the light scattering coefficient was 18.03, the average change was 17.95. The difference from the control is 9.34 or 108%.

Platelets are highly-labile elements and can be inhibited or activated under small influences. Nowadays we have the prevailing understanding of the platelets' role in the hemostasis and a lot of methods for investigating their functionality. However there remains a need for simple quantitative tests of their sensitivity to the physiological agonists.

For years, Born's method has been the main method of studying platelets. It's based on registering the aggregation of platelets by changes in light transmission [7]. The advantages of the method are low requirements for equipment and material as well as its simplicity. However, there are some strong limitations: data processing is reduced to a relative estimate of final signal amplitude, which in practice does not describe a change in the platelets' sensitivity. There are also issues associated with Born's method when we compare results obtained from different series of experiments.

Later a new method for evaluation of platelet aggregation with the help of light scattering technique was described [8]. The essence of this method is a recording of backward scattering from separate cells or their aggregates. The technique is suitable for

platelet rich plasma analysis and can be applied to a wide range of aggregation studies. Constraints of the method include: the very restricted application in registering kinetic processes and the inability to register the shape change.

Most of the centrally-acting kappa agonists have good pharmacological activity in animal models of stroke, though not known whether or not it could be effective in humans.

With regard to pain, it can be seen that hopes for the development of potent, selective centrally active kappa agonists as new analgesics, as a rule, did not fulfill. This appears to be primarily due to psychomimetic and dysphoric CNS side effects found at doses required to produce an analgesic effect.

An open question remains whether or not kappa agonists would be more effective against neuropathic or chronic pain, rather than postoperative pain.

By way of contrast, asimadoline is a peripherally restricted KOR agonist with good pharmacokinetic properties and less severe side effects than either enadoline or spiradoline. It is assumed that the full potential of this compound as a novel analgesic will only be realized by thorough clinical testing in a number of different experimental models.

It is established that centrally-acting kappa agonists have not been considered for the clinical treatment of idiopathic dyspepsia or irritable bowel syndrome. It is also reported that the atypical peripherally-selective kappa agonist fedotozine failed after Phase III testing.

The reasons for the suspension of clinical trials of aquaretic and niravolin are unknown, but it is suspected that this decision may have been influenced by the presence of central side effects. Asimadoline may be a suitable alternative as it has a significantly lower risk for such effects. Although peripheral mechanisms of kappa-induced diuresis are claimed to be negligible in higher species, we have already seen that kappa diuresis is not always associated with central suppression of plasma ADH levels in humans, thus implying peripheral actions of kappa agonists here.

Conclusion. Thus, the ability of experimental compounds to cause activation of rabbit platelets in the expected range of values was established, which in turn indicates an adequate implementation of the small-angle light scattering method. It is also necessary to note the activity of the experimental compound, which exceeds the activity of the reference drug, which may indicate the need for its further study in other animal models.

Further application of this method is possible in the course of a screening search for substances with agonist activity against kappa-opioid receptors among condensed benzimidazole derivatives.

REFERENCES

1. Kappa opioid receptor agonist and brain ischemia / C. Chunhua [et al.] // Translational perioperative and pain medicine. 2014. T. 1. N 2. P. 27-32.

2. A review of the therapeutic potential of recently developed G protein-biased kappa agonists / K.L. Mores [et al.] // Frontiers in pharmacology. 2019. T. 10. P. 407-410. https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00407

3. Neuroprotection by the kappa-opioid receptor agonist, BRL52537, is mediated via up-regulating phosphorylated signal transducer and activator of transcription-3 in cerebral ischemia/reperfusion injury in rats / S. Fang [et al.] // Neurochemical research. 2013. Vol. 38(11). P. 2305-2312. https://doi.org/10.1007/s11064-013-1139-4

4. Global burden of stroke and risk factors in 188 countries, during 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 / V.L. Feigin [et al.] // The Lancet Neurology. 2016. Vol. 15(9). P. 913-924. DOI:10.1016/S1474-4422(16)30073-4.

5. Sposob issledovanija aktivacii i agregacii trombocitov / Derkachev E.F. [et al.]. [A method for studying the activation and aggregation of platelets]. Patent RU 2108579 C1 6 GO I N33/49 (1996). (in Russian)

6. Grechko O.Yu., 2012. Kondensirovannye benzimidazoly – novyj klass kappa-opioidnyh agonistov [condensed benzimidazoles – a new class of kappa-opioid agonists] : doctoral thesis. Volgograd:Volgograd State Medical University, 2012. (in Russian)

SUMMARY

МЕТОДИКА СКРИНИНГА СОЕДИНЕНИЙ С КАППА-ОПИОИДНОЙ АКТИВНОСТЬЮ НА МОДЕЛИ АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ

Придворов Г.В., аспирант 1 года обучения, **Муха О.Ю.**, студ. 5 курса
Руководитель: **Калитин К.Ю.**, канд. мед. наук, доцент
(ORCID: 0000-0002-8070-693X)
Волгоградский государственный медицинский университет
площадь Павших Борцов, д. 1, г. Волгоград, 400131, Россия
E-mail: gleb.pridvorov@gmail.com

Каппа-опиоидные агонисты широко внедряются в клиническую практику и активно применяются при лечении различных заболеваний. Для поиска веществ с каппа-опиоидным агонистическим действием использована методика малоуглового светорассеяния, основанная на феномене активации тромбоцитов. В результате проведенных экспериментов установлена каппа-опиоидная агонистическая активность исследуемого вещества РУ-1205 и препарата сравнения буторфанола.

Ключевые слова: *нейропротекция, каппа-опиоидные агонисты, активация тромбоцитов, ишемический инсульт, буторфанол, РУ-1205.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Kappa opioid receptor agonist and brain ischemia / C. Chunhua [et al.] // Translational perioperative and pain medicine. 2014. T. 1. N 2. P. 27-32.
2. A review of the therapeutic potential of recently developed G protein-biased kappa agonists / K.L. Mores [et al.] // Frontiers in pharmacology. 2019. T. 10. P. 407-410. https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00407
3. Neuroprotection by the kappa-opioid receptor agonist, BRL52537, is mediated via up-regulating phosphorylated signal transducer and activator of transcription-3 in cerebral ischemia/reperfusion injury in rats / S. Fang [et al.] // Neurochemical research. 2013. Vol. 38(11). P. 2305-2312. https://doi.org/10.1007/s11064-013-1139-4
4. Global burden of stroke and risk factors in 188 countries, during 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 / V.L. Feigin [et al.] // The Lancet Neurology. 2016. Vol. 15(9). P. 913-924. DOI:10.1016/S1474-4422(16)30073-4.
5. Способ исследования активации и агрегации тромбоцитов / Деркачев Э. Ф. и др. 1998.
6. Гречко О. Ю. Конденсированные бензимидазолы–новый класс каппа-опиоидных агонистов 14.03. 06. – фармакология, клиническая фармакология : дис. Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2012.

УДК 159.9

EMOTIONAL INTELLIGENCE OF PHARMACY STUDENTS

Rudometova M.O., Suchkova K.M., 2st year students
Scientific adviser: **Petrova M.V.**, senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
(ORCID: 0000-0002-5001-617X)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: mariya.rudomyotova@spcpu.ru, kseniya.suchkova@spcpu.ru

The article examines the theoretical aspects of students' emotional intelligence. The essence of the term of «emotional intelligence» is revealed, the preconditions for development, its components, and also the possibilities of developing emotional intelligence of students are analyzed.

Keywords: *emotional intelligence, preconditions for the development of emotional intelligence, components of students' emotional intelligence.*

Introduction. In the modern world, the requirements of various educational institutions for the quality and level of students' knowledge are rapidly changing. In the process of studying at the university, young people have to deal with building relationships with group mates, teachers, potential employers. Moreover, one can communicate effectively with people only by understanding themselves and having a high level of empathy. It is provided with a developed emotional intelligence (EQ). Therefore, it is important for students to be able to recognize and manage their emotions in order to overcome stressful states, as well as to successfully communicate with other people participating in the educational process. That's why the problem of emotional intelligence of students is of interest to quite a large number of scientists: teachers, psychologists and other researchers.

Main part. D. Goleman made a significant contribution to the development of ideas about emotional intelligence and its role in the life of an individual.[1] Emotional Intelligence is a person's ability to identify, express and control their thoughts and actions, understand other people, make correct and quick decisions, cope with pressure and crisis, and so on.

Emotional intelligence includes:

1) **Identification of emotions** (the ability to perceive, identify, adequately express an emotional state, the ability to distinguish a true emotion from a fake one);

2) **The use of emotions to increase the efficiency of thinking and activity** (the ability to use emotions to forward attention to the desired event, evoking emotions to solve the problem);

3) **Understanding emotions** (the ability to establish connections between complexes of emotions, to understand the transitions of one emotion into another, to understand the causes of emotions);

4) **Emotion management** (the ability to control emotions, reduce the intensity of negative emotions, awareness of emotions, the ability to solve emotionally loaded problems without suppressing negative emotions caused by this situation).[2]

Emotional intelligence and professional activity

Various studies show that a high level of emotional intelligence predicts a person's future success twice as accurately as IQ indicators. So, how does the emotional intelligence helps to improve the work of people of different professions?

Here are a few reasons:

1. Emotional intelligence allows you to be calmer, which means to save mental clarity and concentration.
2. Creativity increases with the growth of emotional intelligence.
3. Emotional intelligence provides a more flexible communication with the world around us, which allows us to adapt to changing situations.

4. Emotional intelligence helps us cope with difficult times at work, improving our ability to process information, manage processes and even grow up the career ladder after failures.

5. People with a high level of emotional intelligence demonstrate high leadership qualities.

6. Emotional intelligence promotes effective teamwork.

7. High emotional intelligence benefits organizations when it determines the atmosphere in the workplace, and when it is used as a key approach to management.

8. A high level of emotional intelligence at the organizational level is also associated with less staff turnover, absence of employees at work, fewer accidents, complaints and fewer conflicts in the workplace.[3]

Emotional intelligence of students

Student period is a kind of stage of a person's life associated with studying at a higher educational institution. Many researchers refer the student period to youth, which covers the period from 17 to 25 years. At this age, the need for communication with people and their recognition increases especially, which is significantly determined by active communication with society, the specifics of education and upbringing at the university. The need for communication promotes the establishment of diverse ties, the development of friendship, stimulates the exchange of knowledge and experience, opinions, moods. In communication, students get to know not only themselves, but also others. From the above, we can conclude that the topic of emotional intelligence development is very relevant for students.[4]

How to develop EQ and learn to control your emotions?

To develop emotional intelligence, you need to focus on four drivers: awareness, self-esteem, motivation and adaptability.

Awareness. Includes awareness of your thoughts, feelings and behavior. Develops the strategy of «Philosophers». Philosophers learn quickly and accumulate knowledge, but it is difficult for them to move from theory to practice and translate knowledge into real skills.

Self-assessment. It includes acceptance, the ability not to depend on outside assessments and opinions, a positive perception of the world and determination. Helps to master the strategy of «Stars». Such people are confident in themselves, but tend to talk to impress. Stars risk remaining at the level of «impressions» if they do not pump up the drivers of awareness and motivation.

Motivation. Includes openness to new things, helps to master the strategy of «Heroes». Heroes enjoy self-development and achievements, so they are constantly improving and can lead people. Heroes risk burning out quickly if they do not realize the reasons for their work.

Adaptability. It includes empathy, stress tolerance, decision-making and sociability. Develops the strategy of «Managers». Such people are stress-resistant and hardworking, but are prone to impostor syndrome – a phenomenon in which a person considers himself a deceiver and does not refer achievements to his qualities and skills.[5]

As part of our research we decided to determine the level of the emotional intelligence of students of the Department of Industrial Drug Technology of St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University. For this we used a detailed test for EQ.[6]

About 65 students took part in the survey.

The bar charts show the level of main indicators of EQ such as adaptability (Fig.1), self-affirmation (Fig.2), expression of emotions (Fig.3), impulse control (Fig.4), empathy (Fig.5):

In detail:

• the lowest percent

• the highest percent

• average percent (some bar charts have 2 or 3 average percents not only 1)

The vertical axis means the number of students.

Percent is the quality indicator.

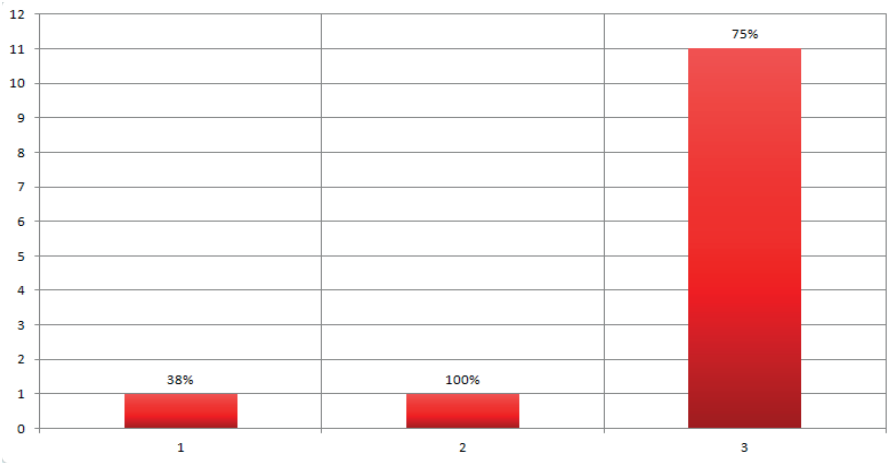


Figure. 1. Adaptability

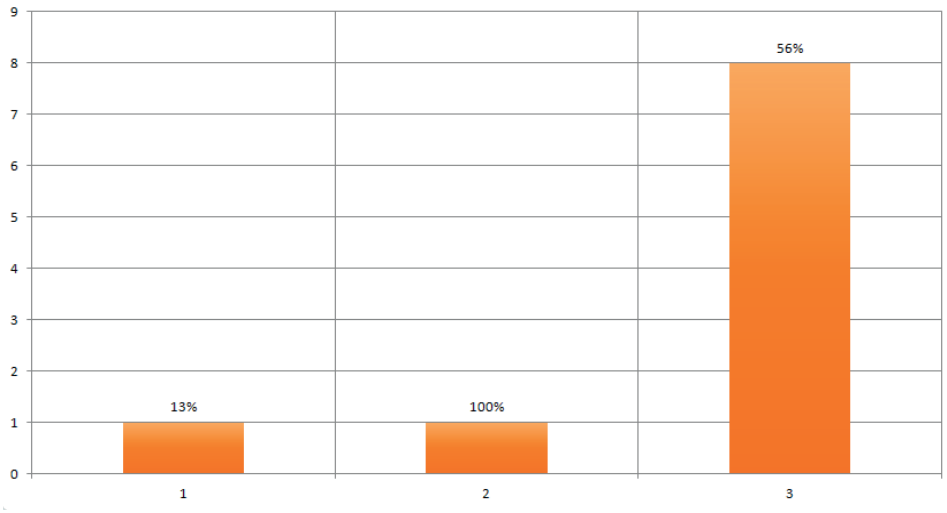


Figure 2. Self-affirmation

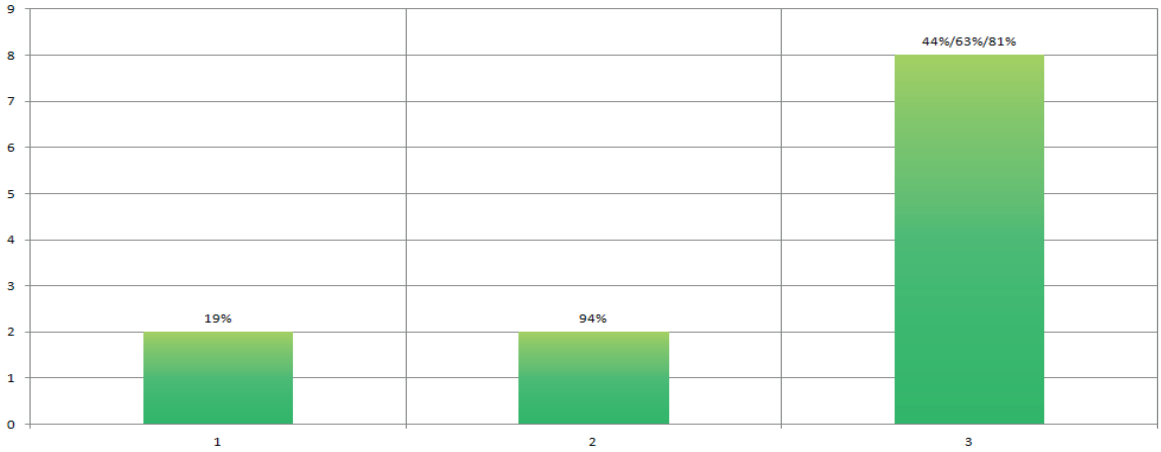


Figure 3. Expression of emotions

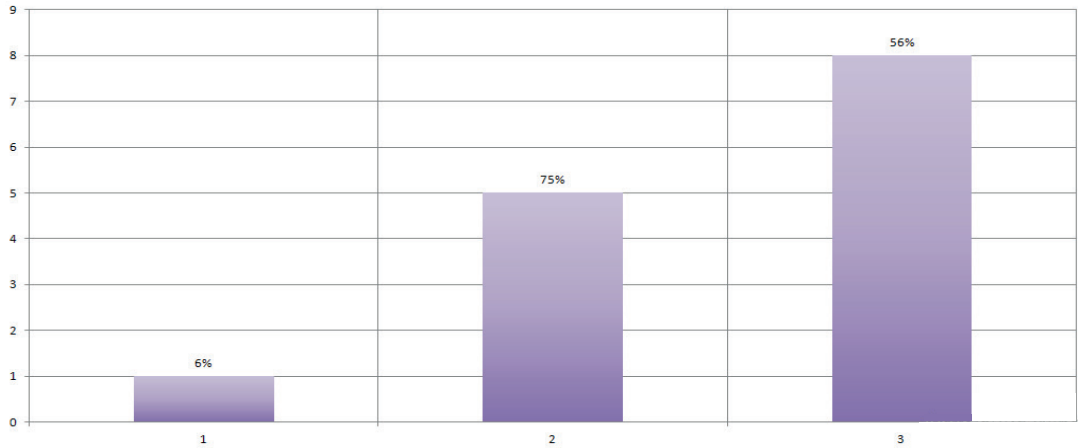


Figure 4. Impulse control

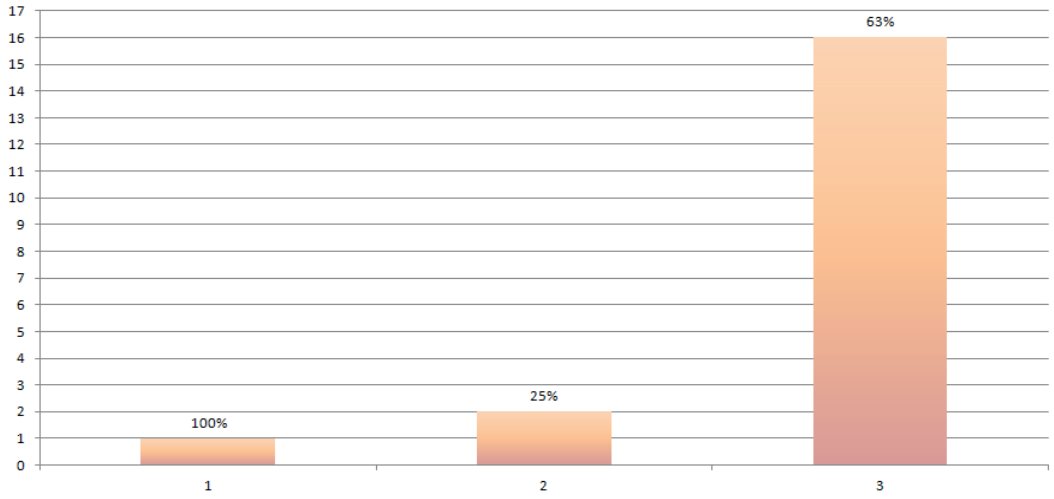


Figure 5. Empathy

According to the diagrams, it can be concluded that the respondents have an average level of emotional intelligence.

Conclusion. The ability to manage emotions is a sign of a developed personality and a well-mannered person who is able to control his feelings even in situations when it is very difficult.

Emotional intelligence is an important component of students' cognitive abilities. The high level of EQ development in students provides the regulation of their own emotional states, which affects their success in educational activities.

REFERENCES

1. Goleman D. Emotional intelligence: why it can matter more than IQ. New York: Bantam Books, 2005. 328 p.

2. Andreeva I. N. The ABC of emotional intelligence. St. Petersburg: BHV-Petersburg, 2012. 288 p. (in Russian)

3. Ravi K. Emotional intelligence: A study on university students // Journal of education and learning (EduLearn). 2019. Vol. 13(4). P. 441 – 446.

4. Pershina A.V. On the problem of studying emotional intelligence of students. [Internet]. URL: https://moluch.ru/archive/108/26201/ (Accessed: 03/05/2022). (in Russian)

5. Bystrova O. Emotional intelligence: how to develop? [Internet]. URL: https://www.b17.ru/article/emotional_intelligence_razvit/ (Accessed: 20.12.21). (in Russian)

6. Detailed test for EQ. [Internet]. URL: https://www.idrlabs.com/ru/global-eq/test.php (Accessed:: 03/05/2021). (in Russian)

SUMMARY

ЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ ИНТЕЛЛЕКТ СТУДЕНТОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ВУЗА

Рудометова М.О., Сучкова К.М., студ. 2 курса
Руководитель: **Петрова М.В**., старший преподаватель английского языка,
НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации
(ORCID: 0000-0002-5001-617X)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197022, Санкт-Петербург, ул. профессора Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: mariya.rudomyotova@spcpu.ru, kseniya.suchkova@spcpu.ru

В статье рассматриваются теоретические аспекты эмоционального интеллекта студентов. Раскрывается сущность термина «эмоциональный интеллект», анализируются предпосылки для развития, его составляющие, а также возможности развития эмоционального интеллекта студентов.

Ключевые слова: *эмоциональный интеллект, предпосылки развития эмоционального интеллекта, компоненты эмоционального интеллекта студентов.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Goleman D. Emotional intelligence: why it can matter more than IQ. New York: Bantam Books, 2005. 328 с.

2. Андреева И. Н. Азбука эмоционального интеллекта. Санкт-Петербург: БХВ-Петербург, 2012. 288 с.

3. Ravi Kt. Emotional intelligence: A study on university students // Journal of education and learning (EduLearn). 2019. Vol. 13(4). P. 441 – 446.

4. Першина А.В. К проблеме изучения эмоционального интеллекта студентов. [Электронный ресурс] URL: https://moluch.ru/archive/108/26201 / (Дата обращения: 04.03.2021).

5. Быстрова О. Эмоциональный интеллект: как развить? [Электронный ресурс]. URL: https://www.b17.ru/article/emotional_intelligence_razvit / (Дата обращения:02.03.21).

6. Детальный тест на эмоциональный интеллект. [Электронный ресурс]. URL: https://www.idrlabs.com/ru/global-eq/test.php (Дата обращения: 05.03.2021).

УДК: 1:159.9

MENTAL SELF-CARE. THE PHENOMENON OF OPENNESS

Ruchka V.V., 2nd year student, **Yakubovskaya Y.A.**, 2nd year student
Kiryanova E.V., 2nd year student, **Sandulyan V.S.**, 2nd year student
Scientific adviser: **Zhidkova N.V.**, senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: valeriya.ruchka@spcpu.ru

This study was designed to identify people's attitudes towards mental health issues and the reasons for the increased attention to this topic in the past few years. For this purpose, a literature review was conducted and a sociological survey among the Russian speaking population was carried out. After processing and analyzing the results, we revealed a growing interest in the mental health topic, which we will refer to as «phenomenon of openness».

Keywords: *mental health issues, psychohygienic, stress, mental health, impact, attitude.*

Introduction. In the past few years of social, environmental, economic and other problems, people have seriously thought about their mental well-being. The topic seemed to be of particular interest to us, so the goals we set for ourselves were:

1) to establish the reasons for the special relevance of the topic of mental health in the last few years;
2) to define mental health and its impact on people's lives, mental hygiene and the consequences of its violation;
3) to reveal the attitude of people to the mental health problems.

Through a social survey, we revealed the attitude of Russian-speaking people to the mental health issues.

Main part. The problem of human mental health and its improvement is one of the most pressing problems of modern science. Mental health of people is the condition of social stability and predictability of the processes taking place in society. The current socio-economic situation is characterized by increased levels of stress in everyday life, its pace and an ever-increasing flow of information, which highlights the problem of preserving the psychological health of the population especially among young people. This has become extremely relevant during the pandemic – The year 2020 significantly affected nearly every aspect of life. Fatigue from COVID-19, the blurring of boundaries between work and personal life, the toxic effect of digital platforms and social networks had a great impact on the mental condition of people. According to the latest Mindshare study, 50% of people have become more aware of their mental health after the outbreak of the pandemic. We believe that various cultural and social phenomena contributed to this: TV series, films and music covering this problem, communication of people from different countries, which is facilitated by the intensive study of various languages. But what is the attitude of people towards the popularity of this topic?

To deal with this issue, it is necessary to define all the terms we are considering. Mental health is a state of well-being in which an individual realizes his or her own abilities, can cope with the normal stresses of life, work productively and is able to make a contribution to his or her community.

The World Health Organization identifies the following criteria for mental health: «awareness and sense of continuity, permanence and identity of one's physical and mental self; a sense of permanence and identity of experiences in the same type of situations; criticality towards oneself and one's own mental production (activity) and its results; conformity of mental reactions (adequacy) to the strength and frequency of environmental influences, social circumstances and situations; the ability to self-manage behavior in accordance with social norms, rules, laws; the ability to plan your own life and implement these plans; the ability to change the way of behavior depending on the change of life situations and circumstances». [1]

Mental health is closely related to the concept of mental illness. People with optimal mental health may also have a mental illness, and those who do not have a mental illness may also have poor mental health. There is a link between mental health issues and stress, loneliness, burnout and social problems leading to fatigue, depression, anxiety, inability to learn and perform everyday tasks. In more severe cases, the alteration in the perception of the external world may occur. People may experience visual hallucinations and delusions.

In order to avoid such consequences, there is «psychohygieneis – a system of special measures aimed at preserving and strengthening a person's mental health». [2, p.51]

Mental health promotion involves actions that improve psychological well-being. This may involve creating an environment that supports mental health.

An environment that «respects and protects basic civil, political, socio-economic and cultural rights is fundamental to mental health» [3, p.11] . Without the security and freedom provided by these rights, it is difficult to maintain a high level of mental health.

The main factors of the social environment that affect the human psyche include: «unfavorable environmental conditions, a high pace of life and urbanization, issues at work, a heavy workload, the risk of unemployment, a long commute and financial difficulties.» [4, p.10-11]

A national mental health policy should address both mental disorders and broader issues that promote mental health. «Mental health promotion should be mainstreamed into governmental and nongovernmental policies and programmes» [2, p.70-71]. In addition to the health sector, it is essential to involve the education, labour, justice, transport, environment, housing, and welfare sectors.

Psychohygienic measures are of preventive importance not only in relation to psychogenic diseases, neuroses, psychopathies, but also various somatic diseases. For example, compliance with the requirements of psycho hygiene can play a significant role in the prevention of heart attacks and brain strokes, the development of hypertension, alcoholism, drug addiction and some psychoses. The complex relationship between mental and somatic health makes it necessary to closely link psychohygiena with general hygiene. For example, a hygienic diet can prevent the onset of atherosclerosis of the cerebral vessels. Physical education and sports support health and strengthen the nervous system, and at the same time the psyche.

Knowledge of what to do about the escalating burden of mental disorders has improved substantially over the past decade. There is a growing body of evidence demonstrating both the efficacy and cost-effectiveness of key interventions for priority mental disorders in countries at different levels of economic development.

A range of effective measures also exists for the prevention of suicide, prevention and treatment of mental disorders in children, prevention and treatment of dementia, and treatment of substance-use disorders. [1]

As part of our research on mental health issues, we conducted a sociological survey to identify and compare the attitudes of people of different genders and ages to the topic of mental health. 205 people from Russian-speaking countries took part in the survey, of which only 15.6% were men. The age of the respondents ranged from under the age of 15 to over 55. (Fig.1.1). Among the respondents there are also people of different occupations – from school students to pensioners (Fig. 1.2). From this we can conclude that the male category of the population, as well as people over 45 years old, don't want to address this topic. But despite this fact, 99% of respondents do not deny the existence of mental health problems.

Most of the respondents discuss mental health issues in their daily lives with friends, relatives, as well as at work, and they do not consider this topic taboo (Fig. 1.3). However, it is worth noting that not all respondents have this attitude, 10.5% over 45 are annoyed by this topic of conversation, and 2.4% of all respondents of different ages consider this topic too personal to discuss. But, despite such indicators, 22% do not talk about their experiences with loved ones or specialists, and 18% completely conceal their problems, hoping that everything will pass by itself. It is worth noting that these are mostly people aged 15-25.

Despite the fact that only 28.3% of respondents have a job, 91.2% consider it the main factor leading to mental health problems. Other aspects of life, such as studies, family, politics and everyday life are also important causes of stress that people face every day (Figure 1.4).

91.7% of respondents are subject to stress in their daily lives, for 80.2% of them stress brings discomfort in the form of anxiety, nervous breakdowns, depression, etc. However, most of the respondents have found ways to effectively deal with stress – you can see the results in Figure 1.6. We would like to note that only 6.8% of respondents seek the help of specialists, but 88.8% consider visiting doctors justified and necessary, the opposite opinion is mainly held by people over 45 years old.

It is worth noting that 18.5% of respondents have already visited specialists in the person of psychologists, psychotherapists and psychiatrists and it helped them (5.3% of people over 55 turned out to be among them), 9.3% are still working with them, and 44.4% are just planning to visit (Fig. 1.5).

From all the survey results we listed earlier, we can conclude that people have seriously thought about their mental health but the age of people actively engaged in their mental state varies from 15 to 45 years, most people over 55 prefer to solve these problems on their own or ignore them, and there were no significant differences in attitudes to this topic between men and women, contrary to established stereotypes.

At the end of the survey, our respondents were asked to freely write their opinion about the phenomenon of «openness» to stress and mental health problems, 75% percent gave their detailed answers. 99.9% consider this phenomenon useful for society, as it destigmatizes and prevents the devaluation of mental illnesses, makes them public and helps people in need of help before the disease makes them completely incapacitated. You can see more answers below:

a) Yes, it is useful: it reduces the stigma around the topic of mental disorders, which, in turn, makes life easier for people who have already been diagnosed and undergoing treatment, and for those who are afraid to seek the necessary help because «it's embarrassing»

b) I think it's useful. This opens the eyes of many to the fact that seeing a psychologist and your mental health is an important topic.

c) I think it's useful

d) Yes, because without openness, people who are afraid to speak up and understand their problems will not be able to receive the right mental health treatment

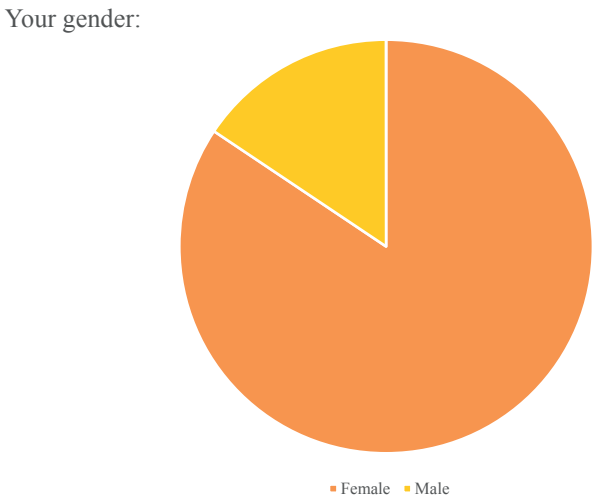
e) Useful because unspoken problems can lead to external aggression, from which other people can both morally and physically suffer

f) Yes, because mental health is very important and our well-being and attitude to life depends on it.

g) Without any doubt. This will greatly improve the standard of living in general.

h) Certainly yes. The more openly this is talked about in society, the more willingly those who need help will turn to specialists (and generally acknowledge the problems)

i) Very useful, need to remove this stigma



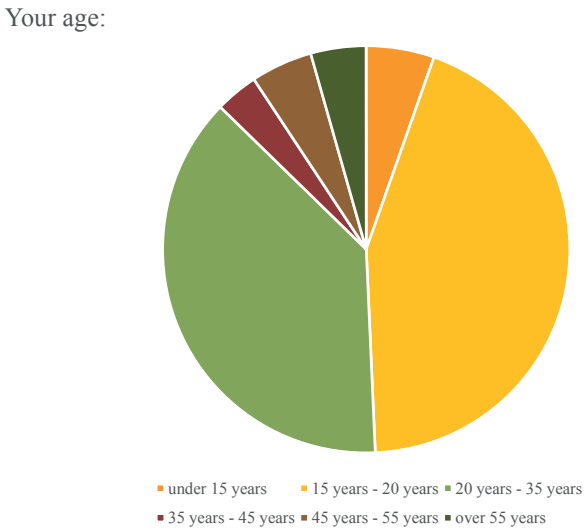


Figure 1.1.

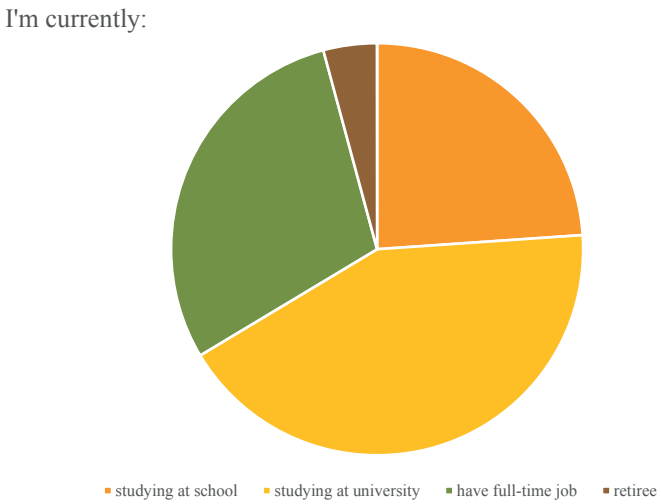


Figure 1.2.

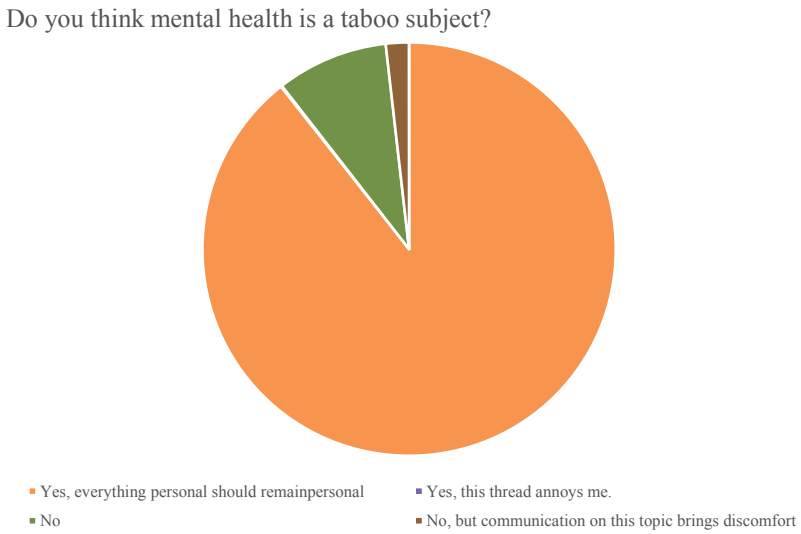


Figure 1.3.

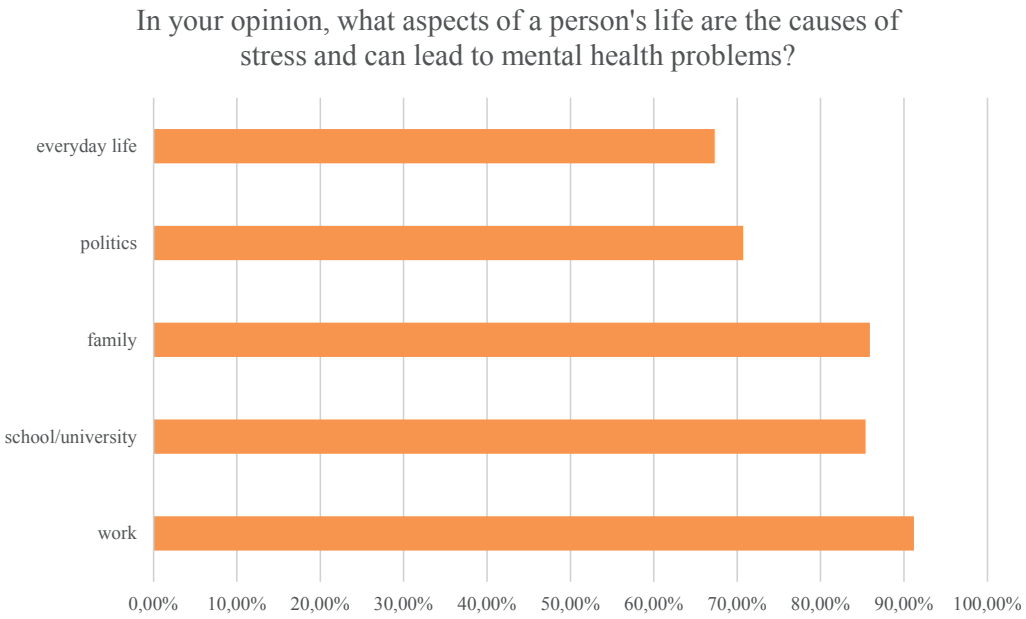


Figure 1.4

Figure 1.5

Conclusion. After analyzing the specialized literature and conducting a social survey, we concluded that people began to think much more about their mental health. Society believes that diseases associated with mental health should be destigmatized and treated on an equal footing with the diagnoses we are accustomed to, eliminating discrimination against sick people. Most of the respondents we interviewed do not consider this topic shameful and taboo, and some want more mass coverage of this problem.

REFERENCES

1. Website of the World Health Organization // «Mental Health». 2018. [Internet] URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-health-strengthening-our-response (Accessed: 27.02.2022).

2. Groisman A.L., Ikonnikova A.N. General psychoprophylaxis and psychohygiena of creative work. Moscow: «Kogito-center», 2006. P. 51-53, 68-71. (in Russian)

3. Savostyanov, A. I. Fundamentals of practical psychohygiena. St. Petersburg: KARO, 2008. P.11-12. (in Russian)

4. Zagornaya E.V. Rehabilitation and restoration of higher mental functions (in diagrams and tables): educational visual aid. Saratov: University Education, 2020. P. 10-12. (in Russian)

SUMMARY

ЗАБОТА О ПСИХИЧЕСКОМ ЗДОРОВЬЕ. ФЕНОМЕН ОТКРЫТОСТИ

Ручка В.В., студ. 2 курса, **Якубовская У.А.**, студ. 2 курса
Кирьянова Е.В., студ. 2 курса, **Сандулян В.С.**, студ. 2 курса
Руководитель: **Жидкова Н.В.**, старший преподаватель, НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет;
197376, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14
E-mail: valeriya.ruchka@spcpu.ru

Это исследование было проведено с целью выявления отношения людей к вопросам психического здоровья и причины повышенного внимания к этой теме в последние несколько лет. С был проведен обзор литературы и социологический опрос среди русскоязычного населения. Обработав и проанализировав результаты, мы выявили растущий интерес к теме психического здоровья, которую мы обозначили, как «феномен открытости».

Ключевые слова: *проблемы психического здоровья, психогигиена, стресс, психическое здоровье, воздействие, отношение.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Website of the World Health Organization // «Mental Health». 2018. [Internet] URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-health-strengthening-our-response (Accessed: 27.02.2022).

2. Гройсман А.Л., Иконникова А.Н. Общая психопрофилактика и психогигиена творческого труда. М.: «Когито-центр», 2006. С. 51-53, 68-71.

3. Савостьянов А.И. Основы практической психогигиены. СПб: КАРО, 2008. С.11-12.

4. Загорная Е.В. Реабилитация и восстановление высших психических функций (в схемах и таблицах) : учебно-наглядное пособие. Саратов: Университетское образование, 2020. С. 10-12.

УДК 615.074

EXTRACTION OF LICORICE ROOT WITH THE NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENT

Shikova V.A., 1st year student
(ORCID: 0000-0003-3028-4238; Web of Science ResearcherID AFO-2873-2022)
Scientific advisers: **Burakova M.A.**, associate professor of the Department of industrial technology of medicinal research
(ORCID: 0000-0002-3880-0359)
Bobysheva T.V. senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popova St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: ikka2207@gmail.com

Natural deep eutectic solvents (NADES) are a new class of green solvents used to extract various groups of biologically active compounds from natural raw materials. NADES based on sucrose and citric acid were used for the extraction of glycyrrhizic acid from the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. in order to replace the toxic solvent with an environmentally friendly one. Licorice roots were extracted in an ultrasonic bath (5g licorice: 40g NADES) for 30 min at 40± 2°C. The concentration of glycyrrhizic acid was determined spectrophotometrically (0.690%±0.034%). Fingerprint analysis was performed with High Performance Liquid Chromatography.

Keywords: *Glycyrrhiza glabra* L., *glycyrrhizic acid, ultrasound extraction, «green» technologies, natural deep eutectic solvents, sucrose, citric acid.*

Introduction. The genus Glycyrrhiza includes well-known traditional medicinal plants found in several regions of the world. *Glycyrrhiza glabra* L. is native for Mediterranean regions, central and southern Russia, Asia and parts of Iran. [1] The roots are used in traditional medicine for over 4,000 years and are described in traditional Chinese medicine, European herbal medicine and Russian official medicine as well.

The main active compound of Licorice is glycyrrhizin (glycyrrhizic acid (GA) and its salts). It is a type of saponin compound consisting of the triterpenoidaglycone, glycyrrhetinic acid (glycyrrhetinic acid; and its salts) combined with the disaccharide glucuronic acid [2].

The pharmacological effects attributed to GA are anti-inflammatory, antioxidant, antiviral, anticancer, antidiabetic etc. [3].

In Russian official medicine, licorice syrup is used as expectorant and anti-inflammatory drug. It is prescribed for treatment of diseases of the upper respiratory tract, lungs, hyperacid gastritis, peptic ulcer of the stomach and duodenum.

Extraction of biologically active compounds from natural sources is challenging in terms of technological as well as economic consideration. Disadvantages of the classical technology for preparation of licorice syrup is extraction of raw materials with ammonia-alcohol solution, long thermal effect during the thickening of the extract, the root waste is contaminated with ammonia. This require the recovery of ammonia from the waste and during evaporation of the extract.

Green technologies are aimed at reducing the negative impact on the environment, using mechanisms and principles that «work» in nature in production processes and increasing the energy efficiency of processes.

In recent years, green extraction has been an expanding research area, which involves the innovation and making sustainable extraction processes based on optimum utilization of raw materials, energy, and solvents. NADES are an alternative to toxic organic solvents and ecological-friendly.

NADES are a new class of solvents, which is obtained from natural, inexpensive and readily available components (for example, carboxylic acids, sugars, alcohols, amines and choline chloride) and are mixtures of hydrogen bond donors with acceptors. NADES have unique physical and chemical properties such as high solvent power and adjustability along with environmental benefits such as low vapor pressure, non-flammability, biodegradability, stability, etc. [4]. High viscosity is a limitation of use of NADES, a factor that slows down the diffusion of these solvents into the plant cell. However, the viscosity of NADES can be reduced by adding water, which results in increased solubility and extraction efficiency of the desired compounds. The aim of this work was to study the possibility of extracting licorice root with a deep natural eutectic solvent and the possibility of replacing the toxic solvent with sucrose-based NADES.

The purpose of this study was to develop an environmentally friendly, waste-free technology for processing licorice root using a natural deep eutectic solvent.

To achieve the purpose, the following tasks were set: to find a replacement for a toxic organic solvent to obtain licorice root syrup, to obtain licorice syrup, to conduct a comparative analysis of the products obtained, to find a way to utilize the licorice root waste.

Materials and methods

For the study, we used the plant raw material «Licorice Roots» (PJSC «Krasnogorsklexsredstva», Krasnogorsk, Russia, Lot No. 30417, expiration date 08.2022).

For the synthesis of NADES we used sucrose (Reakhim 26 1141 0012) and citric acid (Reakhim 34 2961 1382). For quantitative analysis, ethanol (02.22.10.2019), acetone (02.16.2020), trichloroacetic acid (A17.12.18) were taken.

To obtain NADES, sucrose (100 g) was mixed with citric acid (0.4 g) and 40 ml of water, heated at 70 ± 2°C for 1 h.

Before extraction, raw licorice roots were crushed on a grinder excelsior (Bosch MMR08A1) and sifted through a 2 mm sieve. Before extraction, licorice roots (5 g) were moistened with 1 ml of 95% alcohol, mixed and kept for 30 minutes. Extracted in an ultrasonic bath (PSB.2835.05): 5 g of wetted licorice roots were poured with syrup and kept for 30 minutes at a temperature of 40ºC, cooled. The waste was filtered and separated.

Licorice Root Syrup (Erkapharm, lot 09.01.2020) was used as reference drug.

After extraction, the waste was recycled. Obtaining snacks with licorice root meal: licorice root waste was mixed with oatmeal, crushed candied fruits and olive oil. Rolled out and baked in the oven at a temperature of 180 ºC for 10 min.

Analytical Methods

HPLC Analysis

Conditions: Chromatograph LC-20AB Shimadzu (Japan), detector SPD-M20A, column ZorbaxEclipse XDB C18 column 250 × 4.6 mm × 5μm; sample volume 20 μL; elution rate 1 mL/min; detection wavelength 237 nm. Mobile phase: 10 ml acetonitrile + 90 ml 0.1% formic acid solution.

HPLC Analysis Conditions

Solvent: 10 ml acetonitrile + 90 ml 0.1% formic acid solution.

Dilution: 1.0 ml of the sample was placed in a 5 ml flask, 3 ml of the solvent was added, kept in an ultrasonicator for 10 min, the solution was brought to the mark with the solvent and filtered through a membrane filter with a pore diameter of 0.45 μm.

Method for the quantitative determination of glycyrrhizic acid in the extracts.

About 2 g of the extract was placed in a 250 ml flat-bottomed flask, 10 ml of a 3% (m/m) solution of trichloroacetic acid in acetone was added, mixed and heated under reflux in a boiling water bath for 20 min. Then, 12 ml of a 3% solution of trichloroacetic acid in acetone was poured into the flask, cooled, and filtered through a paper filter. The flask was washed 2 times with 4 ml of a solution of 3% trichloroacetic acid in acetone, filtering through the same filter. A concentrated ammonia solution was added dropwise to the resulting filtrate until a thick precipitate formed. The precipitated solution was filtered through a paper

filter. The precipitate with the filter was transferred to the flask in which the precipitation was carried out, dissolved in 25 ml of water. 5 ml was taken from the flask with the resulting solution, transferred to a 25 ml volumetric flask, and the volume was adjusted to the mark with water.

The optical density of the solution was measured with a spectrophotometer (Shimadzu UV-1280) at a wavelength of 260 nm in a cuvette with a layer thickness of 10 mm relative to the reference solution (water was used as the reference solution) [1].

The content of glycyrrhizic acid (X) in the extract in percent was calculated by the formula:

$$X = \frac{A \cdot 822 \cdot 25 \cdot 20 \cdot 100}{a \cdot 1 \cdot 11000 \cdot 1000}$$

where A – optical density of the test solution;
a – weight of substance, g;
822 – molecular weight of glycyrrhizic acid, g/mol;
11000 – molar absorption rate of glycyrrhizic acid.

Results and discussions

An organoleptic comparison was made between reference drug (Erkapharm Licorice Root Syrup) and NADES licorice extract.

Reference licorice syrup

Appearance: Thick brown liquid.
Smell: Specific, with a characteristic alcohol aroma.
Taste: Sweet, not very pronounced, characteristic of licorice.

NADES licorice extract

Appearance: Brown thick liquid.
Smell: Specific.
Taste: Sweet, strongly pronounced, characteristic of licorice, with aftertaste.

The results of the HPLC analysis are present (Figure 1).This figure shows a fingerprint of three samples of licorice, made by HPLC. It can be seen that the main set of compounds in all three chromatograms is close. On the chromatogram of the syrup, more intense peaks of sonic compounds can be noted. Probably, the difference in the intensity of the main peaks of the compounds is associated with their concentration in the samples.

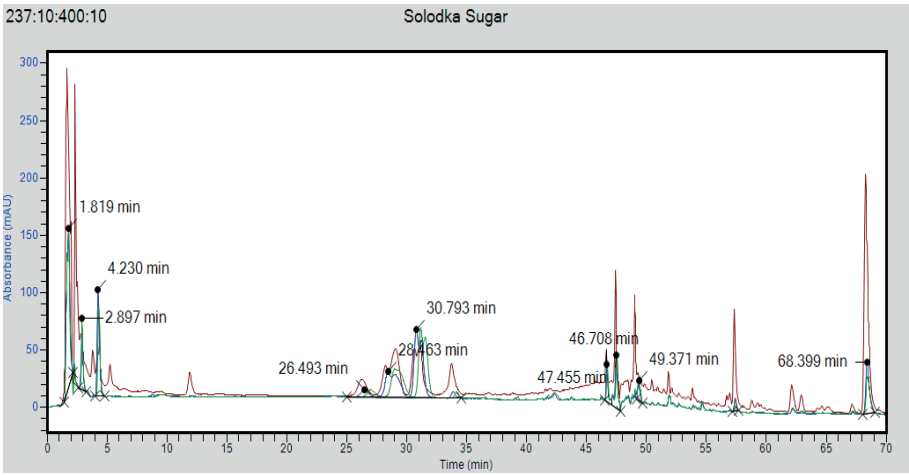


Figure 1. Fingerprint analysis of samples extracts of licorice with HPLC: Sample No. 1: Licorice syrup from a pharmacy (preparation) – brown; Sample No. 2: Licorice + NADES – blue; Sample No. 3: Licorice + alcohol + NADES – green

To study the extraction of glycyrrhizic acid with «green» solvents, sugar-containing NADES based on sucrose and citric acid were chosen.

Quantitative content of glycyrrhizic acid in NADES licorice bark extract was 0.690% ±0.034%.

According to M.V.Egorov and V.A. Kurkin [5] the concentration of glycyrrhizic acid in licorice syrup varies in the range 0.71-1.33%. Thus, the concentration of glycyrrhizic acid in licorice syrup (Erkapharm) was lower (0.0500% ±0.0025%), and our NADES extract was almost in concentration of glycyrrhizic acid in [5].

Snacks were obtained from licorice root waste after NADES extraction as a functional food (Figure 2). The tasting analysis showed that these snacks had pronounced organoleptic properties and a weak aftertaste, which is probably due to the presence of saponins in licorice, which contain a bitter-liquorice flavor.

Figure 2. Snacks from the waste of licorice root

Conclusion. With the use of NADES, it was possible to extract a spectrum of biologically active substances similar to the pharmaceutical syrup of licorice root.

In terms of the content of glycyrrhizic acid, NADES extract surpasses food supplements and is not inferior to pharmacy syrup.

Sugar syrup was chosen as NADES to replace the toxic solvent to produce licorice root syrup.

Licorice root syrup and licorice snacks were obtained as a functional food.

A drug (licorice root syrup) and a functional food product (snacks) were obtained from one type of medicinal plant material.

A comparative analysis of licorice syrup, made using waste-free technology, and syrup from the pharmacy chain by spectrophotometry and HPLC was carried out.

REFERENCES

1. Liquorice: from botany to phytochemistry / M. Öztürk [et al.]. Cham: Springer. 2018. DOI:10.1007/978-3-319-74240-3

2. A novel approach towards green extraction for glycyrrhitinic acid by ionic liquid based microwave assisted extraction and optimization through response surface methodology / M. Bhan [et al.] // Pharmacogn. J. 2017. Vol. 9(6). P. 866-872. DOI:10.5530/pj.2017.6.136

3. Liquorice (Glycyrrhiza glabra): A phytochemical and pharmacological review / G. Pastorino [et al.] // Phytother. Res. 2018. Vol. 32(12). P. 323-2339. DOI:10.1002/ptr.6178.

4. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology / Y. Dai [et al.] // Anal. Chim. Acta. 2013. Vol. 766. P. 61-68. DOI: 10.1016/j.aca.2012.12.019.

5. Egorov M.V., Kurkin V.A. Qualitative and quantitative analysis of pharmaceutical «Glycyrrhizae syrup» // Modern problems of science and education. 2015. N 4. P. 553. (in Russian)

SUMMARY

ЭКСТРАКЦИЯ КОРНЕЙ СОЛОДКИ ПРИРОДНЫМИ ГЛУБОКИМИ ЭВТЕКТИЧЕСКИМИ РАСТВОРИТЕЛЯМИ

Шикова В.А., студ. 1 курс
(ORCID: 0000-0003-3028-4238; Web of Science ResearcherID AFO-2873-2022)
Руководитель: **Буракова М.А.**, доц. каф. промышленной технологии лекарственных препаратов
(ORCID: 0000-0002-3880-0359)
Бобышева Т.В, старший преподаватель НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ikka2207@gmail.com

Природные глубокие эвтектические растворители (Natural deep eutectic solvents -НАДЭС) – новый класс зеленых растворителей, используемых для извлечения различных групп биологически активных соединений из природного сырья. НАДЭС на основе сахарозы и лимонной кислоты использовали для экстракции глицирризиновой кислоты из корней Glycyrrhizaglabra L. с целью замены токсичного растворителя на экологически чистый. Корни солодки экстрагировали в ультразвуковой ванне (5 г солодки: 40 г НАДЭС) в течение 30 мин при 40±2°С. Концентрацию глицирризиновой кислоты определяли спектрофотометрически (0,690%±0,034%). Фингерпринт анализ проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Ключевые слова: *Glycyrrhiza glabra* L.*, глицирризиновая кислота, ультразвуковая экстракция, «зелёные» технологии, природные глубокие эвтектические растворители, сахароза, лимонная кислота.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Liquorice: from botany to phytochemistry / M. Öztürk [et al.]. Cham: Springer. 2018. DOI:10.1007/978-3-319-74240-3

2. A novel approach towards green extraction for glycyrrhitinic acid by ionic liquid based microwave assisted extraction and optimization through response surface methodology / M. Bhan [et al.] // Pharmacogn. J. 2017. Vol. 9(6). P. 866-872. DOI:10.5530/pj.2017.6.136

3. Liquorice (Glycyrrhiza glabra): A phytochemical and pharmacological review / G. Pastorino [et al.] // Phytother. Res. 2018. Vol. 32(12). P. 323-2339. DOI:10.1002/ptr.6178.

4. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology / Y. Dai [et al.] // Anal. Chim. Acta. 2013. Vol. 766. P. 61-68. DOI: 10.1016/j.aca.2012.12.019.

5. Егоров М.В., Куркин В.А. Качественный и количественный анализ препарата «Сироп солодки» // Современные проблемы науки и образования. 2015. N 4. С. 553.

УДК 31:311.42

IMPACT OF COVID-19 GLOBAL PANDEMIC ON PHARMACEUTICAL INDUSTRY ECONOMY

Dobrynina T.V., 2nd year student, **Novikova M.P.**, 2nd year student
Scientific adviser: **Petrova M.V.**, senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
(ORCID: 0000-0002-5001-617X)
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popova St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: tatyana.dobrynina@spcpu.ru, marina.novikova@spcpu.ru

The aim of this study is to identify the impact of COVID-19 pandemic on the economy of the pharmaceutical sector and to consider the society opinion concerning the economic development of the pharmaceutical industry by taking a sociological poll. As the result of the research, there has been identified short-term and long-term influence of the pandemic on the pharma industry. The opinion of the society has turned out to be true about short-term impacts, but not about long term ones.

Keywords: *COVID-19, global pandemic, pharmaceutical industry, economy, sociological poll, coronavirus, SARS-CoV-2.*

Introduction. The global pandemic of COVID-19 caused huge economic and social upheaval all over the world. Many companies and businesses suffered from negative effects of the pandemic such as isolation, lockdowns, limitations on logistics and disruption of supplies.[1] This economic crisis affected all sectors of the economy. We have focused on the pharmaceutical industry and COVID-19 impact on it. On the one hand, the pandemic caused an injection of money into the pharma sector to stimulate the development of vaccines and treatment against COVID-19, on the other hand global economic crisis affects pharma the same as other sectors.[2] The foregoing set the aim of this study. We have identified the impact of COVID-19 pandemic on the economy of the pharmaceutical sector, the reasons for it and consider the opinion of society about the economic growth of the pharmaceutical industry.

Materials and methods. We used the following methods for the research:

1) General scientific method: literature review about research topic, generalization, comparison and systematization of the empiric and theoretical data.

2) Empiric method: sociological poll among students.

Main part. We have analyzed theoretical data and held an opinion poll among students of our university to compare society opinion with statistics. The results of the poll are represented on the diagrams below. We have also highlighted some trends:

- Almost 16% of people polled started to follow the news of pharmaceutical industry in the pandemic period;
- Slightly more than 75% are sure that pandemic positively affects economy of pharma sector and that revenue increased (and almost a half of them believe that revenue increased by several times);
- About 80% think that the main reason for economic growth was a demand for personal protective equipment and about 68% – that's a demand for medicines;
- 70% suppose that investigation in pharma is perspective.

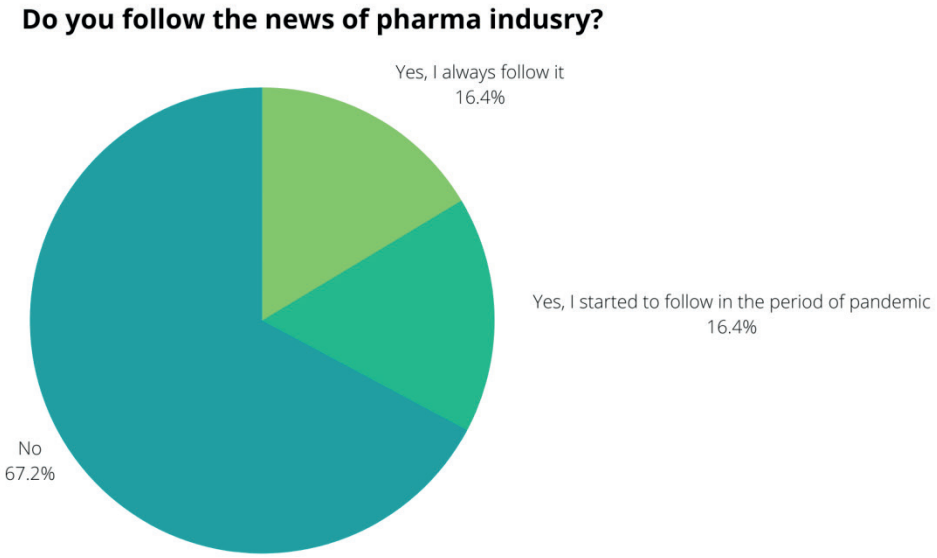


Figure 1. Do you follow the news of pharma industry – pie chart

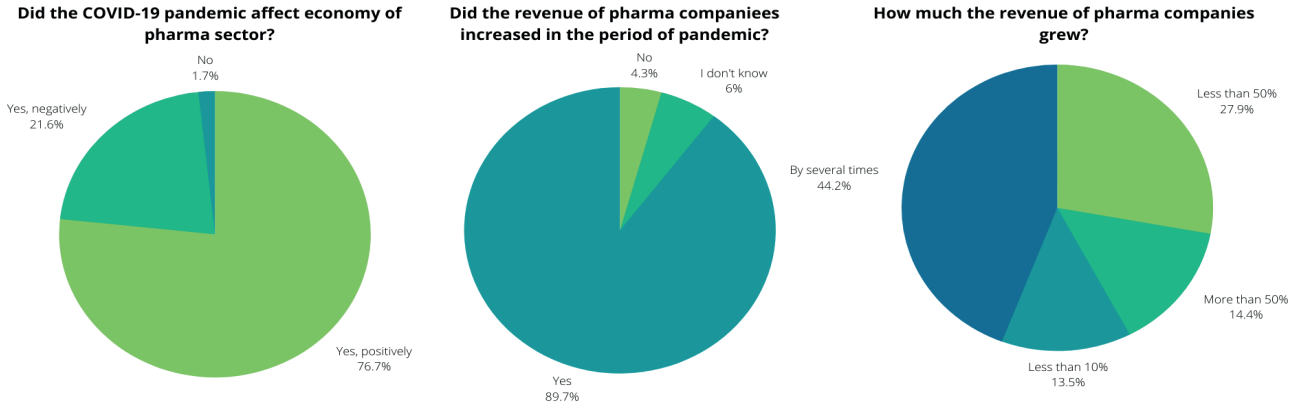


Figure 2. Impact on pharma sector pie charts

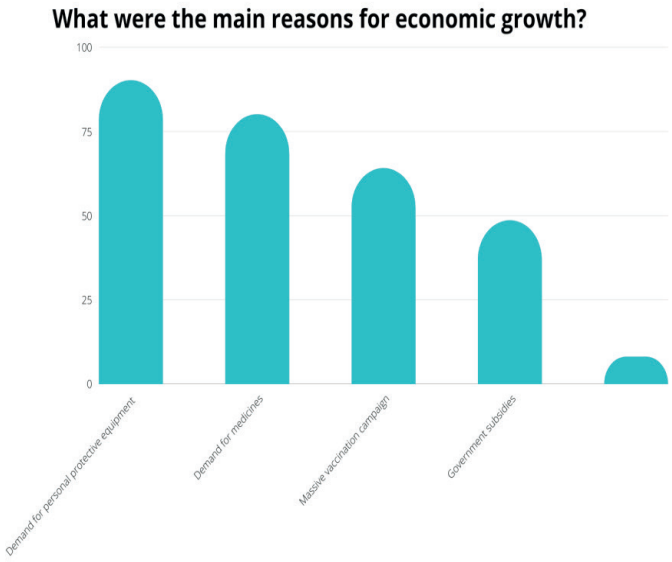


Figure 3. Reasons for economic growth diagram

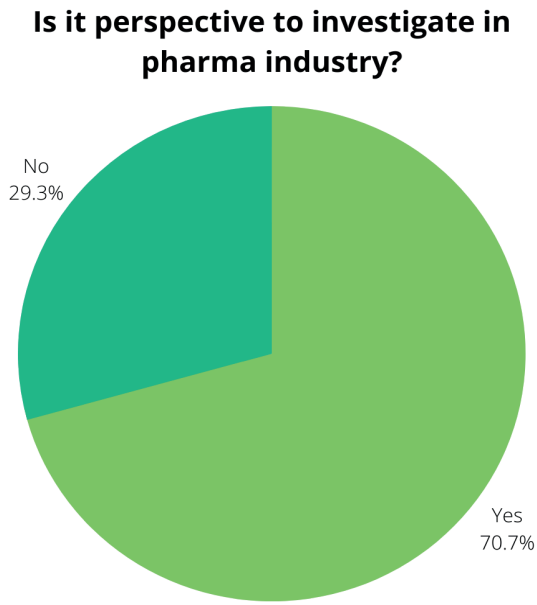


Figure 4. Investigation in pharma sector pie chart

In a sense, they are right, because short term impacts showed the fast growth of the economy, especially in the case of companies which were developing vaccines against COVID-19 (some of them got government subsidies or pre-orders for doses that have

mostly and in some cases completely covered research and development costs)[2] , the rest of companies had positive impacts such as panic buying and stocking, extremely high demand for personal protective equipment and medicines.[3] However, long term impacts lead to industry growth slow-down and possible trend changes in consumption. Some analysts are of opinion that pharmaceutical companies have to change their marketing techniques in the post-covid era, reasons for it can be people's habit to use online markets, approval delays, moving towards self-sufficiency in pharma-production supply chain. [3] For example, The Nasdaq Biotech Index gained over 30% in 2020 to reach an all-time high in 2021. But in 2022 it relapsed to the level of the beginning of 2020.[4]

Conclusion. The short and long term impacts of COVID-19 pandemic on pharmaceutical industry economy were identified and public opinion about economic growth was considered. Public opinion was right about short term impacts but not about long term ones.

REFERENCES

1. Khan M.M.R., Basak K. Shifts in pharma-marketing trends in post COVID-19 era //International Journal of Multidisciplinary: Applied Business and Education Research. 2021. Vol. 2(2). P. 108-114.
2. Ghosh J. The Political economy of Covid-19 vaccines //The India Forum. 2021. Vol. 5. P. 1-4
3. Ayati N., Saiyarsarai P., Nikfar, S. Short and long term impacts of COVID-19 on the pharmaceutical sector. [Internet]. URL: https://doi.org/10.1007/s40199-020-00358-5 (Accessed: 03/03/2022).
4. Evaluate Pharma World Preview 2021. Outlook to 2026. 14th edition July 2021. Vol. 2016.

SUMMARY

ВЛИЯНИЕ ГЛОБАЛЬНОЙ ПАНДЕМИИ КОВИД-19 НА ЭКОНОМИКУ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Добрынина Т.В., студ. 2 курса, **Новикова М.П.,** студ. 2 курса
Руководитель: **Петрова М.В.,** старший преподаватель, НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации (ORCID: 0000-0002-5001-617X)
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: tatyana.dobrynina@spcpu.ru, marina.novikova@spcpu.ru

Проведено исследование с целью выявления влияния пандемии Ковид-19 на экономику фармацевтической отрасли и с помощью социологического опроса произведена оценка общественного мнения об экономическом развитии фарминдустрии в период пандемии. В результате исследования были выявлены факторы краткосрочного и долгосрочного влияния на фарминдустрию. Также было выявлено, что общественное мнение достаточно точно отражает краткосрочное влияние, но не долгосрочное.

Ключевые слова: *Ковид-19, глобальная пандемия, фармацевтическая промышленность, экономика, социологический опрос, коронавирус, SARS-CoV-2.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Khan M.M.R., Basak K. Shifts in pharma-marketing trends in post COVID-19 era //International Journal of Multidisciplinary: Applied Business and Education Research. 2021. Vol. 2(2). P. 108-114.
2. Ghosh J. The Political economy of Covid-19 vaccines //The India Forum. 2021. Vol. 5. P. 1-4
3. Ayati N., Saiyarsarai P., Nikfar, S. Short and long term impacts of COVID-19 on the pharmaceutical sector. [Internet]. URL: https://doi.org/10.1007/s40199-020-00358-5 (Accessed: 03/03/2022).
4. Evaluate Pharma World Preview 2021. Outlook to 2026. 14th edition July 2021. Vol. 2016.

УДК 58:581

ANALYSIS OF CARBOHYDRATES IN EXTRACTS OF ROOT AND ABOVEGROUND PART OF COMARUM PALUSTRE L.

Mineev A.A., 2nd year student, **Petrov N.V.**, 2nd year student
Scientific advisers: **Povydysh M.N.,** Doctor of Biology and Pharmacy, professor,
Bobysheva T.V., senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popov St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: andrej.mineev@spcpu.ru

In this research was aimed at analyzing the aboveground and underground parts of the marsh cinquefoil in order to investigate the polysaccharides contained in it. Gravimetric method of precipitation was used for the analysis. Also in this research, a qualitative analysis of monosaccharides was carried out, using HPTLC.

Keywords: *Comarum palustre L., polysaccharides, comparative analysis*; *qualitative analysis, aboveground parts, underground parts.*

Introduction. Comarum palustre L. is a perennial herb from the Rosaceae family, growing in the northern hemisphere [1], which is of interest to scientists due to its wide biological activity and diversity of chemical composition [2]. One of the most active biologically active groups (BAS) is marsh cinquefoil polysaccharides, which are considered responsible for the high antidiabetic activity of plants [3,4]. Therefore, their further study is of particular interest.

Research objects. The dried features of the use of the aboveground and underground parts of the marsh cinquefoil (Comarum palustre L.) were used as objects of study. The harvesting of plant material is carried out in the vicinity of the Nursery of Medicinal Plants of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education SPCPU of the Ministry of Health of Russia (Leningrad Region, Priozerskoye Highway, 38 km) in 2019 and 2020. The aboveground part was harvested during the flowering period. The plant was cut at the base at a distance of 3-5 cm from the surface, dried in an infrared dryer. The underground part is harvested in the autumn after the end of the growing season. The rhizomes were washed in running water and dried using an infrared dryer.

Purpose of research. The purpose of this research is a comparative determination of the content of the sum of water-soluble polysaccharides in the aboveground and underground parts of the marsh cinquefoil, as well as a qualitative analysis of free monosaccharides.

Research methodology. To determine the content of the total water-soluble polysaccharides in aqueous extracts of the roots and grass of the marsh cinquefoil, the gravimetric method of precipitation with ethanol was used [5]. The studies were carried out in triplicate. 20g. crushed dried raw materials of the roots and aerial parts were sieved through a sieve with a pore diameter of 0.5 cm. Extraction with water was carried out twice in a water bath under reflux for two hours. The ratio of raw materials and extractant was 1:20. The obtained extracts were combined and concentrated to a volume of 15-29 ml using a rotary evaporator under reduced pressure and a temperature not exceeding 60° C. The polysaccharides from the extracts were precipitated using five times the volume of 96% ethanol. To purify the fraction from free monosaccharides, the procedure was repeated several times. The supernatants were pooled and left for further study of the monosaccharide composition. To get rid of proteins, the resulting precipitate was repeatedly washed with acetone. The acetone fraction was discarded. The residue, together with the filter, was first dried in air, then at a temperature of 100–105°C to a constant weight, weighed, and then the filter weight was subtracted, and the content of the total polysaccharides was calculated in terms of air-dry raw material.

To determine the qualitative composition of monosaccharides, the supernatant was analyzed by high performance thin layer chromatography (HPTLC). Aqueous solutions of xylose, arabinose, maltose, galactose, rhamnose, sucrose, glucose, and lactose were used as standards. Test samples and standard samples were applied to a HPTLC plate (Silicagel 60 F 254, 200.0x100.0 mm, Merck, Germany) using a Linomat 5 semi-automatic applicator (Camag, Sweden) in an amount of 2-5 µl. The distance from the edge of the plate was 20.0 mm, the distance between the deposition zones was 12.4 mm. The plate was chromatographed in a CAMAG Automatic Developing Chamber (ADC2). The solvent system (isopropyl acetate-ethyl acetate-methanol-water) was used as an eluent in the ratio 5:4:1:0.1. The plates were developed with a mixture of 2% solutions of aniline and diphenylamine in acetone and 85% phosphoric acid, followed by heating at a temperature of 120°C. The retention factors of each chromatographic spot were determined, the identification was based on comparison with standard monosaccharide samples and literature data.

Research results. As a result, sums of polysaccharides were obtained from the aboveground and underground parts of the marsh cinquefoil, which were amorphous powders of pale beige color.

The content of the sum of water-soluble polysaccharides in terms of absolutely dry raw materials in percent (X) was calculated by the formula:

$$X = \frac{(m2 - m1) * 500 * 100 * 100}{m * 25 * (100 - W)}$$

where:

m_1 – the mass of the filter, g;

m_2 – the mass of the filter with sediment, g;

m – the mass of raw materials, g;

W – the raw material moisture content, %.

Thus, for the roots, the content of the sum of water-soluble polysaccharides in terms of air-dry raw materials was 1,34%, for the aboveground part 5,62%.

As a result of the analysis of free monosaccharides by HPTLC (High-performance thin-layer chromatography) in the supernatant after the precipitation of polysaccharides, 7 zones were found, 3 of them were identified in comparison with witnesses as maltose, sucrose and glucose.

Research was carried out in 3-fold repetition. The results are presented in the table:

Table – The content of polysaccharides in different parts of the plant

Experience №	Content of total polysaccharides, %	
	Aboveground part	Underground part
1	5,57%	1,41%
2	5,65%	1,32%
3	5,64%	1,29 %
Average value	5,62%	1,34%

Also, thin-layer chromatography was performed to confirm the results on the presence of mono- and oligosaccharides such as maltose, sucrose and glucose in the supernatant.

After applying sample drops and standard solutions to the chromatographic plate (Sorbfil), it was placed in a chromatographic chamber with a mobile phase and left for a few minutes.

Detection was carried out using ultraviolet radiation.

An approximate chromatogram is shown in Figure 1:

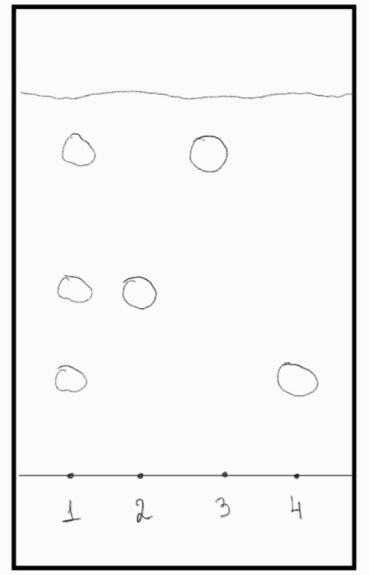


Figure 1. Chromatogram of the supernatant fluid (1) of standard samples-witnesses of maltose (2), sucrose (3) and glucose (4)

Conclusions. Based on the results of the study, it can be concluded that marsh cinquefoil (Comarum palustre L.) is a potential source of polysaccharides, which may be perspective for further study of their biological activity. The plant has anti-inflammatory, antibacterial, urinary and diaphoretic, antipyretic, hemostatic, analgesic and hypotensive effects. There are data that allow us to attribute marsh cinquefoil to plants with antitumor activity. Based on the research, we can conclude that marsh cinquefoil is a perspective raw material for its use as a medicinal substance.

REFERENCES

1. Kashchenko N.I., Chirikova N.K., Olennikov D.N. Agrimoniin, an active ellagitannin from Comarum palustre herb with anti-α-glucosidase and antidiabetic potential in streptozotocin-induced diabetic rats // Molecules. 2017. Vol. 22(1). P. 73. doi: 10.3390/molecules22010073.

2. Kumar V., Nagar S., Sharma P. Opportunity of plant oligosaccharides and polysaccharides in drug development // Carbohydrates in Drug Discovery and Development. Elsevier, 2020. – P. 587-639.

3. In Vitro Antioxidant activities and anti-diabetic effect of a polysaccharide from Schisandra sphenanthera in rats with type 2 diabetes / J. Niu [et al.] // International journal of biological macromolecules. 2017. Vol. 94. P. 154-160.

4. Liu Y., Huang G. Extraction and derivatization of active polysaccharides // Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry. 2019. Vol. 34.(1). P. 1690-1696.

5. Strugar J., Povydysh M.N. Chemical components of Comarum palustre l. and their biological activity // Medico-pharmaceutical journal «Pulse». 2020. Vol. 22(12). P. 126-140. (in Russian)

SUMMARY

АНАЛИЗ УГЛЕВОДОВ В ЭКСТРАКТАХ КОРНЕЙ И НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО (*COMARUM PALUSTRE L.*)

Минеев А.А., студ. 2 курса фарм. факультета, **Петров Н.В.**, студ. 2 курса фарм. факультета
Руководители: **Повыдыш М.Н.**, д. биол. наук, проф. каф. фармакогнозии, доцент
Бобышева Т.В., старший преподаватель, НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация

В данной работе была поставлена цель анализа надземной и подземной частей сабельника болотного с целью анализа содержащихся в нем полисахаридов. Для исследования были применены методы гравиметрического осаждения. Также в данной работе был проведен качественный анализ моносахаридов, с использованием ВЭТСХ.

Ключевые слова: Comarum palustre L.; сумма полисахаридов; сравнительная оценка; качественный анализ, надземная часть, поздемная часть.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kashchenko N.I., Chirikova N.K., Olennikov D.N. Agrimoniin, an active ellagitannin from Comarum palustre herb with anti-α-glucosidase and antidiabetic potential in streptozotocin-induced diabetic rats // Molecules. 2017. Vol. 22(1). P. 73. doi: 10.3390/molecules22010073.
2. Kumar V., Nagar S., Sharma P. Opportunity of plant oligosaccharides and polysaccharides in drug development // Carbohydrates in Drug Discovery and Development. Elsevier, 2020. – P. 587-639.
3. In Vitro Antioxidant activities and anti-diabetic effect of a polysaccharide from Schisandra sphenanthera in rats with type 2 diabetes / J. Niu [et al.] // International journal of biological macromolecules. 2017. Vol. 94. P. 154-160.
4. Liu Y., Huang G. Extraction and derivatization of active polysaccharides // Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry. 2019. Vol. 34.(1). P. 1690-1696.
5. Стругар Й., Повыдыш М. Н. Химические компоненты Comarum palustre l. и их биологическая активность //Медико-фармацевтический журнал «Пульс». 2020. Т. 22. N 12. С. 126-140.

УДК 61:615.1

THE USE OF EXTRACTS OF RAW MATERIALS OF THE GENUS DIOSCOREA UNDER EXTREME PHYSICAL EXERTION

Turavinina Z.A., 2nd year student
Scientific advisers: **Ivkina A.S.**, senior researcher of the CEF,
Bobysheva T.V., senior lecturer, Scientific research center of linguistics and Cross-Cultural Communication
St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14, Prof. Popova St., St. Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: zlata.turavinina@spcpu.ru

In the course of this study on laboratory animals, the most effective dosage of the tested extracts of culture and medicinal plant raw materials (LRS) of dioscorea was determined under conditions of hemic hypoxia, swimming in water at a comfortable temperature (t = 22-24 °C) with a load of 10% of the animal's body weight, and an assessment of the functional state of laboratory animals in the test was carried out forced swimming in hypoxia after taking the test objects at the selected dose. It is shown that the culture and LRS of dioscorea are a fairly effective means of pharmacological correction of the tolerability of the complex effects of hypoxia and physical exertion.

Keywords: *hypoxia, laboratory animals, sodium nitrite, dioscorea, working capacity, pharmacological correction.*

Introduction. Currently, the human body is often subjected to various extreme loads (separate or combined), which can reduce performance and endurance. In order to maintain effective human activity, pharmacological correction of the tolerability of certain extreme exposures is required. It is implemented with the help of pharmacological agents of various classes (antioxidants, antihypoxants, nootropics, adaptogens, etc.) [1]. However, sometimes these funds are not effective enough, as the body gets used to it. In this regard, the aim of the study was to study the effectiveness of new drugs with protective activity and to justify the choice of their effective dose when exposed to extreme factors.

Extracts of culture and LRS of dioscorea were selected as the test object. Almost all species of the Dioscoreaceae family have medicinal properties: Japanese Dioscorea, opposite Dioscorea, Nippon Dioscorea, elephant Dioscorea, hairy Dioscorea, etc. The main active substances of dioscorea are saponins, which are contained in large quantities in the rhizomes of this plant. Among

the pharmacological effects are noted: activation of the activity of the heart and brain, improvement of hemodynamics, lowering cholesterol levels, improving general condition, combating fatigue, sleep disorders and increased irritability.

Main part. The study was conducted on white mongrel female mice weighing 18-22 g, obtained from the nursery "Rappolovo" and adapted for at least 5 days. The animals were kept under standard conditions in accordance with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes and Guidelines on Laboratory Animals and Alternative Models in Biomedical Technologies [2,3]. The animals were kept in transparent polycarbonate cages for rodents with litter. The «Full-fledged extruded compound feed LBK-120 for laboratory animals (rats, mice)», produced by JSC Tosnensky Compound Feed Plant, Russia, was used with free access to tap drinking water. In each group of experimental animals, 10 animals were selected, to which the test objects were injected intragastrically in the form of solutions.

To select an effective dose, the state of hemic hypoxia was simulated by intraperitoneal administration of sodium nitrite to animals at a dosage of 300 mg/kg 30 minutes after a single administration of the test subjects.

The results of this experiment are presented in Table 1.

Table 1 – Life expectancy of animals after modeling hemic hypoxia (intraperitoneal administration of sodium nitrite at a dosage of 300 mg / kg 30 minutes after a single injection of the test objects) (M±SD)

Group	Life expectancy M±
Group № 1 (extract of LRS dioscorea 10 mg/kg)	798,4±161,7
Group № 2 (extract of LRS dioscorea 100 mg/kg)	824,4±135,5
Group № 3 (extract of dioscorea culture 10 mg/kg)	716,1±156,3
Group № 4 (extract of dioscorea culture 100 mg/kg)	803,4±101,2
Group № 5 (control)	756,8±194,2

As an effective dose, a dose of 100 mg/kg was selected for both the LRS extract and the culture extract.

The effectiveness of pharmacological correction of the tested objects in the selected dose was evaluated by the dynamics of the indicator of physical performance – the swimming time of animals with a load of 10% of body weight in water at a comfortable temperature (t° = 22-24 °C) under hypoxia [4] after the course administration of extracts for 5 days. Moderate intensity of hypoxic effects was provided by intraperitoneal administration of sodium nitrite methemoglobin-forming agent at a dose of 50 mg/kg [3]. Sodium nitrite was administered to one group of animals 30 minutes after the last administration of the test objects, and to the other – a day later. Background swimming of animals before the introduction of drugs under similar conditions served as a control swimming.

The results of evaluating the effectiveness of the influence of the test objects on the tolerability of the complex effects of hypoxia and physical activity are presented in Table 2.

Table 2 – The duration of forced swimming of animals under the influence of moderate hemic hypoxia and physical activity (c) after the course administration of the test objects at a dosage of 100 mg / kg (M±SD)

Group	M ± SD (s) background duration	M ± SD (s) after the course introduction
Group № 1 (extract of LRS dioscorea + NaNO2 after 30 minutes)	503,9±140,3	846,6±327,2*
Group № 2 (extract of LRS dioscorea + NaNO2 after a day)	448,9±139,5	444,4±310,4
Group № 3 (extract of dioscorea culture + NaNO2 after 30 minutes)	427,3±135,0	901,2±430,2*
Group № 4 (extract of dioscorea culture + NaNO2 after a day)	362,5±133,9	781,1±352,8*

* – statistically significant difference relative to the background value ($p \leq 0.05$)

Descriptive statistical methods were applied to all quantitative data: the sample mean values (M) and standard deviations (SD) were calculated [5].

The intergroup differences were analyzed by nonparametric methods for multiple comparison – the Mann-Whitney criterion. The differences were determined at 0.05 significance level.

Conclusion. During the study, it was determined that the most effective dosage of LRS extracts and dioscorea culture when exposed to hypoxia was a dose of 100 mg/kg. This dose was used for course administration in assessing the effectiveness of pharmacological correction of the complex effect of hypoxia and physical activity. According to the results of the experiment, a statistically significant increase in the swimming time of mice was observed relative to the background after 5-day administration of extracts of LRS and culture of dioscorea when exposed to hypoxia 30 minutes after the last administration (LRS and culture) and a day after the last administration (culture).

REFERENCES

1. Pharmacological correction of the tolerance of simultaneous hypoxic and temperature effects on the functional state of the body / E.B. Shustov [et al.] // Biomedicine. 2021. Vol. 17 N(1). P. 57-69

2. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.

3. Biomedical (preclinical) study of the antihypoxic activity of drugs: method. Recom. MP21-44-2017 / N.N. Karkishchenko [et al.]. M.: FMBA of Russia, 2017. 98 p.

4. Features of the interpretation of indicators of physical performance of laboratory animals according to the indicators of swimming tests / V.N. Karkishchenko [et al.] // Biomedicine. 2016. N 4. P. 34-46.

5. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. M.: Grif and K, 2012. 944 p.

SUMMARY

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСТРАКТОВ СЫРЬЯ РОДА ДИОСКОРЕЯ ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

Туравинина З.А., студ. 2 курса
Руководители: **Ивкина А.С.,** ст. научный сотрудник ЦЭФ,
Бобышева Т.В., ст. преподаватель, НОЦ иностранных языков и межкультурной коммуникации
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: zlata.turavinina@spcpu.ru

В ходе данного исследования на лабораторных животных была определена наиболее эффективная дозировка испытуемых экстрактов культуры и лекарственного растительного сырья (ЛРС) диоскореи в условиях гемической гипоксии, плавания в воде комфортной температуры (t= 22-24°C) с грузом в 10% от массы тела животного, а также проведена оценка функционального состояния лабораторных животных в тесте вынужденного плавания в условиях гипоксии после приема испытуемых объектов в выбранной дозе. Показано, что культура и ЛРС диоскореи являются достаточно эффективным средством фармакологической коррекции переносимости комплексного воздействия гипоксии и физической нагрузки.

Ключевые слова: *гипоксия, лабораторные животные, натрия нитрит, диоскорея, работоспособность, фармакологическая коррекция.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Фармакологическая коррекция переносимости одновременного гипоксического и температурного воздействия на функциональное состояние организма / Е.Б. Шустов [и др.] // Биомедицина. 2021. Т. 17 N1. С. 57-69 doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-57-69

2. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (ETS 123). Страсбург, 1986.

3. Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств: метод. Реком. МР21-44-2017/ Н.Н. Каркищенко [и др.]. М.: ФМБА России, 2017. 98 с.

4. Особенности интерпретации показателей физической работоспособности лабораторных животных по показателям плавательных тестов / В.Н. Каркищенко [и др.] // Биомедицина. 2016. N 4. С. 34–46.

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.

Секция 8. Среднее профессиональное образование: исследования в области фармации

Ежегодная конференция студентов и аспирантов «Молодая Фармация» проводится на протяжении более 10 лет и является одним из ярких моментов студенческой жизни.

Студенты и преподаватели техникума принимают активное участие в работе секции СПО. На протяжении многих лет мы приглашаем к участию обучающихся среднего профессионального образования и преподавателей других образовательных организаций, таких, как КрасГМУ, КурскГМУ, медицинский колледж имени В.М. Бехтерева Санкт-Петербург. Подобного рода взаимодействие позволяет оценить качество обучения студентов СПО, поделиться опытом.

В процессе подготовки своих работ под руководством опытных преподавателей студенты выбирают актуальные темы различных направленностей: обзоры современных лекарственных препаратов, исследование содержания лекарственных веществ в лекарственных растениях, произрастающих в разных ареалах, оценка отношения студентов к здоровому образу жизни, профилактике употребления наркотиков, табакокурения, зависимости студентов от социальных сетей и вопросы мотивации к обучению, и т.д.

Проведение подобного рода конференций позволяет обучающимся развить и закрепить профессиональные и надпрофессиональные компетенции, которые они получают в ходе освоения основной профессиональной программы, помогает в определении своей профессиональной траектории, мотивирует на продолжение обучения на программах высшего образования, а также получения дополнительного профессионального образования. Возможность общения с представителями работодателей фармацевтической отрасли дает возможность узнать о перспективах и возможностях компаний, расширяет возможности трудоустройства.

Секция «Среднее профессиональное образование: исследования в области фармации»

1 место – Эффективность применения пре- и пробиотиков в период новой коронавирусной инфекции COVID-19», Удальцова Л.С., 1 профессиональный курс. Руководители – Васильева Е.Е., Литовченко В.М. СПБ ГБПОУ «Медицинский колледж имени В.М. Бехтерева».

2 место – Маски и коронавирус в студенческой и аптечной среде», Кряжев Руслан, группа КС-3301, 2-ой курс, Фёдорова Ульяна, группа КО-3386, 4-ый курс. Руководитель – Васильева Н.В., фармацевтический техникум ФГБОУ ВО СПХФУ

3 место – «Зависимость фармакокинетики от вида лекарственной формы», Тарасенко Анастасия, группа ко-3382, 4-ый курс. Руководитель – Блануца О.В., Бельгова Л.Д., фармацевтический техникум ФГБОУ ВО СПХФУ

Модератор секции
Ирина Александровна Кочанова
Директор техникума
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России

УДК: 61:615.1

ВЛИЯНИЕ ФОРМЫ ЗАГОТОВКИ НА СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЛОДАХ ШИПОВНИКА И РЯБИНЫ

Горбунов Н.М., студ. 4 курса
Руководители: **Маркова Е.А.,** преподаватель фармацевтической химии
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: nikita.gorbunov@spbfarmt.ru

При недостатке аскорбиновой кислоты развивается гиповитаминоз, в тяжелых случаях авитаминоз (цинга). При цинге наблюдается утомляемость, сухость кожи, расшатываются и выпадают зубы. В конечном итоге возможен летальный исход.

Актуальность: в прежние времена люди погибали от цинги, а современном мире распространён гиповитаминоз, т.е. дефицит витамина С особенно в осенне-весенний период.

Задачи нашей работы:

Провести сравнительный анализ содержания аскорбиновой кислоты в плодах шиповника и рябины, в зависимости от форм заготовки: высушенные, свежие, замороженные.

Ключевые слова: *аскорбиновая кислота, количественный анализ, шиповника плоды, рябины плоды.*

Самые богатые природные источники витамина С – это фрукты и овощи. Содержание аскорбиновой кислоты в 100 г растительной пищи, представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание аскорбиновой кислоты в растительной пище

Растительная пища	Содержание аскорбиновой кислоты в мг	Растительная пища	Содержание аскорбиновой кислоты в мг
Брабадосская вишня	1300-1700	Брокколи	**115**
Шиповник	1250	Сладкий перец	**100-250**
Укроп	**100**	Кочанная капуста	**45**
Облепиха	200-800	Манго	**39**
Черная смородина	177	Томат	**38**
Петрушка	**160**	Лимон	**53**
Киви	**80-100**	Апельсин	**50**
Рябина обыкновенная	98	Яблоко	**12**
Картофель	**17**	Лук репчатый	**7**

Жирным шрифтом в таблице выделено то, что можно найти в продуктовых магазинах нашего города круглый год.

Помимо овощей, фруктов и лекарственного растительного сырья аскорбиновая кислота содержится в продуктах животного происхождения (мг/100гр): телячья печень – 40 мг; говяжья печень – 33 мг; коровье молоко – 1 мг.

В нашем регионе широко распространены растения, плоды которых известны, как чемпионы по содержанию витамина С. Наше исследование проводили на плодах рябины обыкновенной и шиповника майского.

Заготовку сырья мы делали с дикорастущего шиповника в период полного созревания, то есть когда плоды красные и твердые. Перед сушкой плоды шиповника отсортировали, удаляя плодоножки, посторонние примеси, незрелые и испорченные плоды. Сушка проходила в тепловой сушилке до 80 °С, после сушки удалили чашелистики. Так же часть отсортированных плодов положили тонким слоем на ровную поверхность и заморозили в морозильной камере в течение суток. Рябину заготавливали осенью в фазе созревания, до заморозков. Срезали ножницами целые грозди и после сортировали, удаляя плодоножки, посторонние примеси (веточки и листочки) и испорченные плоды. Сушка проходила при температуре до 80 °С. Часть свежих плодов отправили в морозильную камеру сырьё на сутки.

Качественны анализ аскорбиновой кислоты: реакция с метиленовым синим.

Аскорбиновая кислота обладает способностью восстанавливать метиленовый синий, окисляясь при этом до дегидроаскорбиновой кислоты. Метиленовый синий при восстановлении обесцвечивается.

Количественный анализ аскорбиновой кислоты проводится несколькими способами: метод йодометрии (прямое титрование), метод алкалиметрии, метод йодатаметрии, нами был выбран метод с использованием раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия.

Взяли точную навеску 20 граммов плодов, поместили в фарфоровую ступку. Растерли со стеклянным порошком при постепенном добавлении 300мл воды. Настаивали 10 минут, затем размешали и отфильтровали.

В коническую колбу емкостью 100 мл внес 1 мл 2% раствора соляной кислоты, после 1 мл полученного извлечения и 13 мл воды, затем титровали микробюреткой 0,001 н. раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до появления розовой окраски, которая не уходила в течении 60 секунд.

Вычисляем по формуле

$$X = \frac{U * F * 0.000088 * U_1 * 100\%}{a * U_2}$$

где U – объем 0,001н. раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, пошедшего на титрование, в миллилитрах;
F – поправка на титр 0,001 н. раствора 2,6-дихлорфенолинфенолята натрия;
U1 – объем извлечения, соответствует всей навеске, в миллилитрах;
U2 – объем извлечения, взятого для титрования в миллилитрах;
а – навеска сырья в граммах.
Данные по моему исследованию я сформировал в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание аскорбиновой кислоты в плодах

Лекарственное растительное сырье	Израсходовано титранта в мл	Содержание аскорбиновой кислоты
Плоды шиповника свежие	5,5	0,726
Плоды шиповника сушеные	3,7	0,4884
Плоды шиповника предварительно замороженные	4,5	0,594
Плоды рябины свежие	0,5	0,066
Плоды рябины сушеные	0,4	0,0528
Плоды рябины предварительно замороженные	0,9	0,1188

Заключение

Сравнительный анализ содержания аскорбиновой кислоты в плодах шиповника показал, что при любом способе заготовки сохраняется аскорбиновая кислота в пределах нормы. Наиболее эффективно, на наш взгляд, применять свежие плоды. При замораживании так же сохраняется большое количество витамина С, поэтому мы рекомендуем использовать этот метод заготовки не только для домашнего использования, но и для фармацевтического производства.

Аанализ аскорбиновой кислоты в плодах рябины показал, что в замороженных плодах содержание витамина С превышает содержание в свежих плодах. Поэтому мы считаем возможным рекомендовать использовать замороженную продукцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рябины обыкновенной плоды. ФС.2.5.0093.18 // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М., 2018. С. 6603-6609 [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/1221/

2. Шиповника плоды. ФС.2.5.0106.18 // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М., 2018. С. 6622-6633 [Электронный ресурс] URL https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/1439/

3. Витаминная азбука: в каких продуктах искать витамины (По материалам сайта «Здоровое питание») // Управление федеральной службы по надзору в сфере защиты потребителей и благополучия человека по городу Москве [Электронный ресурс] URL: https://77.rospotrebnadzor.ru/index.php/press-centr/186-press-centr/9702-vitaminnaya-azbuka-v-kakikh-produktakh-iskat-vitaminy

4. Количественное определение витамина // Биохимия: сборник лабораторных работ / В.В. Шапкарин [и др.]; Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. – Кемерово, 2005. С. 77-84

УДК 61:615.1

COVID-19 – МИФЫ И РЕАЛЬНОСТЬ

Кокина О.Е., студ., 2 год обучения, **Кряжев Р.А.**, студ., 2 год обучения
Руководитель: **Бельгова Л.Д.**, преподаватель фармакологии
Блануца О.В., преподаватель фармакологии
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России Фармацевтический техникум
197198, Санкт-Петербург, Татарский переулок, дом 12-14, Российская Федерация
E-mail: ruslan.kryazhev@spbfarmt.ru, olga.kokina@spbfarmt.ru

Каждый год команда, изучающая Оксфордский словарь, выбирает слово года. В 2020 г. этим словом стал «коронавирус». Новая коронавирусная инфекция в короткий срок распространилась по всей планете, обрушила системы здравоохранения многих стран. За два года появилось много информации, большая часть из которой оказалась недостоверной. Итак, цель – изучить степень информированности студентов фармацевтического техникума о вирусе SARS-CoV-2, узнать о личном опыте студентов, которые столкнулись с заболеванием.

Ключевые слова: *коронавирусная инфекция, строение вируса, проникновение, заражение, симптоматическая терапия, противовирусные препараты, опрос.*

Поставленная цель подразумевает решение следующих задач:

1. Изучить современные данные об особенностях коронавирусной инфекции;
2. Изучить лекарства, применяемые при ковиде и рассмотреть их эффективность;
3. Провести анонимное анкетирование студентов фармацевтического техникума на предмет информирования о вирусе SARS-CoV-2;
4. Сделать выводы об информированности студентов о ковиде, об их осознанности в отношении информации о ковиде, масочного режима и вакцинации.

Вирус – идеальный паразит. У него рецидивированы все функции, кроме заражения и размножения (репликации). Также имеет повышенную склонность к мутациям.

Вирус представляет собой белковую оболочку, внутри которой находится молекула РНК.

SARS-CoV-2 устроен так же, как и многие другие вирусы: сферическая частица, которая покрыта поверхностными белками, которые напоминают корону. Этими выростами вирус взаимодействует с заражаемой клеткой, запуская в нее инфекцию.

Каждый вырост состоит из трех одинаковых белков S (от англ. Spike – шип), которые несут определенную функцию: S1 взаимодействует с рецептором клетки, S2 и S3 – запускают процесс слияния вируса с клеточной мембраной. Мембранный белок M формирует вирусную оболочку. Белок оболочки E формирует ионные каналы, которые нарушают строение клеточных мембран [2].

Внутрь вирус попадает через рецепторы АПФ-2 (ангиотензин-превращающий фермент 2). Эти рецепторы есть на клетках дыхательных путей, тонкого кишечника, стенок сосудов (эндотелия), яичек и некоторых других [3]. Это теоретически означает, что SARS-CoV-2 может проникать во все эти органы, что подтверждается исследованиями. Но в клетках легких SARS-CoV-2 чувствует себя комфортнее, чем в других органах.

В марте 2020 года ученые обнаружили, что коронавирус умеет цепляться за рецепторы CD147. Этих рецепторов мало на поверхности дыхательных путей, но много на иммунных клетках [5]. Возможность вторжения коронавируса в иммунные клетки может быть причиной разбаланса иммунного ответа, который является основной причиной смерти от SARS-CoV-2. Отчасти с этим связана высокая патогенность вируса: он сходу обманывает иммунную систему и выигрывает первые часы, когда вирусных частиц еще мало и иммунитет мог бы подавить инфекцию.

Вирус использует белки-хакеры, чтобы создать в организме хозяина как можно больше копий.

На данный момент существует несколько путей лечения заболевания. Лечение зависит от стадии – вирусной, воспалительной, цитокиновой.

При вирусной стадии (лёгкой) применяется симптоматическая терапия. На воспалительной стадии добавляют стероидные препараты. Но применение стероидных препаратов при воспалительной стадии имеет ряд противоречий. При цитокиновой стадии больного спасают от собственного иммунитета, применяют дексаметазон.

На изобретение лекарства от ковида ушли бы годы, поэтому ученые стали исследовать имеющиеся на рынке препараты. Одним из первых препаратов стал противомалярийный препарат Гидроксихлорохин. В рамках исследования «Solidarity» [8] была доказана его неэффективность.

Похожая судьба была и у следующего препарата – Ремдесивира, препарата для лечения гепатита С. По мнению экспертов из British Medical Journal [11] Ремдесивир не оказывает влияния на продолжительность болезни. В рамках исследования «Solidarity» была опровергнута также эффективность Лопинавира и Интерферона. Исследования препаратов Артесуната, Имантиба и Инфликсилимба продолжаются.

Еще одно направление на критической стадии болезни – переливание крови (плазмы) добровольцев, переболевших COVID-19. В августе 2021 ВОЗ выделило разрешение на этот метод. Но эффективность неясна.

Существуют также альтернативные, немедикаментозные методы, активно применяемые некоторыми врачами. Одним из таких является пронация – лежание на животе по 16 часов в день, при таком положении улучшается газообмен, уменьшается компрессия лёгких [12]. Эффективность неясна.

Информированность людей о заболевании и рекомендованных авторитетными источниками методов лечения страдает. В связи с этим на базе колледжа было проведено анонимное анкетирование студентов на предмет осведомленности о новой коронавирусной инфекции, методах лечения, рекомендованных Минздравом.

80% студентов получают информацию о вирусе из интернета. Ребята хорошо справились с заданием на соответствие особенностей бактерии и вируса. Правильно ответили на вопрос, через какие органы вирус попадает в организм, хотя о тонком кишечнике они, например, не знали. О том, какое название носит первая вакцина и почему коронавирус так назван, студенты ответили верно, но на вопрос, почему ковид так опасен, отвечают общими словами. «Потому что он может обмануть иммунитет», – то, что нужно знать о причине его опасности. О путях передачи студенты знают мало: немногие знают, что ковид передаётся также воздушно-пылевым путём и через касания.

72% опрошенных переболели ковидом в лёгкой форме, 17% ни разу не болели, а 11% тяжело перенесли заболевание. Чаще всего люди лечатся, как при простуде, – чай, парацетамол от температуры и постельный режим. Примерно половина принимали антибиотики или противовирусные, хотя тяжело болели только 11%. Это результат паники.

Сознательно пользуются масками 42% опрошенных, остальные носят маску, например, только в метро. Сейчас ситуация улучшилась, маски отменяют в некоторых странах, статистика заболеваемости падает. Но мы и так знаем, что масочный режим был для студенчества картонным препятствием к нормальной жизни.

К вакцинации относятся скептически только 20% студентов, что достаточно спорно. Почему люди не хотят делать прививку непонятно, но хорошо, что остальные 80% нашли нужным привиться. Так мы вырабатываем коллективный иммунитет.

Из опроса видно, что молодёжь хорошо осведомлена о ковиде, знают, как работать с информацией и где её брать. Ребята понимают значимость вакцинации и ношения масок в людных местах. Люди лечатся теми методами, что предлагает нам Минздрав. Это достаточно большой уровень социальной ответственности: быть осведомлённым значит уже на четверть быть сознательным и ответственным. Люди перестают верить «диванной экспертизе» и перепроверяют информацию, они меньше паникуют.

В работе было рассмотрено строение вируса, его особенности, влияние на организм. Были изучены наиболее популярные методы медикаментозного лечения и их эффективность. Был проведён опрос среди студентов на предмет осведомлённости о новой коронавирусной инфекции. Пандемия – это опыт, который пригодиться человечеству ещё ни раз. Этот опыт трагичен, но он научил нас ценить своё здоровье и здоровье других.

ЛИТЕРАТУРА

1. Якутенко И. Вирус, который сломал планету. Почему SARS-CoV-2 такой особенный и что нам с ним делать : монография. М.: Альпина Диджитал, 2021. 391 с.

2. Коронавирус SARS-CoV-2: научно достоверная 3D модель. [Электронный ресурс]. URL: https://visual-science.com/ru (Дата обращения 01.03.2022).

3. Persistent heterogeneity not short-term overdispersion determines herd immunity to COVID-19 / A.V. Tkachenko [et al.]. 2020.

4. Microbe notes. The structure of SARS-CoV-2. [Internet]. URL: https://microbenotes.com/ (Дата обращения 01.03.2022).

5. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2 [Internet]. URL: https://www.bmj.com/content/ (Дата обращения 01.03.2022).

6. Отраслевые стандарты серии GxP (GLP/GCP/GMP) [Электронный ресурс]. URL: https://rusregister.ru/standards/ (Дата обращения 01.03.2022).

7. Researchers identify potential active substances against coronavirus by running supercomputer simulations [Internet]. URL: https://www.uni-mainz.de/presse/ (Дата обращения 02.03.2022).

8. Клиническое исследование препаратов для лечения COVID-19 «Solidarity» [Электронный ресурс]. URL:https://www.who.int/ru/emergencies/ (Дата обращения 02.03.2022).

9. Rethinking Remdesivir: Synthesis, Antiviral Activity and Pharmacokinetics of Oral Lipid Prodrugs / Robert T. Schooley [et al.] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2021. Vol. 65(10). P. e0115521 DOI:10.1128/AAC.01155-21

10. FDA NEWS RELEASE [Internet]. URL: https://www.fda.gov/news-events/ (Дата обращения 02.03.2022).

11. BMJ [Internet]. URL: https://www.bmj.com/coronavirus (Дата обращения 02.03.2022).

12. Prone Positioning for Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) [Internet]. URL: https://jamanetwork.com/journals/ (Дата обращения 02.03.2022).

13. Схема лечения ОРВИ с подозрением или подтвержденным COVID-19 [Электронный ресурс]. URL: http://vucrb.ru/ (Дата обращения 03.03.2022).

14. Министерство здравоохранения Российской Федерации [Электронный ресурс]. URL: https://minzdrav.gov.ru/news/ (Дата обращения 03.03.2022).

УДК 615.1

«ПУШКИНА У НАС ВСЯК ЛЮБИТ»

Кряжев Р.А., студ. 2 курса фармацевтического техникума
Руководители: **Бельгова Л.Д.**, **Блануца О.В.**
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ruslan.kryazhev@spbfarmt.ru

«Куда пойти учиться после школы?», – таким вопросом задаётся выпускник школы после вручения аттестата и получения баллов ЕГЭ. Каждому хочется поступить в ВУЗ, но не у всех получается. Поэтому дети идут учиться в техникум. Также сюда идут учиться те, кто получил только общее среднее образование – девятиклассники. Но как тем, так и другим, важно продолжать своё культурное образование, важно изучать историю своей страны, важно знать выдающихся культурных деятелей России. Исходя из этих размышлений, была поставлена цель – изучить, насколько студенты фармацевтического техникума осведомлены о вкладе Пушкина в русский язык, литературу и культуру.

Ключевые слова: *Пушкин, русская культура, современный русский язык, «Пушкинская карта».*

В рамках данной работы мы выделяем три главных повода для того, чтобы почтить память великого поэта. Две крупные даты, которые важны для истории нашей страны и истории отечественной литературы: 190 лет с момента пу-

бликации цикла повестей «Повести покойного Ивана Петровича Белкина», 210 лет со дня открытия Императорского Царскосельского лицея. Третий повод – реализация проекта МинКультуры РФ «Пушкинская карта».

Каждый современный человек знает о том, кто такой Пушкин, но не каждый знает, какой вклад в русский язык сделал литератор. Главным образом, Александр Пушкин смог вернуть языку его глубину, содержательность и изящество посредством смешения «низкого» и «высокого» стилей, которые выделил М. В. Ломоносов. Также Пушкин решил проблему смешения русского языка с иностранным в потоке речи и на письме. Александр Сергеевич продвигал необходимость использования иностранных слов только тогда, когда нельзя было найти эквивалентное слово на русском. Помимо этого, Пушкин оставил большое культурное наследие в виде афоризмов, стихотворных притч и устойчивых выражений, которые не утратили актуальность и по сей день.

Современность, в большей степени, характеризуется работой с образами и их толкованиями. Так, образ Александра Сергеевича Пушкина удобно рассматривать через картины, которые были посвящены ему. В работе используются произведения Тропинина, Кипренского, Репина, Брюллова, Айвазовского и Петрова Водкина. Образ Александра Пушкина – это образ лишнего человека, особенного человека, который бунтует ради своей свободы и благодаря ей он обретает своё место в русской истории и литературе. В нынешнее время Пушкин, как образ, используется для обозначения культурной и языковой принадлежности. Александр Сергеевич стал частью бренда под названием «Русская культура». Этот бренд используется, главным образом, когда мы говорим о «Пушкинской карте».

Чтобы узнать отношение студенчества к Пушкину, как к образу и как к литератору, проведён опрос среди студентов фармацевтического техникума, чтобы зафиксировать, помогает ли такое «культурное брендирование» в привлечении студентов к культурной жизни, помнят ли студенты о культурном наследии Александра Сергеевича, считают ли студенты Пушкина актуальным.

67% студентов имеют Пушкинскую карту, но пользовались картой лишь 45% из тех, у кого она есть. По результатам опроса самым посещаемым культурным мероприятием стал театр. Мы связываем это с современной деформацией: театр больше всего похож на кино или другой видеоряд, с которым студент встречается повседневно. Выставки и музеи не вызывают у студентов такого интереса, какой вызывает театр. Среди опрошенных 90% студентов правильно смогли назвать годы жизни литератора. Лишь 17% из опрошенных смогли хотя бы близко подойти к ответу на вопрос, какой вклад в русский язык внёс А. С. Пушкин. 33% признались, что у них нет никаких догадок по этому поводу. Остальные ответы были размытыми. Студенты без проблем смогли назвать по одному прозаическому и стихотворному произведению Александра Сергеевича: даже если студенты не читают Пушкина, то они помнят его произведения. Только 11% студентов считают Пушкина не актуальным.

Современный студент знает, кто такой Александр Пушкин, считает его актуальным, знает его произведения, возможно, читает их, но он не знает главного, как Пушкин изменил русский язык, на котором разговаривают граждане нашей страны и соседних стран СНГ. Образ Пушкина в проекте «Пушкинская карта» используется вполне удачно, так как образ великого литератора транслирует зрителю принадлежность к русской культуре.

Таким образом, Александр Сергеевич Пушкин играет огромную роль в жизни каждого русского человека не только как литератор, который сделал возможным реформирование языка, но и стал полисемантическим образом, который в разные эпохи трактуется по-разному, но, так или иначе, остаётся актуальным. Образ Пушкина для культурных брендов удобен в использовании и узнаваем, поэтому в дальнейшем, вероятно, образы великих людей, которые сделали ценнейшие открытия и провели реформы в том или ином направлении, будут чаще использоваться, как сегодня использует образ Пушкина проект «Пушкинская карта».

То, что дети не знают фундаментальных основ, которые сделали русский язык таким богатым, звучным и глубоким, это проблема, которая может быть разрешена только через систему образования, в том числе и среднего профессионального. Преподаватели литературы и русского языка должны обратить внимание на эту брешь, чтобы студенты, видя образ Пушкина, не только тянулись к нему, но и понимали, почему к нему стоит тянуться.

ЛИТЕРАТУРА

1. Улыбашева М. Как Пушкин изменил русский язык / М. Улыбашева. М.: Настя и Никита, 2015. 15 с.

2. Визель М. Пушкин. Болдино. Карантин. Хроника самоизоляции 1830 года / М. Визель. – М. : Бослен, 2021. 192 с.

3. Гаспаров Б.М. Поэтический язык Пушкина как факт истории русского литературного языка : монография / Б.М. Гаспаров. – СПб: Академический проект, 1999. 400 с.

4. Ахматова, А.А. О Пушкине : статьи и заметки / А.А. Ахматова. – М. : Книга, 1989. 368 с.

УДК 61-615,1

ВЛИЯНИЕ ЦЕЛОСТНОСТИ ПЛОДОВ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ НА СОДЕРЖАНИЕ В НЕМ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Матвеева А.М., студ. 4 курса фармацевтического техникума
Руководитель: **Маркова Е.А**.
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: anastasiya.matveeva@spbfarmt.ru

Среди огромного количества препаратов, представленных в различных аптечных сетях, одной из наиболее известных фармакологических групп, без сомнения, являются витамины. Витамины – это незаменимые и необходимые вещества для нашего организма и роль витаминов в жизни человека является весьма существенной. С открытием витаминов и выяснением их природы появились новые перспективы не только в предупреждении и лечении авитаминозов, но и в области лечения многих других заболеваний. Один из наиболее востребованных витаминов – это витамин С. Витамин С, как водорастворимый витамин легко выводится из организма, и он должен регулярно поступать в организм человека с пищей. В качестве дополнительных источников может использоваться лекарственное растительное сырье (ЛРС), богатое витамином С.

Цель работы: изучить влияние целостности лекарственного растительного сырья на содержание аскорбиновой кислоты.

Задачи работы:

• изучить химический анализ аскорбиновой кислоты

• провести сравнительное количественное определение аскорбиновой кислоты в цельном и измельченном ЛРС

Ключевые слова: *аскорбиновая кислота, количественный анализ, шиповника плоды, рябины плоды.*

Витамин С содержится в продуктах растительного происхождения, наиболее богаты им плоды шиповника и рябины, поэтому их плоды и стали объектом изучения.

Для исследования были выбраны 2 вида ЛРС: плоды шиповника майского и плоды рябины обыкновенной. Сырье было заготовлено в 2021 году до заморозков в период полного созревания. Перед сушкой сырьё сортировалось, удалялись плодоножки, посторонние примеси, незрелые или испорченные плоды. Часть сырья подвергалось измельчению. Сушка сырья проводилась в сушилке при температуре 70^0С, отдельно сушилось цельное и измельченное сырье.

Аскорбиновая кислота проявляет свойства восстановителя, поэтому все методы анализа основаны на её окислении. При определении аскорбиновой кислоты в ЛРС в основе лежит реакция с 2,6-дихлорфенолиндофеналятом натрия. Количественное определение аскорбиновой кислоты проводилось в соответствии с фармакопейным методом: точную навеску плодов растирали, экстрагировали водой, затем титровали полученные растворы. По результатам титрования провели расчет содержания аскорбиновой кислоты.

Содержание аскорбиновой кислоты в процентах (X) в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$x = \frac{V * F * \ 0{,}000088 * V1 * 100}{a * V2 * (100 - b)}$$

где V – объем 0,001 н. раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, пошедшего на титрование, в миллилитрах;

F – поправка на титр 0,001 н. раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия;

V1 – объем извлечения, соответствующий всей навеске, в миллилитрах;

a – навеска сырья в граммах;

V2 – объем извлечения, взятого для титрования в миллилитрах;

b – влага в процентах

Результаты были сведены в таблицу 1:

Таблица 1 – Содержание аскорбиновой кислоты в ЛРС

ЛРС	Пошло на титрование	Содержание аскорбиновой кислоты
Плоды шиповника свежие	5,5	0,726
Плоды шиповника цельные, высушенные	3,7	0,4884
Плоды шиповник, высушенные с предварительным измельчением	4,6	0,6072
Плоды рябины свежие	0,5	0,066
Плоды рябины цельные, высушенные	0,4	0,0528
Плоды рябины, высушенные с предварительным измельчением	0,4	0,0528

В результате проделанной работы сделаны следующие выводы:

наибольшее содержание витамина С приходится на свежие плоды и рябины, и шиповника, что может быть рекомендовано для использования производителям витаминных лекарственных препаратов;

в плодах шиповника, высушенных с предварительным измельчением аскорбиновой кислоты больше, чем в цельных высушенных плодах шиповника;

в плодах рябины и цельных, и высушенных, с предварительным измельчением, содержание аскорбиновой кислоты одинаковое, то есть степень измельчения плодов на результат не повлияла.

Проведенный анализ показал, что измельчение плодов при заготовке влияет на содержание аскорбиновой кислоты индивидуально для каждого вида лекарственного растительного сырья

ЛИТЕРАТУРА

1. Маев И.В. Витамины. Москва: МЕДпрессинформ, 2011. Стр. 544.

2. Плоды. ОФС.1.5.0007.15. // Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. 2. М., 2018. С. 2262-2264. [Электронный ресурс]. URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/448/

3. Технология получения витамина С (L-аскорбиновая кислота) Разговоров, П.Б.. Технология получения биологически активных веществ: учеб. пособие / П.Б. Разговоров; Иван. гос. хим.-технол. ун-т. – Иваново,2010. – 72 с.

4. Лекарственное растительное сырье. Фармацевтические субстанции растительного происхождения //Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Том 2. М., 2018. С. 2213-2214 [Электронный ресурс] URL: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2. .

УДК 615.1

АПТЕКАРСКИЙ УСТАВ – СВЯЗЬ ВРЕМЁН

Носар К.С., студ. 2-го года обучения, **Белянина У.М.**, студ. 2-го года обучения
Руководитель: **Мельникова С.Б.,** преподаватель
Фармацевтический колледж
Красноярского государственного медицинского университета имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
660049, Красноярск, ул. Партизана Железняка, зд.1, Российская Федерация
E-mail: ksenianosar11662@gmail.com

Аптекарский устав является важным историческим документом. В своем исследовании мы изучили исторические аспекты аптечного дела в России, а также его законодательный характер. В процессе исследования нами было выявлена историческая преемственность нормативных документов различных этапов истории. Таким образом, аптекарский устав 1789 года остаётся актуальным и сегодня.

Ключевые слова: *аптекарский устав, аптека, закон, приказ, история, документация.*

Реформы Петра I, и в первую очередь установление аптечной монополии, положили начало становлению отечественной фармацевтики и обусловили фундаментальные переустройства в аптечном деле. За 200 лет установился общепринятый образ и стиль российской фармации.

Целью исследования стало изучение исторического преобразования аптечного дела в России, установления его законодательной базы.

Задачи:

1. Изучить пункты Аптекарского устава.
2. Изучить современную нормативную документацию.
3. Установить историческую преемственность законодательной базы фармацевтической отрасли в России.

За основу работы был взят Аптекарский устав. Первый аптекарский устав был издан в 1789 году и содержал в себе 23 статьи. Текст был доступен на русском и немецком языках. Статьи Аптекарского устава предписывали правила ведения аптеки и обязанности ее работников. Определялся регламент открытия и устройства аптеки и надзор за ее работой.

Мы провели исследовательскую работу по сравнению пунктов Аптекарского устава и современной действующей нормативной документации, упорядочивающей деятельность современных отечественных аптек. В результате анализа установлено, что значительное количество пунктов из устава перешло в современные законодательные документы Российской Федерации, что подтверждает неизменность ключевых обязательств, характеризующих деятельность аптеки. Результаты проведенного исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Сравнительный анализ пунктов Аптекарского устава и современной нормативной документации

Номер пункта	Содержание пунктов Аптекарского устава	Соответствующие современные нормативные документы
1	Каждая аптека в российском государстве должна быть управляема мужем отличным и государственной медицинской коллегией в фармацевтическом знании испытанным и удостоенным.	Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. N 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»

Номер пункта	Содержание пунктов Аптекарского устава	Соответствующие современные нормативные документы
2	К управлению аптекой допускается «аптекарь, яко добрый гражданин, верно хранящий присяжную должность, повинен быть искусен, честен, совестен, благоразумен, трезв, прилежен, во всякое время присутственен, и исполняющий звание свое всеобщему благу соответственно».	Этический кодекс фармацевтического работника России.
3	Аптекарь должен иметь добрые, свежие, к употреблению годные и расходу соразмерные припасы и из них приготовлять потребные сложные лекарства в таком только количестве, чтобы они, паче чаяния испортившись, не причиняли ни самому убытку, ни вреда ближнему.	Министерство Здравоохранения Российской Федерации Приказ от 26 октября 2015 г. № 751н «Об утверждении правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность»
4	Чтобы аптекарь, употребляя необходимые издержки и труды на изготовление запасов, не понес убытка, то наблюдать следует, чтобы нигде, никто, кроме аптек, лекарств в раздроб не продавал.	Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. N 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»
5	Чтобы аптека в добром состоянии содержалась, должен аптекарь соблюдать во всем отменную чистоту, как в наружности, так особенно в сосудах, лекарство содержащих. Материальная камера должна быть, сверх опрятности, так расположена, чтобы ни сырость, ни сушь вещам вредить не могла, а лаборатория запасена всем тем, что для исправного аптекаря потребно.	Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 24 декабря 2020 г. №44 «Об утверждении санитарных правил СП 2.1.3678 – 20»
6	Аптекарь повинен прилежно смотреть за провизором, подмастерьями и учениками, чтобы успевали в фармацевтической науке и должность свою исполняли совершенно. Для большего же доверия общества к аптекам, не должен аптекарь принимать в услужение ни провизора, ни гезеля, который государственной медицинской коллегией или определением на то штадт-физиком в своем звании не одобрен.	Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. N 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»
7	Всякий аптекарь должен иметь правилом российскую диспенсаторию, pharmacopaea rossica, по которой материалы запасать и лекарства составлять.	Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания
9	Аптекарь повинен иметь крайнее старание, чтобы лекарства составляемы были вещами и весом точно по предписанию врача, дабы тем отвращена была всякая погрешность, подвергающая здоровье и жизнь больного опасности, а доброе имя врача бесславию.	Министерство Здравоохранения Российской Федерации Приказ от 26 октября 2015 г. № 751н «Об утверждении правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность»
10	По неясному рецепту или в котором вес лекарств покажется сомнительным, аптекарь не должен приготовлять лекарство, пока не получит от врача надлежащего объяснения.	Министерство Здравоохранения Российской Федерации Приказ от 24 ноября 2021 г. №1093 «Об утверждении правил отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на осуществление фармацевтической деятельности, медицинскими организациями, имеющими лицензию на осуществление фармацевтической деятельности, и их обособленными подразделениями (амбулаториями, фельдшерскими и фельдшерско-акушерскими пунктами, центрами (отделениями) общей врачебной (семейной) практики), расположенными в сельских поселениях, в которых отсутствуют аптечные организации, а также правил отпуска наркотических средств и психотропных веществ, зарегистрированных в качестве лекарственных препаратов для медицинского применения, лекарственных препаратов для медицинского применения, содержащих наркотические средства и психотропные вещества, в том числе порядка отпуска аптечными организациями иммунобиологических лекарственных препаратов»
11	Рецепты должны исполняться по порядку поступления, но если в каком-то предписан будет немедленный отпуск, то без всякого отлагательства прежде отпускать по нему.	
14	Аптекарь при отпуске лекарств, за печатью, повинен на сигнатурной бумажке написать употребление их точно, как от врача предписано, с показанием имен болящего и врача, года, числа, цены и номера.	
15	Аптекарь повинен все рецепты в самой точности, без упущения вписывать в записную книгу, с внесением имен врача и больного, также года, числа, цены и номера.	

Номер пункта	Содержание пунктов Аптекарского устава	Соответствующие современные нормативные документы
16	Аптекарь не должен отпускать лекарства по рецептам, прописанным докторами, штаб-лекарями или лекарями, не получившими дозволения отправлять практику.	Министерство Здравоохранения Российской Федерации Приказ от 24 ноября 2021 г. №1093 «Об утверждении правил отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на осуществление фармацевтической деятельности, медицинскими организациями, имеющими лицензию на осуществление фармацевтической деятельности, и их обособленными подразделениями (амбулаториями, фельдшерскими и фельдшерско-акушерскими пунктами, центрами (отделениями) общей врачебной (семейной) практики), расположенными в сельских поселениях, в которых отсутствуют аптечные организации, а также правил отпуска наркотических средств и психотропных веществ, зарегистрированных в качестве лекарственных препаратов для медицинского применения, лекарственных препаратов для медицинского применения, содержащих наркотические средства и психотропные вещества в том числе порядка отпуска аптечными организациями иммунобиологических лекарственных препаратов»
17	По требованиям присяжных бабок дозволяется, только во время родов, для родильниц новорожденных младенцев отпускать не сильнодействующие, но самые легкие и безопасные лекарства, как то миндальное масло, коричную воду, розмариновую траву, ревенный сироп и тому подобное. Кроме этих обстоятельств, отпуск лекарств по требованиям бабок вовсе запрещается.	Приказ Минздрава России от 24.11.2021 N 1094н «Об утверждении Порядка назначения лекарственных препаратов, форм рецептурных бланков на лекарственные препараты, Порядка оформления указанных бланков, их учета и хранения, форм бланков рецептов, содержащих назначение наркотических средств или психотропных веществ, Порядка их изготовления, распределения, регистрации, учета и хранения, а также Правил оформления бланков рецептов, в том числе в форме электронных документов»
18	Вещи ядовитые содержать аптекарю под собственным своим хранением и печатью и отпускать их по требованиям самому; при отпуске, для отвращения могущего последовать какого – либо несчастья, иметь письменный вид и сведение, кому именно и на что требуется, и по таком удостоверении, взяв от присланного в получении расписку, отпускать; потом вносить все обстоятельно в особливую книгу.	Министерство Здравоохранения Российской Федерации Приказ от 24 ноября 2021 г. №1093 «Об утверждении правил отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на осуществление фармацевтической деятельности, медицинскими организациями, имеющими лицензию на осуществление фармацевтической деятельности, и их обособленными подразделениями (амбулаториями, фельдшерскими и фельдшерско-акушерскими пунктами, центрами (отделениями) общей врачебной (семейной) практики), расположенными в сельских поселениях, в которых отсутствуют аптечные организации, а также правил отпуска наркотических средств и психотропных веществ, зарегистрированных в качестве лекарственных препаратов для медицинского применения, лекарственных препаратов для медицинского применения, содержащих наркотические средства и психотропные вещества, в том числе порядка отпуска аптечными организациями иммунобиологических лекарственных препаратов» Министерство Здравоохранения Российской Федерации приказ от 26 ноября 2021 г. N 1103н «Об утверждении специальных требований к условиям хранения наркотических и психотропных лекарственных средств, предназначенных для медицинского применения»
19	Аптекарям предписывать для больных лекарства и лечить их запрещается.	Этический кодекс фармацевтического работника России.
20	Аптекарь по просьбам посторонних людей водку двоить ни из хлебного вина, ни из виноградного не должен и повинен накрепко смотреть, чтобы и его подчиненные того не делали.	

Номер пункта	Содержание пунктов Аптекарского устава	Соответствующие современные нормативные документы
21	Аптекарь хлебного и виноградного вина, водки или иного какого нелекарственного питья ни чарками, ни кружками, ни ведрами, ни бочками продавать и тем питьем торговать не должен.	Российская Федерация Федеральный закон №171-ФЗ «О государственном регулировании производства и оборота этилового спирта, алкогольной и спиртосодержащей продукции и об ограничении потребления (распития) алкогольной продукции»
23	Аптекарь, звание свое исправно и верно исполняющий, будет пользоваться от государственной медицинской коллегии соответственным покровительством; нерадивый же и верности не сохранивший, как член общества вредный, восчувствует точную строгость закона.	Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. N 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»

Из этого следует, что многие положения аптекарского устава востребованы до сих пор. Требования, предъявляемые к фармацевтам, содержанию аптек, отпуску лекарств, перешли в современную законодательную базу и всё также обязательны для соблюдения.

Мы отметили сходство современных моральных и этических компонентов профессии фармацевта с устоявшимися положениями прошлых лет.

В заключение отметим, что в своей профессиональной деятельности сотрудникам аптек обязательно следовать лучшим традициям отечественного аптечного дела, применять передовые достижения мировых и российских фармацевтических наук.

ТЕМАТИЧЕСКИЕ РУБРИКИ

76.01.00 Общие вопросы медицины и здравоохранения.

76.01.09 История медицины и здравоохранения. Персоналия

76.01.80 Правовые вопросы

ЛИТЕРАТУРА

1. Аптекарский устав Российской империи. 20 сентября 1789 г.// Первостольник.РФ: Фармацевтический сайт для работников аптеки! [Электронный ресурс]. URL: http://www.первостольник.рф/2012/04/aptekarskij-ustav-rossijskoj-imperii/

2. Федеральный закон от 12.04.2010 г. №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» [Электронный ресурс] URL: https://rg.ru/2010/04/14/lekarstva-dok.html

3. Этический кодекс фармацевтического работника России // Docplayer [Электронный ресурс]. URL: https://docplayer.com/39350529-Eticheskiy-kodeks-farmacevta-i-provizora-vvedenie.html

4. Приказ Министерства Здравоохранения Российской Федерации от 26.10.2015 г. №751н «Об утверждении правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность». [Электронный ресурс]. URL: https://roszdravnadzor.gov.ru/drugs/documents/30045

5. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 24.12.2020 №44 (ред. от 14.04.2022) «Об утверждении санитарных правил» СП 2.1.3678-20 «Санитарно-эпидемиологические требования к эксплуатации помещений, зданий, сооружений, оборудования и транспорта, а также условиям деятельности хозяйствующих субъектов, осуществляющих продажу товаров, выполнение работ или оказание услуг». [Электронный ресурс]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_373317/

6. Приказ Министерства Здравоохранения России от 31.10.2018 г. № 749 «Об утверждении общих фармакопейных статей и фармакопейных статей и признании утратившими силу некоторых приказов Минздравмедпрома России, Минздравсоцразвития России и Минздрава России» «Государственная Фармакопея XIV издания». [Электронный ресурс]. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14

7. Приказ Министерства Здравоохранения России от 24 ноября 2021 г. №1093 «Об утверждении правил отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на осуществление фармацевтической деятельности, медицинскими организациями, имеющими лицензию на осуществление фармацевтической деятельности, и их обособленными подразделениями (амбулаториями, фельдшерскими и фельдшерско-акушерскими пунктами, центрами (отделениями) общей врачебной (семейной) практики), расположенными в сельских поселениях, в которых отсутствуют аптечные организации, а также правил отпуска наркотических средств и психотропных веществ, зарегистрированных в качестве лекарственных препаратов для медицинского применения, лекарственных препаратов для медицинского применения, содержащих наркотические средства и психотропные вещества в том числе порядка отпуска аптечными организациями иммунобиологических лекарственных препаратов». [Электронный ресурс]. URL: http://www.consultant.ru/law/hotdocs/72132.html/

8. Приказ Министерства Здравоохранения России от 24.11.2021 № 1094н «Об утверждении Порядка назначения лекарственных препаратов, форм рецептурных бланков на лекарственные препараты, Порядка оформления указанных бланков, их учета и хранения, форм бланков рецептов, содержащих назначение наркотических средств или психотропных веществ, Порядка их изготовления, распределения, регистрации, учета и хранения, а также Правил оформления

бланков рецептов, в том числе в форме электронных документов» [Электронный ресурс]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_401865/2ff7a8c72de3994f30496a0ccbb1ddafdaddf518/

9. Федеральный закон от 22.11.1995 г. №171-ФЗ «О государственном регулировании производства и оборота этилового спирта, алкогольной и спиртосодержащей продукции и об ограничении потребления (распития) алкогольной продукции». [Электронный ресурс]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_8368/

УДК 61:615.1

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕ- И ПРОБИОТИКОВ В ПЕРИОД НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

Удальцова Л.С., студ. 1 профессионального курса
Руководители: **Васильева Е.Е.**, преподаватель основ микробиологии и иммунологии,
Литовченко В.М., преподаватель фармакологии
Санкт-Петербургское государственное бюджетное профессиональное образовательное учреждение
«Медицинский колледж имени В.М.Бехтерева»
196247, Санкт-Петербург, Ленинский пр., 149, Российская Федерация
E-mail: alion.vasilieva@yandex.ru

Ключевые слова: *пробиотики, микробиота, антибиотики, дисбактериоз, антибиотикотерапия, иммунитет, коронавирусная инфекция.*

Для определения влияния пре- и пробиотиков была поставлена цель оценить эффективность восстановления микробиоты кишечника после антибиотикотерапии, назначенной в период новой коронавирусной инфекции COVID-19.

Пандемия новой коронавирусной инфекции вызвала много глобальных проблем. Одна из них – проблема нерационального применения антибиотиков, которая еще больше обострилась в период пандемии. Проблема антибиотикорезистентности имела глобальный масштаб еще до пандемии. Сегодня 700 тысяч человек на планете ежегодно умирает из-за устойчивости к антибактериальным препаратам. Распространение COVID-19 внесло весомый вклад в данную проблему [1]. Нарушение микрофлоры организма человека вследствие широкого применения антибиотиков повлекло за собой появление устойчивости к ним патогенной микрофлоры. Положительное влияние препаратов, нормализующих микрофлору кишечника (пробиотиков и пребиотиков) на естественные защитные силы организма, являются в настоящее время одним из самых серьезных аргументов для их широкого использования среди здорового населения [2].

Это явилось одной из причин нашего интереса к роли микроорганизмов, которые участвуют в поддержании здоровья человека.

Известно, что пробиотики восстанавливают стабильную микробиоту кишечника, регулируя врожденный и адаптивный иммунитет, демонстрируя возможность их использования для борьбы с COVID-19, так как данная инфекция оказывает неблагоприятное воздействие на микробиоту кишечника. Таким образом, пробиотики и их метаболиты с известными противовирусными свойствами могут использоваться в качестве дополнительного лечения для борьбы с COVID-19 [3].

По данным исследований нарушение микробиоты либо ААД (антибиотикоассоциированная диарея) наблюдается у каждого третьего пациента, принимающего антибактериальные препараты. Пациенты, перенесшие COVID-19, отмечают расстройства со стороны желудочно-кишечного тракта как в период развития заболевания, так и в течение шесть месяцев после выздоровления [4].

Пробиотики – это живые микроорганизмы, которые могут быть включены в состав различных типов пищевых продуктов, а также лекарственные препараты и пищевые добавки.

Термин пробиотики впервые введен в научную литературу в 1965 году для обозначения соединений микробного происхождения, которые в отличие от антибиотиков не убивали, а стимулировали рост микроорганизмов. Пребиотики – это пищевые вещества (в основном состоящие из некрахмальных полисахаридов и олигосахаридов, плохо перевариваемых человеческими ферментами), которые питают определенную группу кишечных микроорганизмов.

В отличие от пробиотиков, большинство пребиотиков используются в качестве пищевых добавок – в бисквитах, кашах, шоколаде, пастообразных и молочных продуктах.

На сегодняшний день в мире производится большое количество лекарственных средств для восстановления нормофлоры за счет как модернизации и улучшения свойств старых лекарственных средств, так и появления новых, в том числе поликомпонентных, содержащих новые штаммы микроорганизмов, а также различные биологически активные вещества [5].

Объектом исследования была группа: из 86 студентов Медицинского колледжа имени В.М. Бехтерева г. Санкт-Петербург, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19 в период с 01.02.2021г. по 20.02.2022г. Для исследования был применён метод анкетирования. Была разработана анкета, содержащая 10 вопросов, касающихся степени тяжести и проявлений перенесенной коронавирусной инфекции, а также применяемых лекарственных препаратов, в том числе пре- и пробиотиков.

В результате анализа анкет было выявлено, что признаки нарушения со стороны функционирования желудочно-кишечного тракта отметили 67% студентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19. В 39,5 % случаев заболевания назначались антибактериальные препараты системного действия и у 85% студентов после антибиотикотерапии наблюдались симптомы микробного дисбактериоза кишечника. У 22,1% пациентов пре- и пробиотики были назначены параллельно с началом курса антибиотикотерапии, а в 17,4% случаев – даже без назначения антибиотиков. По результатам анкетирования в 96% случаев назначения препаратов, улучшающих микрофлору кишечника, пациенты отметили улучшение функционирования ЖКТ. Также результаты показали, что продолжительность коронавирусной инфекции при назначении пре- и пробиотиков составляет 7-10 дней в 59,2% случаев, в то время как без приема этих препаратов такая продолжительность наблюдалась лишь у 5,4% пациентов, а у 70,3% студентов она составляла 10-14 дней.

Таким образом, отмечено, что пробиотическая поддержка с целью коррекции состава кишечной микробиоты необходима для пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, не только после назначения антибактериальных препаратов, но и с первого дня приема антибиотиков и даже вместо противомикробных средств при легкой форме течения COVID-19. Прием пре- и пробиотиков, таких, как Бифидумбактерин, Лактобактерин, Энтерол и Бактисубтил, Линекс, Бификол, Бифилонг, Бифилиз, Кипацид, Флористин, Бифиформ и др. показан тем, кто уже столкнулся с болезнью, и тем, кто хочет защититься от нее. Данная группа препаратов оказывает благотворное влияние на здоровье посредством иммуномодуляции, поддержания функции эпителиального барьера. Поэтому, прием пробиотиков при новой коронавирусной инфекции COVID-19 – верный способ улучшить состояние выздоровевшего человека, особенно после средней и тяжелой формы течения заболевания. Также назначение препаратов из этой группы может использоваться для профилактики заражения бактериальной и вирусной инфекцией.

Актуальность применения пре- и пробиотиков возрастает в условиях недостаточного и неполноценного питания, когда у людей повышается риск развития инфекций. Нормализация кишечной микробиоты помогает предотвратить распространение инфекционных заболеваний [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. COVID-19 – новая глобальная угроза человечеству / Н.Ю. Пшеничная [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2020. N 1. С. 6-13.

2. Бондаренко В.М. Характеристика и терапевтический потенциал пробиотиков по данным клинических испытаний // Биопрепараты. 2007. N 1. С. 11-15.

3. Пащенков М.В., Хаитов М.Р. Иммунный ответ против эпидемических коронавирусов // Иммунология. 2020. N 1. С. 5-19.

4. Chattopadhyay I., Shankar E.M. SARS-CoV-2-Indigenous Microbiota Nexus: Does
Gut Microbiota Contribute to Inflammation and Disease Severity in COVID-19? // Front.
Cell. Infect. Microbiol. 2021. N 11. P. 96, doi:10.3389/fcimb.2021.590874

5. Щекина М.И. Роль пробиотиков в коррекции дисбиотических нарушений // Consilium medicum. Гастроэнтерология. 2009. N 2. С. 36-42.

6. Ali A.M., Kunugi H. Approaches to Nutritional Screening in Patients with
Coronavirus Disease 2019 (Covid-19) // Int. J. Environ. Res. Public. Health 2021. Vol. 18(5). P. 2772. doi: 10.3390/ijerph18052772

УДК 61:615.1

МАСКИ И КОРОНАВИРУС В СТУДЕНЧЕСКОЙ И АПТЕЧНОЙ СРЕДЕ

Федорова У.А., студ. 4 курса фармацевтического техникума,
Кряжев Р.А., студ. 2 курса фармацевтического техникума
Руководитель: **Васильева Н.В.**
Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет
197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, Российская Федерация
E-mail: ruslan.kryazhev@spbfarmt.ru, ulyana.fedorova@spbfarmt.ru

Коронавирусная инфекция – острое инфекционное заболевание вирусной этиологии, которое характеризуется умеренно выраженной интоксикацией и преимущественным поражением верхних отделов дыхательной системы. Источником инфекции являются больные с клинически выраженной или стертой формой заболевания. Чтобы защитить население от заражения, Роспотребнадзор с апреля 2020 года обязал всем людям носить маски и респираторы. Так, цель работы – изучить отношение студенчества и работников аптеки к ношению масок, повысить мотивацию студентов в отношении защитных мер.

Ключевые слова: *маски, коронавирус, здоровье, соблюдение правил, защита.*

В соответствии с заданной целью решены следующие задачи:

- Изучить, какие виды масок бывают и эффективны ли они в защите от коронавируса;
- Выделить основные положения по ношению масок – носить или не носить;
- Изучить вопрос утилизации медицинский масок в России;
- Провести исследование среди студентов техникума и специалистов фармации по вопросам безопасности в период пандемии.

Медицинская маска – одно из распространенных средств защиты верхних дыхательных путей. В текущей ситуации важно подтвердить качество масок по фильтрующей эффективности, прочности и безопасности для здоровья человека. После отмены антиковидных ограничений потребность в масках не уменьшается, но защищает ли медицинская маска на самом деле?

Следует отметить, что единого мнения о пользе ношения масок во время пандемии нет. Но с ростом числа заболевших людей, специалисты всё больше считают это необходимым барьерным средством защиты. Выделяют несколько видов защитных масок:

1. Медицинская маска ГОСТ Р 58396-2019 из синтетического нетканого материала – отличается высокими абсорбирующими свойствами, защищает от пыли и бактерий. Однако маски этого типа намокают при длительной носке, затрудняя дыхание;
2. Маска PITTA многоразовая, имеет 2 внешних слоя из хлопка и 1 полиуретановый для фильтрации – эффективна против вирусов;
3. Респираторная маска №95(М3) с клапаном на выдох воздуха – вдыхаемый воздух фильтруется, а выдыхаемый воздух никакой фильтрации не проходит, маска пропускает вирусы;
4. Маски N95 (М3) из полипропилена без клапана – удерживает на себе и не пропускает все вредные частицы и вирусы;
5. Респиратор универсальный класса защиты FFP3, одноразовый с клапаном с наиболее высоким классом защиты – официально защищает от вирусов и бактерий;
6. Респираторная маска АЛИНА с клапаном высокого уровня – обеспечивает комфортную и легкую защиту органов дыхания.

По мнению специалистов широко применяемые маски эффективны для ограничения передачи бактерий и инфекционных агентов при кашле или чихании. Наиболее рекомендуемыми для применения являются маски ГОСТ Р 58396-2019 (Россия), N95/N99/P3/N100 (Америка) и FFP1/FFP2/FFP3 (Европа). Нужно обращать внимание на то, что в названии изделия должны быть слова «медицинская маска». На упаковке должен быть номер регистрационного удостоверения Росздравнадзора. Импортные медицинские маски также должны иметь свидетельство о государственной регистрации от Росздравнадзора. При правильном использовании степень защиты у медицинских масок на 30% выше, чем у обычных.

Некоторые производители заявляют об антибактериальных и антивирусных свойствах изделий, не являющихся медицинскими. Их называют защитные, барьерные или гигиенические. Единых требований к ним не установлено.

Маски стали средством первой линии защиты от Sars-Cov-2 во всем мире, поэтому, пока ситуация не разрешена, специалисты уверены, что их использование в общественных местах необходимо продолжить. Но по утверждению экспертов Росздравнадзора, которые исследовали основные типы масок, продающиеся в магазинах и аптеках, ни одна маска в совокупности не даёт 100% защиты от вирусов и бактерий. Гигиенические маски из ткани являются текстильной продукцией, защитные свойства которой не были проверены или доказаны. В Роскачестве предупреждают, что все они не подходят для защиты от вирусов. Также отсутствуют антимикробные свойства у масок из бельевого трикотажа, и даже плотные маски из толстого неопрена (синтетического каучука) или изделия с медными волокнами от вирусов не спасают.

Следует обратить внимание на то, что вместе с пандемией возникла проблема безопасной утилизации медицинских масок. Ежедневно в России выбрасывали около 10 млн использованных масок. Эти медицинские отходы несут угрозу дальнейшего инфицирования. По мнению специалистов, коронавирус может держаться на маске до семи суток. Порядок утилизации масок не регламентируется. По законодательству, пришедшие в негодность маски и респираторы, применяемые в организациях, не связанных с медицинской деятельностью, не являются медотходами. Проблема утилизации остаётся открытой.

Чтобы узнать отношение студентов к ношению масок, был проведён опрос. Студенты считают, что лучшим способом защиты от коронавируса являются маски и респираторы (74,1%), что дольше всего вирусы живут на бумажных банкнотах. В этом студенты правы.

По мнению студентов, применение маски только тогда рационально, когда есть возможность менять её каждые два часа (58,7%), вследствие чего они предложили использовать одноразовые трёхслойные маски как оптимальный вариант (38,5%).

Также мы поинтересовались, как ребята утилизируют свои маски. 78,9% снимают маску пальцами за наружную поверхность и выбрасывают в урну. Правильней будет взять за резинки и снять изделие, положить в пакет, завязать и утилизировать в урну. После этого ладони и кисти вымыть тщательно или обработать антисептиком.

39,7% убеждены, что ношение маски никак не влияет на состояние здоровья, но известно, что кроме кожных поражений, как дерматит, при ношении масок могут возникнуть проблемы с дыханием. Сами студенты отметили, что наблюдали у себя зуд, гиперемию, расчесы, чихание, кашель, головную боль и тошноту.

Также было выявлено, что большинство из опрашиваемых студентов неосознанно подходят к сохранению своего здоровья и предпочитают использовать защитные маски только в местах особого пропускного контроля. В большинстве случаев студенты скептически относятся к ношению масок.

Профессиональная деятельность фармацевтов связана с ежедневным контактом с посетителями аптеки, что увеличивает шанс заражения. Фармацевты дали оценку современным способам защиты органов дыхания, рекомендуемым через аптечную сеть в период пандемии, ответили на некоторые вопросы. В результате мы узнали, что в аптеках используют трёхслойные одноразовые медицинские маски ГОСТ Р 58396-2019, меняют работники её не реже, чем раз в два часа. Многие из опрошенных работников доверяют эффективности масок и носят её вне работы.

Также они согласны с опасениями о том, что длительное использование масок небезопасно, так как на ней могут скапливаться бактерии и грибки, маска затрудняет дыхание. Некоторые фармацевты столкнулись с приступами бронхиальной астмы, с аллергическим ринитом и контактным дерматитом. Также, несмотря на то, что фармацевты постоянно использовали защитные маски, они также болели ОРВ и бактериальными инфекциями, гриппом, сталкивались с ЛОР-патологиями.

Фармацевты придерживаются рекомендаций Минздрава насчёт лечения ковид-19, при лёгком течение болезни они рекомендуют симптоматическое лечение: жаропонижающие, отхаркивающие, противоотёчные препараты и витамины.

Маски, реализуемые через аптечную сеть, соответствуют обязательным требованиям безопасности и не содержат формальдегида, ацетона, метанола и других химических веществ. Эффективность маски в большей степени зависит от сборки, расположения слоев и плотности ткани.

Опросы помогли выявить, насколько студенты фармацевтического техникума осведомлены о том, какие маски бывают и какие из них наиболее эффективны, как следует утилизировать использованные маски,

Проделанная исследовательская работа позволила сделать вывод, что нужно продолжать оказывать влияние на студентов и воспитывать у них ответственное отношение к здоровью. Только тщательное взвешивание жизненных ценностей приведёт к сохранению здоровья молодёжи. Какой бы совершенной ни была медицина, она не может избавить каждого от всех болезней. Человек – сам творец своего здоровья, за которое надо бороться.

ЛИТЕРАТУРА

1. Профилактика инфекций и инфекционный контроль при оказании медицинской помощи пациентам с предполагаемой или подтвержденной коронавирусной инфекцией (COVID-19): временные рекомендации, 29 июня 2020 г. Женева: Всемирная организация здравоохранения; [Электронный ресурс]. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332879/WHO-2019-nCoV-IPC-2020.4-rus.pdf (по состоянию на 3 ноября 2020 г.).

2. Рациональное использование средств индивидуальной защиты от коронавирусной инфекции 2021 г. (COVID-19): временное руководство, 21 декабря 2021 г. Дания; Всемирная организация здравоохранения; [Электронный ресурс]. URL https://apps.who.int/iris/handle/10665/331741? searchresult=true&query (21.11.2021).

3. Новая коронавирусная инфекция COVID-19: профессиональные аспекты сохранения здоровья и безопасности медицинских работников: методические рекомендации / под редакцией И.В. Бухтиярова, Ю.Ю. Горблянского. – М.: АМТ, ФГБНУ «НИИ МТ», 2021. – 132 с.

4. Ильиных А.Р., Чигринова А.Р. Коронавирусная инфекция (COVID-19): история, меры борьбы и перспективы // Молодой ученый. 2020. N 35(325). С. 25-27.

5. Кондратьева Д.А., Мурылев В.Ю. Новая коронавирусная инфекция COVID-19: краткая характеристика и меры по противодействию ее распространению в Российской Федерации // IV Международная научно-практическая конференция «Новые импульсы развития:вопросы научных исследований» [Электронный ресурс] URL: https://cyberleninka.ru/article/n/novaya-koronavirusnaya-infektsiya-covid-19-kratkaya-harakteristika-i-mery-po-protivodeystviyu-ee-rasprostraneniyu-v-saratovskoy (21.11.2021).

6. Белоцерковская, Ю. Г. COVID-19: Респираторная инфекция, вызванная новым коронавирусом: новые данные об эпидемиологии, клиническом течении, ведении пациентов // Consilium Medicum. 2020. N 3. С. 12-20.

7. Влияние коронавируса COVID-19 на ситуацию в Российском Здравоохранении / В. И. Стародубов [и др.] // Менеджер здравоохранения. 2020. N 4. С. 58-71.

8. Восприятие угрозы личной безопасности специалистов — медиков в условиях пандемии COVID-19 / К. Н Царанов [и др.] // Менеджер здравоохранения. 2020. № 4. С. 15-19.

9. Коронавирусы: биология, эпидемиология, пути профилактики / А. Р. Бабаян [и др.] // Российский педиатрический журнал. 2020. N 1. С. 57-61.

10. Бобрик А.В. Современные маски и респираторы в системе инфекционного контроля и обеспечения безопасности персонала в ЛПУ. М.: Акварель, 2010. – 20 с.

11. ГОСТ 12.4.034-2017. Система стандартов безопасности труда. Средства индивидуальной защиты органов дыхания. Взамен ГОСТ 12.4.034-2001; Введ. 2018-07-01. – Москва: Стандартинформ, 2019 – 8 с.

УДК 61:615.1

АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ ТЕНДЕНЦИЙ НА РОССИЙСКОМ И МИРОВОМ РЫНКЕ ПРЕПАРАТОВ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Яматин С.В., Юрчик А.С., студ. 2 курса
Руководитель: **Бельгова Л.Д.**, преподаватель фармакологии
Блануца О.В., преподаватель фармакологии
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России Фармацевтический техникум
197198, Санкт-Петербург, Татарский переулок, дом 12-14, Российская Федерация
E-mail: anna.yurchik@spbfarmt.ru, savelij.yamatin@spbfarmt.ru

Генная терапия – революционный класс терапий.

Актуальность нашей работы заключается в том, что препараты генной инженерии открыли новые способы лечения болезней, которые раньше казались совершенно неизлечимыми. Препараты генной терапии – это новый рывок в медицине. Именно благодаря им произошел большой прогресс в лечении генетических заболеваний. Вследствие чего надо чаще поднимать эту тему, так как препараты генной инженерии вносят большой вклад в лечение многих заболеваний.

Ключевые слова: *ген, геном, генная терапия.*

Цели нашей работы:

• обозначить актуальность препаратов генной инженерии;

• изучить препарат генной инженерии и их влияние на организм;

• исследовать преимущества и недостатки препаратов генной инженерии по отечественным и иностранным публикациям.

В качестве терапевтических агентов используют ДНК и РНК. Данные агенты заставляют эти носители информации проникать внутрь клеток, осуществляя там генетические функции.

Это может быть:синтез недостающих белков; блокирование вредных путей; синтез инородных белков, на который надо выработать иммунный ответ (как в случае с вакцинами).

Область генной терапии считается прорывной в мире, но вводится медленно в силу ее специфики.

Ген – это наследственный фактор, который несет информацию об определенном признаке или функции организма и который является структурной и функциональной единицей наследственности.

Геном – это совокупность наследственного материала, заключенного в клетке организма. Учёт собственного генетического профиля важно для понимания своего организма.

Технологии считывания генома продолжают дешеветь, а технологии интерпретации этих данных совершенствуются. Через какое-то время они будут доступнее и информативнее. Дело в том, что некоторые лекарства теоретически могут действовать один раз и на всю жизнь.

А вот внедрение в медицинскую практику, чтобы врач посмотрел на информацию, понял и учел, и воспользовался ею, требует компетенции врача.

Направление «персонализированная медицина» – это назначение лекарств, исходя из индивидуального набора генетического кода пациентов.

Один из принципов действия препаратов генной инженерии:

• поиск и нахождение поломанного гена;

• удаление нарушенного гена;

• исправление этого гена на здоровый ген.

Открывает наш список препарат под названием Люкстурна, которым первым одобрило Министерство здравоохранения США 19 декабря 2017 года. Он предназначен для лечения болезней, связанных с наследственным заболеванием сетчатки, вызванным мутациями в обеих копиях гена RPE65.

RPE65 – ген, который необходим для создания белка, необходимого для зрения. Мутации данного гена приводят к ухудшению зрения и могут прогрессировать до полной слепоты.

Общие симптомы:

• куриная слепота;

• потеря светочувствительности;

• потеря резкости или четкости зрения;

• нарушение адаптации к темноте;

• повторяющиеся неконтролируемые движения глаза (нистагм).

Принцип действия:

1. С геном, доставленным Люкстурна, клетки сетчатки глаза могут продуцировать белок RPE65;
2. Белок RPE65 заставляет визуальный цикл работать должным образом;
3. Как только визуальный цикл восстановится, зрение может быть улучшено.

Таблица 1 – Преимущества и недостатки Люкстурны

Преимущества	Недостатки
65% участников первой группы и 89% участников второй группы смогли пройти курс на самом темном уровне света, который был равен безлунной летней ночи;	Вызывает много побочных эффектов
Это одноразовая генная терапия для каждого глаза.	Лечение одного глаза будет стоить 425 тыс.долл, двух глаз – 850 тыс.долл.

Второй препарат, который мы рассматриваем, – это наш отечественный препарат Неоваскулген, который был включен в государственный реестр лекарственных средств 28 сентября 2011. Данный препарат показан при ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза.

Ишемия нижних конечностей – ослабление кровообращения в нижних конечностях, обусловленное закупоркой (окклюзией) или сужением артерий.

Принцип действия называется терапевтический ангиогенез, то есть тактика стимуляции образования новых кровеносных сосудов для лечения или профилактики патологических состояний, характеризующихся снижением этой функции, где главную роль играет VEGF165 (кодирующий фактор роста сосудов). При проникновении плазмиды внутрь клеток происходит выработка VEGF, стимулирующего клетки эндотелия, что приводит к росту кровеносных сосудов в области введения.

Таблица 2 – Плюсы и минусы «Неоваскулгена»

Преимущества	Недостатки
Выживаемость пациентов на всех клинических базах составила 100%	Высокая цена (65.000 рублей за упаковку).
Дистанция ходьбы без боли увеличивается более чем в 2 раза.	

Третий препарат – это Стримвелис. 26 мая 2016 года Европейская комиссия предоставила Стримвелису регистрационное удостоверение, действительное на всей территории Европейского Союза.

Показания препарата: предназначен для лечения тяжелого комбинированного иммунодефицита у детей, связанного с дефицитом аденозиндеаминазы (ADA-SCID). Это редкая форма наследственного иммунодефицита.

Принцип действия Стримвелиса:

• Берут образец костного мозга пациента;

• Выделяют клетки, которые могут образовывать лимфоциты;

• Рабочий ген ADA встраивается в клетки CD34+ с помощью ретровируса, который был изменен, чтобы переносить ген ADA в клетки и не вызывать вирусных заболеваний.

Таблица 3 – Плюсы и минусы «Стримвелиса»

Преимущества	Недостатки
Все пациенты остались живы	Высокая цена (594 тыс.евро)
Частота инфекций снизилась после лечения	Нельзя использовать пациентам, ранее проходившим лечение генной терапией. Людям с лейкемией или с разными заболеваниями костного мозга.

Препарат «Золгенсма» впервые был одобрен в США 24 мая 2019 года, в РФ – 9 декабря 2021 года.

Показания к применению: предназначен для лечения педиатрических пациентов в возрасте моложе 2 лет со спинально-мышечной атрофией.

Принцип действия Золгенсмы:

• Внедрение функционирующей копии генетического участка

• Выделение соответствующего белка

• Предотвращение дальнейшего развития патологии.

Таблица 4 – Плюсы и минусы «Золгенсмы»

Преимущества	Недостатки
Вводится один раз в жизни	Самое дорогое лекарство в мире на сегодняшний день (147 млн.руб.)
Полное излечение от заболевания	Ввод лекарства зависит от возраста, веса и роста человека.

Исходя из совокупности вышеперечисленных факторов, и анализа научных статей можно сделать вывод, что препараты генной инженерии играют важную роль в медицине, так как они могут лечить те болезни, которые раньше казались неизлечимыми. И, несмотря на серьезные побочные эффекты, они пользуются популярностью среди врачей для лечения больных с генетическими заболеваниями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генная терапия: познакомьтесь с лекарствами будущего [Электронный ресурс] URL: https://biomolecula.ru/articles/gennaia-terapiia-poznakomtes-s-lekarstvami-budushchego

2. Luxturna [Электронный ресурс] URL: https://luxturna.com

3. Досье препарата неоваскулген – Неоваскулген [Электронный ресурс] URL: https://neovasculgen.info

4. Что такое Золгенсма. Главное – о самом дорогом в мире лекарстве [Электронный ресурс] URL: https://mosmedpreparaty.ru/articles/17523

ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Агапова Ю.В. 447
Адамова А.А. 216
Александрова Д.А. 641
Алексеева В.А. 965
Алиев А.Р. 644
Алмас С.А. 968
Алхутова И.М. 971
Аль-рубайе Висам Махмуд 76
Амерханов Р.Ю. 648
Андриашвили Т.М. 401, 417, 430, 975
Анисимов С.О. 62
Арончик Е.Д. 65
Атлашева Д.А. 979
Ахметчанова А.В. 451
Аюгова А.С. 68

Б

Бабичева А.В. 455
Бабюк С.Э. 317
Балашова А.С. 997
Баллул Гадир 76
Банайтис Р.П. 652
Баранова А.О. 984
Бартенева В.И. 78
Басов М.А. 310
Баширова Р.Р. 988
Белова В.А. 81
Белянина У.М. 1323
Бендерский Н.С. 317
Библенко П.С. 993
Бидан Н.М. 968
Блинкова П.Р. 997, 1003
Блинова С.А. 84
Богомолова Е.А. 656
Болат Б.Б. 968
Болатбекова А. 199
Болотина Ю.Д. 321
Боровиков Д.Н. 459
Бочкова Т.П. 1007
Бронских Е.Д. 659
Бубенчикова К.Р. 1011
Бублик А.А. 463
Бугаев А.С. 663
Булатова С.А. 342
Буслаева Е.А. 469
Бутенко А.А. 610
Бутомо Т.В. 668

В

Вавилов А.А. 88
Валеева М.Е. 672, 675, 899
Валова Е.В. 474
Ванторина Д.Д. 679
Васендин М.И. 3
Василевич М.С. 387
Васильева П.А. 90
Веселова С.Р. 479
Викман П.С. 95
Вишняков Е.В. 14, 99
Водопьянова А.Д. 1015
Водякова М.А. 101
Волкова Л.С. 928
Воробьёва С.И. 104
Воробьёв М.А. 294
Воронина А.В. 107
Воронина Я.А. 482

Г

Гаврилов В.А. 7
Гайдашев И.А. 110
Галимова Э.Р. 1018
Гамаюнова Т.С. 783
Генералова Ю.Э. 216
Головина Л.А. 615
Горбунова Е.А. 114
Горбунов Н.М. 1317
Гордеева Д.С. 684
Гражданкина А.А. 1023
Григорьева И.А. 1026
Грицюк Е.А. 118
Гришина А.В. 474
Грозина А.В. 104
Губернаторова А.О. 692
Гуляева В.Э. 325
Гусев А.В. 485

Д

Данилова Е.С. 689
Данилова К.В. 121
Даутбаева К. 199
Демина Е.В. 124, 1030
Дзидзоева М.И. 1035
Дмитриева Д.С. 10
Долгов Д.С. 692
Домоцкая М.Ю. 14
Дубовская Н.А. 695

Е

Евстафьева В.С. 491
Егорова К.Ю. 1041
Егоров Е.Е. 1038
Елизарова М.С. 1045
Ереско С.О. 385, 413

Ж

Жаворонок М.Ф.И. 128
Жалолиддинова М.Ш. 131, 438
Жариков М.В., 1230
Жигалина А.А. 135
Жидебаева Ж.К. 139
Жиляева Е.В. 1049
Жиляков М.М. 142
Жумагазеева А.Ж. 700
Журавлева А.С. 147
Жучек Ю.И. 151

З
Заборкина П.А. 153
Заварина Е. Ю. 445
Завьялова Д.А. 16
Зайретдинова Д.Р. 495
Зайцев С.А. 851
Замкина М.А. 451
Зарифи К.О. 213
Заяц Е.С. 1053
Зеленина Д.Д. 1058
Зеленцова Е.В. 500
Зеликова Д.Д. 157, 1063
Зенкова А.К. 504
Зиновьева М.А. 160
Зуфарова З.Х. 164
Зыкова З.В. 169

И
Ибрагимова А.Р. 703
Иванов П.А. 172
Иванов Я.М. 1067
Идиятуллин Р.Д. 404
Измаева А.А. 1070
Ильичева Е.С. 1073
Ильченко А.С. 176
Ильющенко А.Ю. 509
Ильяшенко С.А. 328
Имангулова А.Ф. 1077
Исаева М.А. 709
Искалиева А.Р. 385
Исмаилова М.К. 712

К
Кадочникова А.Г. 179
Кайбышева М.Р. 716
Какора С.А. 512
Калабаева Б.Б. 721
Кальницкий А.С. 332
Каменских А.А. 1081
Капранова Е.Д. 827
Капутская И.А. 1084
Карандашова С.С. 586
Карапетян М. Т. 21
Карепина И.А. 1163
Касымов И.Д. 725
Катилова К.А. 1088
Каширина Л.С. 1092
Ким Е.А. 336
Киреева М.И. 182
Кирпикова К.Е. 1097
Кислов Г.Л. 205
Клепиков М.С. 184
Кнутарева А.С. 1101
Кобелева А.В. 728
Ковальчук Я.А. 27
Ковансков В.Е. 339, 342
Ковтун М.М. 517
Кожевникова В.А. 1104
Кокина О.Е. 1318
Кокшарова Е.Д. 620
Коледенко Д.В. 124
Колесник Д.А. 35
Коликова А.Р. 345
Комарова А.В. 350
Комова С.И. 270
Кондакова Ю.А. 731, 762
Коннова М.А. 735
Копачёва Е.А. 339
Копылова Д.А. 1058
Корнилова А.Д. 739
Косарева А.М. 385
Котельникова А.А. 404
Коцур Ю.М. 903
Кошульникова Н.Е. 31
Кравченко Р.В. 387
Красильникова Д.Е. 104
Красова Е.К. 445
Крехова Ф.М. 189
Криницына В.Е. 1109
Крипак Е.М. 195
Крылова Е.А. 625
Крылова П.А. 520
Кряжев Р.А. 1318, 1320, 1328
Кряжевских А.А. 1113
Куанышов А.Г. 199
Кудринская В.М. 355
Кукушкина Е.С. 359
Кунина В.С. 32
Курбатова С.Г. 1119
Курочкина Д.К. 1125
Кустин Р.П. 31
Кучук М.И. 107
Кушнир В.И. 342

Л
Ладейщикова К.С. 695
Ланг Д.Д. 201
Латыпов А.А. 524
Лебедев А.А. 963
Лебедева Е.Я. 364
Левшукова П.О. 35
Лёзина А.В. 205, 208
Лёзов Д.В. 32, 40
Ливанова А.Ф. 1125
Литвиненко Т.С. 368
Лобанова Е.Н. 745
Лохматова Д.Э. 752
Лукьяненко В.И. 55
Лыков Д.Р. 524

М
Магдиев С.Х. 755
Макарова Д.Ю. 212
Маковская О.Н. 43
Максимова В.Ю. 526
Малков С.Д. 213
Малюченко К.А. 224
Мамедова В.Э. 169
Марченко Е.А. 1128
Маслова Д.Д. 1132
Матвеева А.М. 1322
Матлашевская Ю.В. 1137

Матузок Т.М. 373
Матюхова М.В. 610
Мацюк С.К. 345
Медведева С.С. 759, 863
Мелоян Е.К. 376
Мельников А.М. 104
Мельникова Ю.Д. 345
Меркушева С.С. 294
Мехова А.А. 408
Мешко А.А. 1140
Микрюкова А.И. 530
Миронова Д.В. 1167
Миронова И.С. 739
Михайлова О.С. 1145
Михайлова П.А. 216
Мишина П.А. 762
Мишустина Л.А. 1149
Мороз П.И. 345
Муллаева В.Н. 766
Муха О.Ю. 382
Мяндина Т.А. 48

Н

Назаргулов А.С. 52
Наместникова Е.В. 1003
Наумова А.А. 769
Наумова Ю.И. 839
Некрасова Д.А. 221
Некрасова Е.В. 538
Нестерова Д.И. 773, 1154
Никитина А.В. 777
Никитина Д.Е. 385
Новик А.Д. 629
Новикова Н.Б. 783
Новикова О.Н. 224
Новиньков А.Г. 787
Ногаева У.В. 792, 938
Носар К.С. 1323
Нурзай С.Н. 1157

О

Огородникова А.П. 227
Оготоева Д.Д. 231
Одинцов В.С. 798
Озерова Д.В. 1163
Опря П.С. 317
Орлова К.В. 99
Орлова П.В. 212
Орлов Ю.А. 408
Основа М.Д. 1167
Останина А.А. 534
Очагова А.Ю. 538

П

Палагина А.А. 1171
Палагина М.А. 636
Пелтола М.А. 1175
Перова Д.И. 689
Пестерева Ю.О. 542
Петрова В.А. 1179
Петров Г.В. 236
Петров О.М. 1224
Петроченко А.А. 803
Пименов С.Д. 239
Пимонова Е.Э. 1183
Пиньковская Д.Ю. 387
Писевич М.М. 547
Письмерова А.И. 689
Плиско Г.А. 339
Подивилова Е.А. 48
Покатович А.В. 806
Полещук А.А. 810
Поляков А.Д. 814
Полякова Ю.Ю. 1186
Понамарева А.И. 1192
Понкратова А.О. 281
Попел Е.А. 1198
Попков Н.С. 629
Попова Е.А. 245
Попова П.Н. 1202
Придворов Г.В. 382
Приходько В.А. 389
Прокопьев И.П. 395
Пронин Н.А. 397
Пустынников В.Э. 401, 417, 430, 975
Пучик М.М. 404
Пушкарева А.К. 247, 759
Пушкаш Л.А. 735
Пыпа Ю.В. 55
Пятиизбянцев Т.А. 554, 589

Р

Радичкина Д.А. 1205
Радченко А.Ю. 817
Рахмиджанова Ю.А. 78
Речкалов Г.В. 822
Роденков Е.М. 559
Розит Г.А. 52
Романенко А. 1149
Романенко М.С. 827
Романова Д.А. 563
Ротблат Г.Р. 1210
Руди Р.В. 568
Рудомётова М.О. 827
Русакова А.Д. 250
Рычагов А. 524

С

Сабанов А.А. 629
Сабирова Д.А. 254
Сагайдак А.В. 574
Салаева М.Х. 832
Самединова Д.Н. 835
Самусева П.Д. 408
Сандрюхина М.В. 259
Сафаров С.С. 263
Сафи А.С. 547
Сахаров А.Д. 839
Сельцова Е.М. 57
Семивеличенко Е.Д. 339
Сергеева Е.О. 577
Серегина К.С. 413

Серкова Я.Р. 843
Сироткина М.С. 504
Склярова Л.В. 1230
Скрипникова Д.В. 1149
Сметанина Д.Я. 1214
Соколова А.А. 401, 417, 430, 975
Соколова Е.В. 1218
Сокрашкина Н.В. 847
Соловьева М.А. 633
Соловьева П.А. 135
Сон А.В. 851
Степанов К.С. 854
Столяренко А.П. 859
Сторожик В.Е. 267
Строганова А.А. 806
Сурбеева Е.С. 270
Сутайкина А.С. 275
Сучкова К.М. 827
Сыркова А.Н. 278

Т
Тасфаева А.А. 839
Темная Ю.А. 759, 863
Тилеуберди Н.Н. 139
Тимофеева К.И. 1224
Тирон Т.П. 866
Тишина В.А. 1119
Ткачева А.В. 870
Тодиева В.В. 876
Толстикова А.А. 208
Топоркова В.И. 281
Тостановский Г.С. 1230
Трапезникова Е.А. 1233
Труханова Ю.А. 10, 58, 284
Туманова А.П. 881
Тупа Б. 287
Туравинина З.А. 421
Турдиева З.В. 290
Туруспаева Ж.Ж. 886
Тышко О.А. 1237

У
Угольцова В.Н. 1240
Удальцова Л.С. 1327
Усачева Д.В. 423
Усикова Е.А. 294
Устинов С.А. 447
Уфимцева М.С. 890
Ушакова Е.А. 675
Уэйли А.К. 281

Ф
Федоренко М.Д. 459
Федорова А.С. 895
Федорова У.А. 1328
Федотова А.А. 581
Филатов В.А. 427
Фитова В.Д. 586
Фомичев Е.А. 401, 417, 430, 975

Х
Хабаров В.А. 172
Хайруллина С.Н. 636
Холодаева С.В. 589
Хорунжая А.А. 1244
Хрол Д.Д. 1248

Ц
Царегородцев А.М. 899
Церковная К.М. 298, 903
Цыганкова Л.А. 906

Ч
Чеботова П.А. 773
Чебыкина А.А. 912
Черепанова А.Д. 596
Чернова М.А. 916
Чернышенко В.С. 526
Чеснокова А.А. 672
Чуднов А.А. 1252

Ш
Шабров В.Н. 298
Шаехова Г.Р. 1030
Шевалёв Р.М. 920
Шерстнев В.В. 827
Шефатов П.В. 302
Шикова В.А. 924
Широбоков Я.Е. 1256
Шиц Д.Д. 404, 928
Шмарова А.А. 433, 930
Шубина К.А. 934
Шуваева А.С. 1259

Щ
Щербенко Е.А. 307
Щукина М.Ф. 695

Ю
Южанинова Е.С. 599
Юнусова М.С. 438
Юрчик А.С. 1331
Юсупова А.А. 605

Я
Якимов К.Д. 792, 938
Яковенко М.А. 107
Яматин С.В. 1331
Яновер Ю.И. 307

A

Akhmetchanova A.V. 1270
Alexandrov M.A. 1263

D
Dobrynina T.V. 1309

G
Golovina L.A. 1266

I
Ilinykh S.I. 1277

J
Jaloliddinova M.Sh. 441

K
Kalaba M. 945
Kiryanova E.V. 1300

M
Mineev A.A. 1311
Mishina P.A. 1282
Mukha O.Y. 1293

N
Novikova M.P. 1309

P
Perin M. 945
Petrov N.V. 1311
Polyakova V.K. 1286
Potapova D.A. 1290
Pridvorov G.V. 1293

R
Rančić M. 945
Ruchka V.V. 1300
Rudometova M.O. 1296

S
Sandulyan V.S. 1300
Sherova A.B. 950
Shikova V.A. 1304
Stepkina D.M. 1290
Suchkova K.M. 1296

T
Tashmatova M.A. 954
Tikhomirov V.A. 1286
Turavinina Z.A. 1314
Turdieva Z.V. 958

Y
Yakubovskaya Y.A. 1300

Z
Zamkina M.A. 1270
Zhulyaeva U.A. 1277
Zufarova Z.Kh. 1274

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ 1. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ СУБСТАНЦИИ И ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА: НОВОЕ В ТЕХНОЛОГИЯХ ОРГАНИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

ПОДХОД К СИНТЕЗУ САЛИЦИЛАНИЛИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ КАРБОКСИМЕТИЛЬНУЮ ГРУППУ
Васендин М.П., студ. 4 года обучения 3

БУФЕРНЫЕ СВОЙСТВА ИОННЫХ ЖИДКОСТЕЙ НА ОСНОВЕ СОЛЕЙ 2-БЕНЗИЛАМИНОЭТАНОЛА В РЕАКЦИЯХ МЕЧЕНИЯ БИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХЕЛАТОРОВ ИЗОТОПАМИ ^{68}Ga И ^{18}F
Гаврилов В.А., студ. 4 курса 7

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ СИНТЕЗИРОВАННЫХ N-ЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФТАЛИМИДА
Дмитриева Д.С., студ. 5 курса, Труханова Ю.А., студ. 2 курса магистратуры 10

СИНТЕЗ И ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ПИРАНО[3,2-*c*]ХРОМЕНОВ
Домоцкая М.Ю., студ. 4 года обучения, Вишняков Е.В., асп. 2 года обучения 14

ВНУТРИКОМПЛЕКСНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ГИДРОКСИАЛКИЛАМИНОВ С СОЛЯМИ ПИРОМЕЛЛИТОВОЙ КИСЛОТЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА
Завьялова Д.А., маг. 1 года обучения 16

ОБЗОР СИСТЕМ ПАТОГЕНРЕДУКЦИИ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ, В ЧАСТНОСТИ ОСНОВАННЫХ НА СУБСТАНЦИИ РИБОФЛАВИНА
Карапетян М.Т., специалитет 5 год обучения 21

МИКРОЭКСТРАКЦИОННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАНИЛАМИДОВ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ В СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ РАСТВОРИТЕЛИ
Ковальчук Я.А., студ. 2 курса 27

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ 3-(4-ОКСО-4*H*-ХРОМЕН-3-ИЛ)АКРИЛОНИТРИЛОВ С 1,2-БИНУКЛЕОФИЛЬНЫМИ РЕАГЕНТАМИ
Кошульникова Н.Е., студ. 4 курса, Кустин Р.П., асп. 2 года обучения 31

ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОАЦИЛОКСИГЕРМАТРАНОВ, ПУТЕМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АМИНОКАРБОНАТОВ ГЕРМАНИЯ С ТРИЭТАНОЛАМИНОМ
Кунина В.С., студ. 4 курса обучения, Лёзов Д.В., асп. 3 курса обучения 32

ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ К СИНТЕЗУ 1,3,5-ТРИАЗИНОВЫХ СИСТЕМ
Левшукова П.О., аспирант 1 года обучения, Колесник Д.А. 35

СИНТЕЗ И ПРОГНОЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АМИНОАЦИЛОКСИГЕРМАТРАНОВ
Лёзов Д.В., асп. 3 курса обучения 40

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРИКОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ N,N,N',N'-ТЕТРАКИС(2-ГИДРОКСИЭТИЛ)ЭТИЛЕНДИАМИНА – ПУТЬ К ПОЛУЧЕНИЮ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
Маковская О.Н., маг. 1 года обучения 43

СИНТЕЗ ГИДРАЗИДОВ ПЕКТИНОВОЙ КИСЛОТЫ
Мяндина Т.А., магистрант 1 года обучения, Подивилова Е.А., студ. 4 года обучения 48

ПОИСК НОВЫХ АНТИАГРЕГАНТОВ СРЕДИ ТИЕТАНСОДЕРЖАЩИХ 2-[5-БРОМ-2,4,-ДИГИДРО-3-ОКСО-1,2,4-ТРИАЗОЛИЛ-4]УКСУСНЫХ КИСЛОТ
Розит Г.А., асп. 2 года обучения, Назаргулов А.С., студ. 5 курса 52

СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 4,4a И 3,4-ДИГИДРОКСАНТЕН-2-ИЛКАРБОНИТРИЛОВ
Пыпа Ю.В., студ. 4 курса, Лукьяненко В.П., асп. 3 года обучения 55

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 3-ФОРМИЛХРОМОНА С ЭТИЛ-1Н-ТЕТРАЗОЛ-5-ИЛАЦЕТАТА
Сельцова Е.М., студ. 4 курса 57

СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРРОЛИДИН-2,5-ДИОНА, ОБЛАДАЮЩИХ АНАЛЬГЕЗИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ
Труханова Ю.А., студ. 2 курса магистратуры 58

СЕКЦИЯ 2. СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К КОНТРОЛЮ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, РЛС И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК

ПОЛУЧЕНИЕ СОРБЕНТОВ НА ОСНОВЕ СИЛИКАГЕЛЯ МЕТОДОМ СБОРКИ НА ПОВЕРХНОСТИ: ГАЛОГЕНИРОВАНИЕ СИЛИКАГЕЛЯ
Анисимов С.О., студ. 3 курса бакалавриата 62

ОЦЕНКА КРИТИЧНОСТИ ВЫПОЛНЕНИЯ ТРЕБОВАНИЙ НОРМАТИВНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ КАК ЧАСТЬ РАЗРАБОТКИ ЧЕК-ЛИСТА ПРОЦЕДУРЫ АНАЛИЗА ПРОЕКТНОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРОИЗВОДСТВЕ
Арончик Е.Д., магистрант 1-го года обучения 65

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОРОШКИ ОБЫКНОВЕННОЙ ЛИСТЬЕВ *(RUBUS CHAMAEMORUS L.)*
Аюгова А.С., студ. 5 курса 68

ГАРМОНИЗАЦИЯ ТРЕБОВАНИЙ КАЧЕСТВА К ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ УШНЫЕ КАПЛИ
Баллул Гадир, магистрант 1 года обучения, Аль-рубайе Висам Махмуд, аспирант 3 года обучения 76

ШРОТ КОРНЕВИЩ С КОРНЯМИ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ – ИСТОЧНИК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
Бартенева В.П., студ. 4 курса, Рахмиджанова Ю.А., студ. 4 курса 78

РАЗДЕЛЕНИЕ ХЛОРПРОИЗВОДНЫХ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА
Белова В.А., студ. 4 курса 81

ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОРНЕВИЩ И КОРНЕЙ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ
Блинова С.А., студ. 5 курса 84

ОПТИМИЗАЦИЯ ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХИНИНА В ШАМПУНЕ
Вавилов А.А., студ. 4 курса 88

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ИЗВЛЕЧЕНИИ ИЗ ПЛОДОВ СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ И ПЛОДОВ БОЯРЫШНИКА
Васильева П.А., аспирант 2 года обучения 90

ПРОБЛЕМА ВОЗНИКНОВЕНИЯ НЕДОСТОВЕРНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ПСИХОАКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА, ВЫЗВАННАЯ ПЕРЕКРЕСТНЫМИ РЕАКЦИЯМИ С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ МЕБЕВЕРИНА
Викман П.С., аспирант 1 года обучения 95

ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ КОМПЛЕКСА ЦИНКА С КВЕРЦЕТИНОМ В СРАВНИТЕЛЬНОМ АСПЕКТЕ
Вишняков Е.В., асп. 2 года обучения, Орлова К.В., студ. 5 курса 99

СТАНДАРТИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА БИОМЕДИЦИНСКИХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ И ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ: ПРОБЛЕМНЫЕ АСПЕКТЫ И ОСОБЕННОСТИ
Водякова М.А., соискатель 101

МЕТОДИКА КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МНОГОКОМПОНЕНТНОЙ МАЗИ НА ОСНОВЕ ТРИАЗАВИРИНА И ХЛОРАМФЕНИКОЛА
Воробьёва С.П., студ. 4 курса, Грозина А.В., студ. 4 курса, Красильникова Д.Е., студ. 4 курса, Мельников А.М., студ. 3 курса 104

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ЖЕЛЕЗА (III) С ГЛИЦИНОМ
Воронина А.В., Кучук М.П., Яковенко М.А., студ. 3 курс. 107

РАЗРАБОТКА ПРОТОТИПА РЕФЕРЕНС-ОБРАЗЦА ДЛЯ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ
Гайдашев П.А., асп. 1 года обучения 110

ВЫБОР МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ ДУШИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ, ОБОГАЩЕННЫХ ФЛАВОНОИДАМИ
Горбунова Е.А., студ. 4 курса 114

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕРТРАЛИНА В КРОВИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ
Грицюк Е.А., бакалавр 4 года обучения 118

ОБОГАЩЕННЫЙ СУХОЙ ЭКСТРАКТ НА ОСНОВЕ БАВ ЕЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ ХВОИ. ТЕХНОЛОГИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ
Данилова К.В., магистрант 2 года обучения 121

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТАБЛЕТОК ИБУПРОФЕНА РАЗНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ
Демина Е.В., студ. 3 курса, Коледенко Д.В., студ. 3 курса. 124

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИСФЕНОЛА А В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ С ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫМ ВЫДЕЛЕНИЕМ В СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ РАСТВОРИТЕЛИ НА ОСНОВЕ ПЕРВИЧНЫХ АМИНОВ
Жаворонок М.Ф.П., студ. 2 курса 128

ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИКАЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК РЕКОМЕНДОВАННОГО ПРЕПАРАТА «БИСКОР»
Жалолиддинова М.Ш., соискатель 131

ПОДХОДЫ К СИНТЕЗУ И КОЛИЧЕСТВЕННОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ ГЕНИСТЕИНА КАК СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА
Жигалина А.А., аспирант 2 года обучения, Соловьева П.А., студ. 4 курса 135

ПЕРСПЕКТИВА ПРИМЕНЕНИЯ РАПСА (BRASSICA NAPUS) В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
Жидебаева Ж.К., студ. 3 курса, Тилеуберди Н.Н., докторант 1 года обучения. 139

ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ ЭНАНТИОСЕЛЕКТИВНОЙ БУФЕРНОЙ СИСТЕМЫ Cu^{2+} – L-His ДЛЯ АНАЛИЗА АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЗОНАЛЬНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА
Жиляков М.М., студ. 4 курса 142

ТРУДНОСТИ ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И ПУТИ ИХ РЕШЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ ФЕНИЛЭФРИНА
Журавлева А.С., студ. 5 курса 147

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ОБОСНОВАНИЮ УВЕЛИЧЕНИЯ СРОКОВ ГОДНОСТИ МИКСТУРЫ ОТХАРКИВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ ДЕТЕЙ
Жучек Ю.П., студ. 5 курса. 151

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ В ПРОГНОЗЕ ПРОФИЛЕЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ГОССИПОЛА
Заборкина П.А., магистр 2 года обучения 153

ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ТЕТРАЦИКЛИНА НА ОТДЕЛЬНЫЕ ОБЪЕКТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ
Зеликова Д.Д., студ. 3 курса 157

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФИТОГОРМОНОВ В ПОЛУЧЕНИИ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК
Зиновьева М.А., студ. 3 курса 160

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВЕ КЕТОПРОФЕНА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ
Зуфарова З.Х., соискатель 164

ИЗУЧЕНИЕ СОРБЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ СОРБЕНТА НА ОСНОВЕ С-18 ПО ОТНОШЕНИЮ К ГРОССГЕМИНУ
Зыкова З.В., студ. 2 курса, Мамедова В.Э., студ. 5 курса 169

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ЛАВАНДЫ УЗКОЛИСТНОЙ (LAVANDULA ANGUSTIFOLIA L.)
Иванов П.А., студ. 3 курса, Хабаров В.А., студ. 3 курса 172

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (*SALVIA OFFICINALIS* L.) В КУЛЬТУРЕ IN VITRO
Ильченко А.С., студ. 2 курса 176

ПЕРСПЕКТИВА ЭКОЛОГИЧНОЙ УТИЛИЗАЦИИ НЕПРИГОДНЫХ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Кадочникова А.Г., студ. 3 курс 179

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ И МАГНИЯ В ГОТОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА
Киреева М.П., студ. 4 курса 182

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИСПЫТАНИЯ АФС ЭТРАВИРИН ПО ПОКАЗАТЕЛЮ «ВОДА»
Клепиков М.С., соискатель ученой степени кандидата фармацевтических наук 184

АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ ЖИДКОСТНО-ЖИДКОСТНАЯ МИКРОЭКСТРАКЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАНИЛАМИДОВ В ПРОБАХ МОЧИ ЗА СЧЕТ ОБРАЗОВАНИЯ ОСНОВАНИЙ ШИФФА В ГЛУБОКИХ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЯХ
Крехова Ф.М., аспирант 2 года обучения 189

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ВЕРБЕЙНИКА ОБЫКНОВЕННОГО (*LYSIMACHIA VULGARIS* L.)
Крипак Е.М., студ. 5 курса 195

МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТЕНИЯ *SEMENOVIA TRANSILIENSIS L.*
Куанышов А.Г., PhD. 1 год обучения, Болатбекова А., Даутбаева К., студ. 2 курс Школа фармации 199

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОРТОВ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ, КУЛЬТИВИРУЕМОЙ В ПИТОМНИКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ СПХФУ
Ланг Д.Д., студ. 5 курса 201

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ ОРТИЛИИ ОДНОБОКОЙ
Лёзина А.В., асп. 3 года обучения, Кислов Г.А., студ. 4 курса 205

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ГАЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ТРАВЕ *ORTHILIA SECUNDA L.*
Лёзина А.В., асп. 3 года обучения, Толстикова А.А., студ. 4 курса 208

ИЗУЧЕНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА КОРНЕЙ POLYGONATUM OFFICINALE И СОПЛОДИЙ ALNUS GLUTINOSA (L.)
Макарова Д.Ю., Орлова П.В., студ. 4 курса 212

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ПОЛЯРИМЕТРИИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ДЕКСИБУПРОФЕНА
Малков С.Д., студ. 3 курса, Зарифи К.О., студ. 3 курса 213

ПОДБОР ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТАФАМИДИСА И ДИФЛУНИЗАЛА
Михайлова П.А., студ. 3 курса, Адамова А.А., студ. 3 курса, Генералова Ю.Э., ст. преп. каф. аналитической химии 216

ИЗУЧЕНИЕ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ВВЕДЕНИЯ ТЕРПЕНОИДСОДЕРЖАЩИХ РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРУ IN VITRO НА ПРИМЕРЕ АРАЛИИ СЕРДЦЕВИДНОЙ (ARALIA CORDATA THUNB.)
Некрасова Д.А., аспирант 1 года обучения. 221

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ КУЛОНОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ
Новикова О.Н., студ. 3 курса, Малюченко К.А., студ. 4 курса 224

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ПАСТИЛОК С ВИТАМИНАМИ
Огородникова А.П., студ. 5 курса 227

ПОИСК ЭТАЛОННОГО МЕТОДА ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА НАСТОЕК
Оготоева Д.Д., асп. 1 года обучения 231

ИНДУЦИРОВАННОЕ РАДИОТЕПЛОВОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ
Петров Г.В., асп. 1 года обучения 236

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ОТБЕЛКИ МИКРОКРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ, ПОЛУЧЕННОЙ МЕТОДОМ ГАЗОФАЗНОГО ГИДРОЛИЗА
Пименов С.Д., асп. 3 года обучения 239

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ОТВАРА КОРНЕЙ ЕЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ
Попова Е.А., студ. 4 курса 245

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕЛЕОБРАЗОВАНИЯ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ КРАХМАЛА
Пушкарева А.К., студ. 2 курса 247

ПРОБЛЕМАТИКА ПОДХОДА К АНАЛИЗУ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ
Русакова А.Д., студ. 5 курса 250

СРАВНЕНИЕ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТИЛСАЛИЦИЛАТА В МАЗИ
Сабирова Д.А., студ. 5 курс 254

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ РАЗДЕЛЕНИЯ 2,4-ДИХЛОР-6-НИТРОФЕНОЛА И 2,6-ДИХЛОР-4-НИТРОФЕНОЛА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА
Сандрюхина М.В., студ. 4 курса 259

КАЧЕСТВЕННОЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В УРОЛОГИЧЕСКОМ СБОРЕ
Сафаров С.С., магистрант 2-го года обучения 263

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПЛОДОВ ШИПОВНИКА
Сторожик В.Е., студ. 2 курса 267

ПОЛУЧЕНИЕ И ОЧИСТКА ФРАКЦИЙ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ КОРНЕПЛОДОВ *APIUM GRAVEOLENS L.*
Сурбеева Е.С., асп. 1 года обучения; Комова С.П., студ. 4 курса 270

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СРОКА ГОДНОСТИ ПОЛИВИТАМИННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ДЕТЕЙ
Сутайкина А.С., студ. 5 курса 275

РАЗРАБОТКА СРЕДСТВ АНТИДОТНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЭТИЛЕНГЛИКОЛЕМ
Сыркова А.Н., студ. 4 курса 278

ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАВЫ ХОХЛАТКИ КРУПНОПРИЦВЕТНИКОВОЙ (*CORYDALIS BRACTEATA*)
Топоркова В.П., асп. 1 года обучения, Понкратова А.О., асп. 3 года обучения, Уэйли А.К., м.н.с. 281

АТТЕСТАЦИЯ ПЕРВИЧНОГО СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА НОВОГО АНАЛЬГЕЗИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА 1-ФЕНИЛ(ФЕНИЛИМИНО)МЕТИЛ)ПИРРОЛИДИН-2,5-ДИОНА
Труханова Ю.А., магистрант 2 курса 284

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ СТАНДАРТИЗАЦИИ ПЛОДОВ ДЕРЕЗЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*LYCIUM BARBARUM* L.) КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ
Тупа Б., аспирант 2 года обучения 287

К ВОПРОСУ СТАНДАРТИЗАЦИИ НАСТОЙКИ СЕДАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ «БИОСЕДАЦИОН»
Турдиева З.В., соискатель 290

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ СООТНОШЕНИЙ ГЛУБОКО ЭВТЕКТИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ САХАРОВ И ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ
Усикова Е.А., студ. 2 курса, Воробьёв М.А., студ. 2 курса, Меркушева С.С., студ. 2 курса 294

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС
Церковная К.М., аспирант 1 года обучения, Шабров В.Н., молодой ученый. 298

УПРАВЛЕНИЕ РИСКАМИ ПРИ ВХОДНОМ КОНТРОЛЕ СЫРЬЯ, ИСПОЛЬЗУЕМОГО В ПРОИЗВОДСТВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Шефатов П.В., магистрант 2 года обучения 302

ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ДИСПЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ НА ОСНОВЕ ПЛОДОВ СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ ОТ PH И ВРЕМЕНИ КОНТАКТА ЧАСТИЦ С ВОДНЫМИ РАСТВОРАМИ
Щербенко Е.А., студ. 3 курса, Яновер Ю.П., студ. 3 курса. 307

СЕКЦИЯ 3. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ СПОРТСМЕНОВ В БОРЬБЕ САМБО НА ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ЭТАПЕ
Басов М.А., магистрант 1 года обучения 310

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ В УРОЛОГИИ
Бендерский Н.С., студ. 6 курса, Опря П.С., студ. 6 курса, Бабюк С.Э., студ. 6 курса 317

ВЛИЯНИЕ ЭТИЛТИОБЕНЗИМИДАЗОЛА ФУМАРАТА НА ПРОЦЕССЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК
Болотина Ю.Д., аспирант 1-го года обучения 321

ПЕРСПЕКТИВА ПРИМЕНЕНИЯ БЕЛКА МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ В ТЕРАПИИ ПОСТКОВИДНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ
Гуляева В.Э., аспирант кафедры фармацевтической технологии института фармации, химии и биологии. 325

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРУТОВИКА НАСТОЯЩЕГО
Ильяшенко С.А., студ. 5 курса 328

О НОВОМ БИОХИМИЧЕСКОМ ПРИЗНАКЕ НЕФРОПАТИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С НАРУШЕНИЕМ УРАТНОГО ОБМЕНА
Кальницкий А.С., аспирант 2 года 332

ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНОВ НА МОЗГ ЧЕЛОВЕКА
Ким Е.А., студ. 2 курса 336

АПРОБАЦИЯ МОДЕЛИ ЖИРОВОЙ ДИСТРОФИИ ПЕЧЕНИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ОРОТОВОЙ КИСЛОТОЙ, С РЕФЕРЕНТНЫМ ПРЕПАРАТОМ
Кованcков В.Е., студ. 2 курс, Копачёва Е.А., студ. 2 курса, Семивеличенко Е.Д., Плиско Г.А. 339

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ МАЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ
НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ
Кованcков В.Е., студ. 2 курса, Кушнир В.И., студ. 3 курса, Булатова С.А., студ. 2 курса. 342

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ
Коликова А.Р., студ. 3 курса, Мацюк С.К., студ. 3 курса, Мельникова Ю.Д., студ. 3 курса, Мороз П.И., студ. 3 курса. 345

ОБЗОР СПЕКТРА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ И ПЕРСПЕКТИВ ПРИМЕНЕНИЯ
В ФАРМАКОЛОГИИ РАСТЕНИЙ GARDENIA JASMINOIDES AND SCHISANDRA CHINENSIS
Комарова А.В., студ. 2 курса 350

ВЛИЯНИЕ ПОДАВЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ КАЛЬПАИНОВ НА КОГНИТИВНЫЕ СПОСОБНОСТИ
У КРЫС В УСЛОВИЯХ ИНТОКСИКАЦИИ ХЛОРИДОМ МАРГАНЦА
Кудринская В.М., студ. 4 курса 355

ВЛИЯНИЕ АМПИЦИЛЛИНА И МЕТРОНИДАЗОЛА НА ВЫРАЖЕННОСТЬ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ У КРЫС
Кукушкина Е.С., студ. 5 год обучения 359

ВЛИЯНИЕ ДЕКСАМЕТАЗОНА НА ВЫРАЖЕННОСТЬ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ У КРЫС
Лебедева Е.Я., студ. 5 год обучения 364

НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ
И РОЛЬ ФАРМАКОЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ ИССЛЕДОВАНИЙ В ИХ МОНИТОРИНГЕ
Литвиненко Т.С., заочный аспирант 3 года обучения, кафедра фармакологии и клинической фармакологии РостГМУ 368

ВЛИЯНИЕ *9-ФЕНИЛ-2,3,4,5,6,7,8,9-ОКТАГИДРО-1Н-СЕЛЕНОКСАНТЕНА* НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ
ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ ЖИВОТНЫХ В ТЕСТЕ
«ТРЕХНАГРУЗОЧНАЯ ПЛАВАТЕЛЬНАЯ ПРОБА»
Матузок Т.М., аспирант 1 года обучения. 373

СОВРЕМЕННЫЕ КЛИНИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ
К ЛЕЧЕНИЮ ХРОНИЧЕСКОГО ТОНЗИЛЛОФАРИНГИТА
Мелоян Е.К., заочный аспирант 3 года обучения, кафедра фармакологии и клинической фармакологии РостГМУ 376

ОЦЕНКА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА ПРИ ИЗУЧЕНИИ
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИПСИХОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ
НА МОДЕЛИ РАССТРОЙСТВА ШИЗОФРЕНИЧЕСКОГО СПЕКТРА, ВЫЗВАННОГО
ЭЛЕКТРОЛИТИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИЕЙ ВЕНТРАЛЬНОГО ГИППОКАМПА У КРЫС
Муха О.Ю., студ. 5 курса, Придворов Г.В., асп. 1 года обучения 382

ИНЪЕКЦИИ РИФАМПИЦИНА И ГИНЗЕНОЗИДОВ СНИЖАЮТ ПОВЫШЕННУЮ АКТИВНОСТЬ
СИГНАЛИНГА HMGB1-TLR7-MYD88 В ГИППОКАМПЕ МОЗГА
ДЛИТЕЛЬНО АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС
Никитина Д.Е., студ. 4 курса, Косарева А.М., студ. 4 курса, Искалиева А.Р., студ. 4 курса, Ереско С.О., аспирант, м.н.с. 385

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ОПОЛАСКИВАТЕЛЕЙ ДЛЯ ПОЛОСТИ РТА
ПО ОТНОШЕНИЮ К ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ
Пиньковская Д.Ю., 3 курс, стоматологический факультет, Василевич М.С., 3 курс стоматологический факультет,
Кравченко Р.В., аспирант 2-го года обучения 387

ВЛИЯНИЕ ОРНИТИНА АСПАРТАТА И ЭМПАГЛИФЛОЗИНА НА ПРОЯВЛЕНИЯ
КОГНИТИВНО-МНЕСТИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
НЕАЛКОГОЛЬНОМ СТЕАТОГЕПАТИТЕ
Приходько В.А., аспирант 3 года обучения 389

БАДЫ В ПРОФИЛАКТИКЕ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ
У СПОРТСМЕНОВ СЛОЖНОКООРДИНАЦИОННЫХ ВИДОВ СПОРТА
Прокопьев И.П., студ 4 курса. 395

ВЛИЯНИЕ 3'''-О-АЦЕТИЛЭМБИНИНА НА АКТИВАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ, ИНДУЦИРОВАННУЮ ТРОМБИНОМ
Пронин Н.А., студ. 3 курса 397

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИДЕПРЕССАНТНЫХ СВОЙСТВ НОВОГО АДАМАНТАНОВОГО ПРОИЗВОДНОГО НА МОДЕЛИ СОЦИАЛЬНОГО СТРЕССА
Пустынников В.Э., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ,
Фомичев Е.А., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ,
Андриашвили Т.М., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ,
Соколова А.А., студ. 4 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ 401

ПРИМЕНЕНИЕ НАИВНОГО БАЙЕСОВСКОГО КЛАССИФИКАТОРА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЭФФЕКТОВ РАЗЛИЧНЫХ НЕЙРОТРОПНЫХ СРЕДСТВ ПО ПАРАМЕТРАМ ЭЛЕКТРОКОРТИКОГРАММ У КРЫС
Пучик М.М., студ. 3 года обучения, Шиц Д.Д., студ. 3 года обучения, Идиятуллин Р.Д., студ. 4 года обучения,
Котельникова А.А., студ. 4 года обучения 404

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА (AgNPs) НА ПОКАЗАТЕЛИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ *CAENORHABDITIS ELEGANS*
Самусева П.Д., студ. 4 курса, Орлов Ю.А., канд. биол. наук, научный сотр., Мехова А.А., маг. 2 года обучения. 408

СОСТОЯНИЕ NOD-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭТАНОЛА
Серегина К.С., студ. 3 курса, Ереско С.О., м.н.с., асп. 2 года 413

КОРРЕКЦИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ
Соколова А.А., студ. 4 года обучения, Андриашвили Т.М., студ. 3 года обучения, Пустынников В.Э., студ. 3 года обучения,
Фомичев Е.А., студ. 3 года обучения 417

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСТРАКТОВ СЫРЬЯ РОДА ДИОСКОРЕЯ (*DIOSCORÉA*) ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ
Туравинина З.А., студ. 2 курса фармацевтического факультета, Ивкина А.С., ст. научный сотрудник ЦЭФ 421

ИЗУЧЕНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БЕМИТИЛА ФУМАРАТА И ЭТОМЕРЗОЛА ФУМАРАТА НА МОДЕЛИ ДЕКСАМЕТАЗОНОВОГО ДИАБЕТА
Усачева Д.В., студ. 5 курса 423

СУБСТАНЦИЯ НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ТЕРАПИИ СЕБОРЕЙНОГО ДЕРМАТИТА: РАЗРАБОТКА И ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ
Филатов В.А., аспирант 1 года обучения. 427

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА С ИНКРЕТИНОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПРИ МОДУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ ОКСИДА АЗОТА (II) 430
Фомичев Е.А., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ,
Пустынников В.Э., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ,
Андриашвили Т.М., студ. 3 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ,
Соколова А.А., студ. 4 курса фармацевтического факультета ВолгГМУ 430

МОРАЛЬНО-ЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ
Шмарова А.А., магистрант 1 года обучения 433

К ВОПРОСУ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ РЕКОМЕНДУЕМЫХ ТАБЛЕТОК «ОРТОФ-S»
Юнусова М.С., Жалолиддинова М.Ш., соискатель 438

PRECLINICAL STUDY OF RECOMMENDED ANTIHYPERTENSIVE TABLETS
Jaloliddinova M.Sh., applicant 441

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ И МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ДИМЕТИЛФУМАРАТА КАК НЕЙРОПРОТЕКТОРА ЦНС
Заварина Е.Ю., Красова Е.К., студ. 4 курса 445

СЕКЦИЯ 4. БИОТЕХНОЛОГИЯ: ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАЦИИ

ОБЗОРНЫЙ АНАЛИЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР В ТЕРАПИИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Агапова Ю.В., студ. 3 курса медицинского факультета, Устинов С.А., студ. 3 курса медицинского факультета 447

ПОИСК НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ С ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫМ ДЕЙСТВИЕМ: КРАТКИЙ БИБЛИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ (2016-2022)
Ахметчанова А.В., студ. 2 курса, Замкина М.А., студ. 2 курса 451

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММА АКТИНОМИЦЕТА *STREPTOMYCES SPP.* 56
Бабичева А.В., студ. 4 курса 455

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА БЕЛКА И РОСТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ *CICHORIUM ENDIVIA*
Боровиков Д.Н., студ. 2 курса, Федоренко М.Д., студ. 1 курса 459

ДИЗАЙН, ПОЛУЧЕНИЕ И *IN VITRO* ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МАЛЫХ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ РНК (siRNA)
Бублик А.А., магистрант 2 года обучения 463

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ БЕЛКОВ В *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ TPI ПРОМОТОРА
Буслаева Е.А., маг. 1 года обучения 469

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ТУБЕРКУЛЁЗА, ВЛИЯНИЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА ДИНАМИКУ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ
Валова Е.В., Гришина А.В., студ. 2 курса фармацевтического факультета 474

ОПТИМИЗАЦИ ПРОЦЕССА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРОДУЦЕНТА ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗЫ В БИОРЕАКТОРЕ EVIO-LAB
Веселова С.Р., студ. 4 курса ФПТА 479

АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ШТАММА *STREPTOMYCES SP.* VIZR 18 – ПРОДУЦЕНТА НОВОГО ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНОГО БИОПРЕПАРАТА
Воронина Я.А., маг. 2 года обучения 482

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОЙ НУКЛЕАЗЫ PACAS9 ПРИ РЕДАКТИРОВАНИИ ГЕНОМА В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ
Гусев А.В., маг. 2 года обучения 485

АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММА *STREPTOMYCES SP.* VIZR 52
Евстафьева В.С., магистрант 2 года обучения 491

ЭКСТРАКЦИОННЫЙ МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ ИМБРИЦИНА ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ *STREPTOMYCES IMBRICATUS*
Зайретдинова Д.Р., студ. 4 курса. 495

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ПАКЛИТАКСЕЛА
Зеленцова Е.В., маг. 2 года обучения 500

РАЗРАБОТКА И СОЗДАНИЕ КОМПОЗИТНОЙ МАТРИЦЫ ИЗ КОЛЛАГЕНОВ I И V ТИПА В КАЧЕСТВЕ ЭКВИВАЛЕНТА ДЛЯ ЗАМЕНЫ РОГОВИЦЫ ГЛАЗА
Зенкова А.К., студ. 4 курса, Сироткина М.С., младший научный сотрудник 504

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МУТАГЕНЕЗА КАПСИДА AAV НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ СБОРКИ РЕКОМБИНАНТНЫХ AAV ВЕКТОРОВ
Ільющенко А.Ю., магистрант 2 года обучения 509

РАЗРАБОТКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА ФУМАРАТ 3-ОКСИПИРИДИНА, КАК ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА
Какора С.А., студ. 4 курса ПАТЭ НПУЯ МПФП 512

ПЛАНИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТА ДЛЯ ПОДБОРА ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ БИОСИНТЕЗА ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗЫ В ЛАБОРАТОРНОМ БИОРЕАКТОРЕ EVIO-LAB
Ковтун М.М., студ. 4 курса ФПТА 517

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ВЫДЕЛЕНИЯ ПАНКРЕАТИНА ИЗ ЖИВОТНОГО СЫРЬЯ
Крылова П.А., маг. 2 года обучения 520

СРАВНЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИН ОТ КОРОНАВИРУСА
Латыпов А.А., Лыков Д.Р., Рычагов А., студ. 2 года обучения 524

ИССЛЕДОВАНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ И ВЫЯВЛЕНИЕ БИОСИНТЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА НОВЫХ ШТАММОВ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ
Максимова В.Ю., Чернышенко В.С., студ. 3 курса 526

РЕГУЛИРУЕМАЯ ФЕРМЕНТАЦИЯ ПРОДУЦЕНТА ФЕРМЕНТА ХОЛИСТЕРОЛОКСИДАЗЫ В УСЛОВИЯХ БИОРЕАКТОРА EVIO-LAB
Микрюкова А.П., студ. 4 курса ФПТА 530

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ ШТАММА ENTEROCOCCUS FAECIUM L-3 С ВЫБРАННЫМИ МАТЕРИАЛАМИ КОНСТРУКЦИИ МИКРОБИОРЕАКТОРА-КАПСУЛЫ
Останина А.А., студ. 4 курса 534

ИРИДОИДЫ РАСТЕНИЙ РОДА *VITEX* L. (*LAMIACEAE*)
Очагова А.Ю., магистрант 2 года обучения, Некрасова Е.В., старший преподаватель кафедры биотехнологии 538

СИСТЕМА ДОСТАВКИ КОЛИСТИНА НА ОСНОВЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНОГО КОМПЛЕКСА N,O-(2-ГИДРОКСИПРОПИЛ-3-ТРИМЕТИЛАММОНИЙ)-ХИТОЗАН – ДЕКСТРАН СУЛЬФАТ
Пестерева Ю.О., студ. 4 курса 542

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ЦЕЛЕВОГО ПРОДУКТА ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ *E.COLI* ПРИ ПОМОЩИ ЛАКТОЗЫ И ИЗОПРОПИЛ-B-D-1-ТИОГАЛАКТОПИРАНОЗИДА
Писевич М.М., маг. 1 года обучения, Сафи А.С. 547

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ CRISPR/CAS9 ДЛЯ СОЗДАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Пятиизбянцев Т.А., студ. маг. 2 курса 554

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКА SMN
Роденков Е.М., магистрант 2 года обучения 559

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕКВЕНИРОВАНИЯ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ON-TARGET ЭФФЕКТОВ ГЕНОМНЫХ НУКЛЕАЗ
Романова Д.А., маг. 2 года обучения 563

ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОГО РЕЖИМА ЭКСТРАКЦИИ БЕЛКОВ ИЗ ФАБРИЦИЕВОЙ СУМКИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ
Руди Р.В., магистрант 1 года обучения 568

СОЗДАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЕЙ С ABC-ТРАНСПОРТЕР-ОПОСРЕДОВАННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ
Сагайдак А.В., аспирант 3 года обучения. 574

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТХОДОВ ЯНТАРНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЛЕЧЕБНОЙ КОСМЕТИКИ
Сергеева Е.О., студ. 4 курса. 577

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТХОДОВ ЯНТАРЯ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
Федотова А.А., студ. 4 курса 581

ИНДУКТОРЫ БИОСИНТЕЗА ЛИПАЗЫ И КИСЛОЙ ПРОТЕАЗЫ МИКРОМИЦЕТОМ *ASPERGILLUS ORYZAE*
Фитова В.Д., Карандашова С.С., студ. 4 курса 586

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА СОРБЦИИ КОКАРБОКСИЛАЗЫ В СТАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ НА СОРБЕНТАХ РАЗЛИЧНОГО ТИПА
Холодаева С.В., студ. 4 курса, Пятиизбянцев Т.А., маг. 2 года обучения 589

СОВРЕМЕННЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ГЕНОТЕРАПИИ
Черепанова А.Д., студ. 1 курса 596

ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПАРЕНТЕРАЛЬНЫХ ГЕПАТИТОВ, МЕРЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ
Южанинова Е.С., студ. 2 курса 599

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАТЕРИСТИКА МИЦЕЛИЯ НЕКОТОРЫХ АФИЛЛОФОРОВЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ
Юсупова А.А., магистрантка 1 курса обучения 605

ПРОИЗВОДСТВО КОКАРБОКСИЛАЗЫ: ТРАДИЦИОННАЯ ТЕХНОЛОГИЯ И СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ
Бутенко А.А., Матюхова М.В., студ. 3 курса 610

РАЗРАБОТКА СОРБЦИОННО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ КОМПЛЕКСА ФЕРМЕНТОВ (КИСЛАЯ ПРОТЕАЗА, ЛИПАЗА, А-АМИЛАЗА) ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ *ASPERGILLUS ORYZAE*
Головина Л.А., студ. 4 курса 615

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ РНК-ВАКЦИН
Кокшарова Е.Д., магистр 1 года обучения 620

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВАРИАНТОВ STREPTOMYCES ROBEFUSEUS
Крылова Е.А., студ. 4 курса 625

БИОТЕХНОЛОГИЯ КУЛЬТУРЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ
Новик А.Д., асп. 3 года обучения, Сабанов А.А., студ. 3 курса, Попков Н.С., студ. 3 курса 629

ПРИМЕНЕНИЕ МУЛЬТИКОЛОНОЧНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССОВ ОЧИСТКИ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ
Соловьева М.А., магистрант 1 года обучения 633

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОДУКТОВ БИОСИНТЕЗА STREPTOMYCES LEVORIS И STREPTOMYCES IMBRICATUS И ОСНОВНЫЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛЯЦИИ ИХ БИОСИНТЕЗА
Хайруллина С.Н., студ. 3 курса, Палагина М.А., студ. 3 курса 636

СЕКЦИЯ 5. СОВРЕМЕННЫЕ ВОПРОСЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПРОТИВОДИАБЕТИЧЕСКИХ ЭКСТРАКТОВ НА ОСНОВЕ ИМБИРЯ, ЧЕРНИКИ И ЖЕНЬШЕНЯ
Александрова Д.А., маг. 2 года обучения 641

МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЕ ПРИ ПОМОЩИ АВТОМАТИЧЕСКОГО ДОЗИРУЮЩЕГО УСТРОЙСТВА
Алиев А.Р., студ. 3 курса 644

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОКРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ, ПОЛУЧЕННОЙ МЕТОДОМ ГАЗОФАЗНОГО ГИДРОЛИЗА, В ПРОИЗВОДСТВЕ ТАБЛЕТОК
Амерханов Р.Ю., студ. 4 курса 648

ОПТИМИЗАЦИЯ ВЫСОТЫ ПСЕВДООЖИЖЕННОГО СЛОЯ НА ОСНОВЕ ПРОЦЕССА МОДЕЛИРОВАНИЯ
Банайтис Р.П., маг. 1 года обучения 652

ЛЕДЕНЦЫ НА ОСНОВЕ ФИТОСУБСТАНЦИЙ, КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА
Богомолова Е.А., студ. 2 курса 656

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ПРЕДПОСЕВНОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО МАТЕРИАЛА ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО *SCUTELLARIA BAICALENSIS GEORGI* В УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ *IN VITRO*
Бронских Е.Д., студ. 3 курса 659

ИЗУЧЕНИЕ РОСТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ ГАРДЕНИИ ЖАСМИНОВИДНОЙ
Бугаев А.С., студ. 4 курса 663

ПРИМЕНЕНИЕ ЯЗЫКА ПРОГРАММИРОВАНИЯ R И ИНТЕГРИРОВАННОЙ СРЕДЫ РАЗРАБОТКИ RSTIDIO ДЛЯ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ДАННЫХ
Бутомо Т.В., маг. 1 года обучения 668

ВОЗМОЖНОСТИ СОВРЕМЕННОГО ПО И ПРИМЕНЕНИЕ ИХ ДЛЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ И ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССА ТЕПЛООБМЕНА В ЗМЕЕВИКОВОМ ТЕПЛООБМЕННИКЕ
Валеева М.Е., студ. 3 курса, Чеснокова А.А., студ. 3 курса 672

ОЦЕНКА ПОГРЕШНОСТИ ПРИ РАСЧЕТЕ ТЕПЛОПЕРЕДАЧИ В ЦИЛИНДРИЧЕСКИХ КАНАЛАХ
Валеева М.Е., студ. 3 курса, Ушакова Е.А., студ. 3 курса 675

ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ ФИТОПРЕПАРАТОВ, ПОВЫШАЮЩИХ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ
Ванторина Д.Д., маг. 1 год обучения 679

РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРО- И НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ ИЗ НОСА В МОЗГ
Гордеева Д.С., асп. 2 года обучения 684

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК
Данилова Е.С., Письмерова А.П., Перова Д.П., студ. 2 курса, бакалавриат 689

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕЛЕЙ В ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ
Долгов Д.С., студент 1 курса, Губернаторова А.О., ученица 10 класса 692

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ТЕХНОЛОГИИ ТАБЛЕТОК МЕТАМИЗОЛА НАТРИЯ
Дубовская Н.А., студ. 5 курса, Ладейщикова К.С., студ. 5 курса, Щукина М.Ф., студ. 5 курса 695

ВЫБОР ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ И МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ТАБЛЕТОК С ЭКСТРАКТОМ ГИНКГО БИЛОБА И СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ
Жумагазеева А.Ж., магистр 2 года обучения 700

УПРАВЛЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИМ ПРОЦЕССОМ ПРОИЗВОДСТВА КАПСУЛ ТЕМОЭЛ 250 МГ ПОСРЕДСТВОМ FMEA-АНАЛИЗА
Ибрагимова А.Р., маг. 1 года обучения 703

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СУХОГО ЭКСТРАКТА ВОДЯНИКИ ЧЕРНОЙ ТРАВЫ
Исаева М.А., студ. 5 курса 709

К ВОПРОСУ РАЗРАБОТКИ ТЕХНОЛОГИИ ТАБЛЕТОК «СИМВЕРИН»
Исмаилова М.К., соискатель 712

МОДЕЛИ ПРОЦЕССОВ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЯХ
Кайбышева М.Р., студ. 3 курса 716

ОЧИЩАЮЩАЯ МАСКА ДЛЯ ЛИЦА НА ОСНОВЕ КАОЛИНА И АКТИВИРОВАННОГО УГЛЯ
Калабаева Б.Б., бак. 4 года обучения 721

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ОРАЛЬНО ДИСПЕРГИРУЕМЫХ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВАНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СУБСТАНЦИИ ЭТИЛТИОБЕНЗИМИДАЗОЛА ФУМАРАТА
Касымов П.Д., магистрант 2 года обучения 725

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЙ
Кобелева А.В., студ. 4 курса 728

РАЗРАБОТКА СОСТАВА МУКОАДГЕЗИВНЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПЛЕНОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДРОБНОГО ФАКТОРНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА
Кондакова Ю.А., маг. 2 года обучения 731

ИССЛЕДОВАНИЕ СРАВНИТЕЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ОСНОВ РАЗЛИЧНОГО НАЗНАЧЕНИЯ ДЛЯ ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ АРТРИТА
Коннова М.А., асп. 2 года обучения, Пушкаш Л.А., студ. 5 курса 735

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО КИСЛОРОДА С ПОМОЩЬЮ КРИОГЕННОЙ ТРЕХСТУПЕНЧАТОЙ РЕКТИФИКАЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРОГРАММЫ DWSIM
Корнилова А.Д., студ. 4 курса, Миронова П.С., студ. 4 курса 739

ХОЛОДОВАЯ ЦЕПЬ ДЛЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ ТЕРМОЛАБИЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Лобанова Е.Н., маг. 1 года обучения 745

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ САПАНИНОВ ИЗ АСТРАГАЛА ПЕРЕПОНЧАТОГО
Лохматова Д.Э., студент 4 курса 752

МЕТОДЫ ОБЕССОЛЕВАНИЯ ПРИРОДНЫХ ВОД И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ
Магдиев С.Х., студ. 3 курса 755

КОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНЫ
Медведева С.С., Темная Ю.А., Пушкарева А.К., студ. 2 курса 759

ПРИМЕНЕНИЕ ТРЁХМЕРНОЙ ПЕЧАТИ В РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПЛЕНОК
Мишина П.А., студ. 2 курса, Кондакова Ю.А., маг. 2 года обучения 762

РАЗРАБОТКА И МОДЕЛИРОВАИЕ ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ СХЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ КИСЛОРОДА МЕДИЦИНСКОГО
Муллаева В.Н., магистрант 2 года обучения 766

РАЗРАБОТКА СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ФИТОСУБСТАНЦИЙ
Наумова А.А., магистрант 2 года обучения 769

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСТРАКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ФЛАВОНОИДОСОДЕРЖАЩЕГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ
Нестерова Д.П., студ. 4 курса, Чеботова П.А., студ. 4 курса 773

ТРАНСФЕР ТЕХНОЛОГИЙ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
Никитина А.В., студ. 2 курса 777

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ДЕСОРБЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК МИНЕРАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЖЕЛЕЗА
Новикова Н.Б., маг. 2 года обучения, Гамаюнова Т.С., маг. 2 года обучения 783

РАЗРАБОТКА СОСТАВА ОСНОВЫ ЛЕЧЕБНО-КОСМЕТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ АКНЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ПЛАНИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА
Новиньков А.Г., студ. 4 курса 787

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ, ОБЛАДАЮЩЕЙ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ
Ногаева У.В., аспирант 2 года обучения, Якимов К.Д., студ. 4 курса 792

ПОЛУЧЕНИЕ ВОДЫ ОЧИЩЕННОЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ
Одинцов В.С., магистрант 2 года обучения 798

ТСХ-«ФИНГЕРПРИНТ» И АНАЛИЗ ЭКСТРАКТОВ АРАЛИИ МАНЬЧЖУРСКОЙ (ARALIA ELATA VAR. MANDSHURICA RUPR. ET MAXIM.) J. WEN С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРИРОДНЫХ ГЛУБОКИХ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ
Петроченко А.А., аспирант 1 года обучения 803

УСТРОЙСТВО И ОСНОВНЫЕ КИНЕМАТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РОБОТОВ-МАНИПУЛЯТОРОВ
Покатович А.В., студент 1 курса, Строганова А.А., студент 1 курса 806

МЕХАНОАКТИВАЦИЯ И МЕХАНОАКТИВАТОРЫ В СОВРЕМЕННОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ
Полещук А.А., студ. 2 курса 810

ВЫБОР И ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА С АНАЛЬГЕЗИРУЮЩИМ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ДЕЙСТВИЕМ В ВИДЕ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ
Поляков А.Д., студ. 4 курса 814

СТАБИЛЬНОСТЬ РАСТВОРА ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ ДИФЕНГИДРАМИНА ГИДРОХЛОРИДА В УСЛОВИЯХ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР
Радченко А.Ю., курсант 4 года обучения 817

ПРИНЦИП СОЗДАНИЯ МОДЕЛИ СБОРКИ В СИСТЕМЕ ТРЕХМЕРНОГО ТВЕРДОТЕЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ КОМПАС-3D
Речкалов Г.В., студ. 1 курса. 822

КРИОГЕЛИ НА ОСНОВЕ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА (БСА): СИНТЕЗ, СВОЙСТВА, ПРИМЕНЕНИЕ
Романенко М.С., студ. 3 курса, Рудомётова М.О., Сучкова К.М., Капранова Е.Д., студ. 2 курса, Шерстнев В.В., магистр 1 года обучения 827

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОТИВООЖОГОВЫХ ФИТОПЛЕНОК
Салаева М.Х., студ. 4 курса 832

К ВОПРОСУ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ АНТИЭМЕТИЧЕСКИХ ТАБЛЕТОК
Самединова Д.Н., базовый докторант (PhD) 2 года обучения 835

КИНЕТИКА ПРОЦЕССА СУШКИ СЫПУЧЕГО МАТЕРИАЛА В СРАВНЕНИИ С КАПИЛЛЯРНО-ПОРИСТЫМИ ТЕЛАМИ
Сахаров А.Д., студ. 3 года обучения, Тасфаева А.А., студ. 3 года обучения, Наумова Ю.И., студ. 3 года обучения. 839

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НА ОСНОВЕ ТЕОРИИ ПОДОБИЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ИНСУЛЬТА
Серкова Я.Р., студ. 4 курса 843

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПЛОДОВ РЯБИНЫ ЧЕРНОПЛОДНОЙ (ARONIA MELANOCARPA)
Сокрашкина Н.В., студ. 4 курса 847

ПРИВЕДЕНИЕ СПЕЦИФИКАЦИИ НА АКТИВНУЮ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКУЮ СУБСТАНЦИЮ К ТРЕБОВАНИЯМ ЕАЭС
Сон А.В., преподаватель, Зайцев С.А., соискатель 851

ПРИМЕНЕНИЕ ИНСТРУМЕНТОВ КАЧЕСТВО ЧЕРЕЗ РАЗРАБОТКУ (QbD) ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССА ЭКСТРАКЦИИ
Степанов К.С., магистрант 2 года обучения 854

АЭРОЗОЛЬ ЩЕЛОЧНОГО РАСТВОРА ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА ДЛЯ ИНГАЛЯЦИИ КАК НОВОЕ ОТХАРКИВАЮЩЕЕ СРЕДСТВО. ПОВЕСТВОВАТЕЛЬНЫЙ ОБЗОР
Столяренко А.П., студ. 5 курса 859

ФИТОГОРМОНЫ РАСТЕНИЙ
Темная Ю.А., Медведева С.С., студ. 2 курса. 863

РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ БЫСТРОРАСТВОРИМОГО НАПИТКА, ОБЛАДАЮЩЕГО ГАСТРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ
Тирон Т.П., студ. 4 курса 866

ПРИМЕНЕНИЕ КРЕМНИЯ И ЕГО СОЕДИНЕНИЙ В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАЦИИ
Ткачева А.В., студ. 1 курса 870

ПРИМЕНЕНИЕ РОТОРНО-ПУЛЬСАЦИОННЫХ АППАРАТОВ РОЛИКОВОГО ТИПА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОЦЕССОВ ДИСПЕРГИРОВАНИЯ И ГОМОГЕНИЗАЦИИ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
Тодиева В.В., студ. 2 курса 876

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И СОСТАВА ОЧИЩАЮЩЕГО СРЕДСТВА-СКАТКИ ДЛЯ РУК, НЕ ТРЕБУЮЩЕГО СМЫВАНИЯ
Туманова А.П., студ. 4 курса 881

ПРИМЕНЕНИЕ РОБОТОВ-МАНИПУЛЯТОРОВ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
Туруспаева Ж.Ж., студ. 2 курса 886

РАЗРАБОТКА ТЕСТА РАСТВОРЕНИЕ ДЛЯ ФИЛАМЕНТОВ – ПОЛУПРОДУКТА ПОЛУЧЕНИЯ ТАБЛЕТОК ИНДАПАМИДА
Уфимцева М.С., студ. 5 курса 890

АНАЛИЗ ТРЕБОВАНИЙ К ПРОЕКТИРОВАНИЮ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ ПО ВЫПУСКУ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ
Федорова А.С., магистр 1 года обучения 895

ИЗУЧЕНИЕ СУСПЕНДИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ КРАХМАЛА
Царегородцев А.М., студ. 3 курса, Валеева М.Е., студ. 3 курса 899

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ИНДАПАМИДА
Церковная К.М., аспирант 1 года обучения, Коцур Ю.М., соискатель 903

МЕТОДЫ И ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ ОЧИСТКИ ВАКЦИН
Цыганкова Л.А., студ. 3 курса 906

ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОЦЕССА МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЯ
Чебыкина А.А., студ. 4 курса 912

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ НА СВОЙСТВА ТАБЛЕТОК, СОДЕРЖАЩИХ АСКОРБИНОВУЮ КИСЛОТУ И РУТОЗИД
Чернова М.А., студ. 5 курса 916

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИПИРИНА В СЛЮНЕ С ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫМ МИКРОЭКСТРАКЦИОННЫМ ВЫДЕЛЕНИЕМ
Шевалёв Р.М., студ. 2 курса бакалавриата 920

ПОТЕНЦИАЛ ПРИРОДНЫХ ГЛУБОКИХ ЭВТЕКТИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ КОРНЕЙ *GLYCYRRHIZA GLABRA* L.
Шикова В.А., студ. 1 курс 924

ВИЗУАЛЬНЫЙ И МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЦВЕТКОВ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
Шиц Д.Д., студ. 3 года обучения, Волкова Л.С., студ. 3 года обучения 928

ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ ШЛЕМНИКА БАЙКАЛЬСКОГО
Шмарова А.А., магистрант 1 года обучения 930

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА СУБСТАНЦИЙ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ЭКСТЕМПОРАЛЬНЫХ РАСТВОРОВ ДЛЯ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА
Шубина К.А., асп. 1 года обучения 934

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ТВЁРДЫХ ДИСПЕРСИЙ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ
Якимов К.Д., студ. 4 курса, Ногаева У.В., аспирант 2 года обучения 938

INFLUENCE OF SOLVENT, TEMPERATURE AND EXPOSURE TIME ON THE INCORPORATION OF IBUPROFEN INTO POLYVINYL ALCOHOL FILAMENT FOR 3D PRINTING
Kalaba M., Integrated academic studies in Pharmacy, 5th year, Rančić M., Integrated academic studies in Pharmacy, 5th year, Perin M., Integrated academic studies in Pharmacy, 5th year 945

THE MAIN CRITERIA FOR CHOOSING THE COMPOSITION AND TECHNOLOGY OF TABLETS ANTIFUNGAL ACTION
Sherova A.B., applicant 950

THE EFFECT OF FACTORS ON THE QUALITY OF RECOMMENDED TABLETS
Tashmatova M.A., applicant 954

RESEARCH ON THE DEVELOPMENT OF A SPECIFIC COMPOSITION AND TECHNOLOGY OF «SEDTAB» TABLETS
Turdieva Z.V., applicant 958

АДСОРБЦИЯ РУТИНА НА АКТИВИРОВАННОМ УГЛЕ
Лебедев А.А., студ. 2 курса, 1800 группа, ФПТА 963

СЕКЦИЯ 6. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ОТРАСЛЬ: ТЕНДЕНЦИИ В ЭКОНОМИКЕ И УПРАВЛЕНИИ

ОТДЕЛЬНОЕ ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕЧЕНИЯ ОСТЕОПЕНИИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ
Алексеева В.А., аспирант 1 года обучения 965

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПОДХОДОВ К ЛЕЧЕНИЮ ДЕТЕЙ С COVID-19 (НА ПРИМЕРЕ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН)
Алмас С.А., Бидан Н.М., Болат Б.Б., магистранты 1 года обучения 968

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА FMEA ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ФОРМЕ СУХИХ ПОРОШКОВ ДЛЯ ИНГАЛЯЦИИ
Алхутова П.М., магистрант 2 года обучения 971

РЫНОК ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Андриашвили Т.М., студ. 3 года обучения, Соколова А.А., студ. 4 года обучения, Фомичев Е.А., студ. 3 года обучения, Пустынников В.Э., студ. 3 года обучения 975

ОЦЕНКА РОССИЙСКОГО РЫНКА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕПАТИТА С
Атлашева Д.А., маг. 1 год обучения 979

АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ ТЕНДЕНЦИЙ НА РОССИЙСКОМ РЫНКЕ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Баранова А.О., магистрант 2 года обучения 984

АНАЛИЗ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ АПТЕЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ В СИСТЕМЕ ФАРМАКОНАДЗОРА
Баширова Р.Р., студ. 5 курса 988

АНАЛИЗ РОССИЙСКОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА В СЕГМЕНТЕ ПАРФЮМЕРНО-КОСМЕТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ АКНЕ
Библенко П.С., студ. 5 курса 993

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, НАЗНАЧАЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ
Блинкова П.Р., аспирант 2 года обучения, Балашова А.С., студ. 5 курса 997

МАРКЕТИНГОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИКОАГУЛЯНТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ В АПТЕЧНОЙ СЕТИ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ
Блинкова П.Р., асп. 2 года обучения, Наместникова Е.В., студ. 5 курса обучения 1003

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОНЯТИЯ «СОЦИАЛЬНО-ПСИХОЛОГИЧЕСКИЙ КЛИМАТ КОЛЛЕКТИВА» И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ПЕРСОНАЛА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ
Бочкова Т.П., маг. 1 года обучения 1007

ОСОБЕННОСТИ СОВРЕМЕННЫХ ТЕНДЕНЦИЙ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ ПО АНАЛИЗУ СТРУКТУРУ НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПРЕПАРАТОВ В УСЛОВИЯХ АПТЕЧНОГО СЕГМЕНТА ЦФО
Бубенчикова К.Р., студ. 1 группы 3 курса фармацевтического факультета 1011

ВЛИЯНИЕ ПАНДЕМИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19) НА ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ, СТРАДАЮЩИХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В РОССИИ
Водопьянова А.Д., магистрант 1 года обучения 1015

АКТУАЛЬНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ МОТИВАЦИИ ТРУДОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПЕРСОНАЛА НА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРЕДПРИЯТИИ
Галимова Э.Р., магистрант 1 года обучения 1018

ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ОЦЕНКЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ПОМОЩИ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ
Гражданкина А.А., ординатор 2 года обучения 1023

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ДОМАШНИХ АПТЕЧЕК ГЕРИАТРИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ
Григорьева И.А., аспирант 4 года обучения 1026

РОБОТИЗАЦИЯ АПТЕК – ПЕРСПЕКТИВЫ И РИСКИ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РАБОТНИКА
Демина Е.В., студ. 3 курса, Шаехова Г.Р., студ. 3 курса 1030

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ COVID-19
Дзидзоева М.И., студ. 4-го обучения 1035

ПРЕИМУЩЕСТВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНФОРМАЦИОННЫХ СИСТЕМ КЛАССА LIMS НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЯХ
Егоров Е.Е., магистрант 2 года обучения 1038

СОВРЕМЕННЫЕ САХАРОСНИЖАЮЩИЕ ПРЕПАРАТЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ПРАКТИКЕ ПРИ ТЕРАПИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА II ТИПА
Егорова К.Ю., магистрант 1 года обучения. 1041

АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ ТЕНДЕНЦИЙ НА РОССИЙСКОМ И МИРОВОМ РЫНКЕ ПРЕПАРАТОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ И ПЛАЗМОЗАМЕЩАЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ
Елизарова М.С., магистрант 1 года обучения 1045

АНАЛИЗ РЫНКА ТЕСТОВ НА COVID-19
Жиляева Е.В., магистрант 1 года обучения 1049

ИНСТРУМЕНТЫ БЕРЕЖЛИВОГО ПРОИЗВОДСТВА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ
Заяц Е.С., студ. 4 курса 1053

ВНЕДРЕНИЕ DIGITAL-ИНСТРУМЕНТОВ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ МАРКЕТИНГ ПОД ВЛИЯНИЕМ COVID-19
Зеленина Д.Д., студ. 3 курса, Копылова Д.А., студ. 3 курса 1058

АНАЛИЗ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКИХ ТАРГЕТНЫМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ
Зеликова Д.Д., студ. 3 курса 1063

ЦИФРОВАЯ АДАПТАЦИЯ РОССИЙСКИХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕДПРИЯТИЙ: ПРОИЗВОДСТВО – ПРОДВИЖЕНИЕ – РЕАЛИЗАЦИЯ
Иванов Я.М., маг. 1 года обучения. 1067

МАРКЕТИНГОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ В АПТЕЧНОЙ СЕТИ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ
Измаева А.А., студ. 5 курса обучения 1070

РАЗВИТИЕ КАДРОВОГО ПОТЕНЦИАЛА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ
Ильичева Е.С., магистрант 1 года обучения 1073

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ, ПРОИЗВОДЯЩЕГО ИННОВАЦИОННУЮ ПРОДУКЦИЮ
Имангулова А.Ф., магистрант 2 года обучения. 1077

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ СРЕДИ СТУДЕНТОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ УНИВЕРСИТЕТОВ РОССИИ И ЕВРОПЫ – СРАВНИТЕЛЬНО-СОПОСТАВИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ
Каменских А.А., студ. 2 курса 1081

СПЕЦИФИКА УПРАВЛЕНИЯ РИСКАМИ, ВОЗНИКАЮЩИМИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ РФЛП
Капутская И.А., магистрант 2 года обучения 1084

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К КАТЕГОРИИ «ТАЛАНТ» В УПРАВЛЕНИИ ПЕРСОНАЛОМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ
Катилова К.А., магистрант 1 года обучения 1088

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОРГАНИЗАЦИИ КОМАНДНОЙ РАБОТЫ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ОТРАСЛИ
Каширина Л.С., магистрант 1 года обучения 1092

АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ РЕСУРСНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИЕЙ ЭНТЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ
Кирпикова К.Е., аспирант 2 года обучения. 1097

АНАЛИЗ РОССИЙСКОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА АНТИСЕПТИЧЕСКИХ И ПРОТИВОМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Кнутарева А.С., магистрант 1 года обучения 1101

АНАЛИЗ ПРОДАЖ ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА РОССИЙСКОМ РЫНКЕ
Кожевникова В.А., студ. 4 курса 1104

МАРКЕТИНГОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЫНКА ТАРГЕТНЫХ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЛЕГКИХ
Криницына В.Е., магистрант 2 года обучения. 1109

ОЦЕНКА НЕГАТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СТОЧНЫХ ВОД, ОБРАЗУЮЩИЕСЯ В ПРОЦЕССЕ СИНТЕЗА ГОРМОНОВ ПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ, НА ОКРУЖАЮЩУЮ СРЕДУ
Кряжевских А.А., магистрант 2 года обучения 1113

НЕЙМИНГ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА УРОВЕНЬ ПРОДАЖ БАД В РОССИИ
Курбатова С.Г., студ. 3 года обучения, Тишина В.А., студ. 4 года обучения 1119

АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ ПРИНЦИПОВ МЕРЧЕНДАЙЗИНГА ДЛЯ АПТЕЧНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ
Ливанова А.Ф., студ. 1 курса, Курочкина Д.К., студ. 1 курса 1125

АНАЛИЗ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА РОССИИ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ
Марченко Е.А., студ. 1 курса 1128

ИССЛЕДОВАНИЕ СИСТЕМЫ МЕНЕДЖМЕНТА КАЧЕСТВА НА ОСНОВЕ СТАНДАРТОВ GMP В ЗАРУБЕЖНОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
Маслова Д.Д., магистрант 1 года обучения. 1132

СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ДЛЯ ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ КАМПИЛОБАКТЕРИОЗОМ
Матлашевская Ю.В.1, студ. 5 курса 1137

ОРГАНИЗАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРТНОЙ ОЦЕНКИ СОСТАВА ЭКСТЕМПОРАЛЬНОЙ САЛИЦИЛОВОЙ МАЗИ С УЧЕТОМ ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ
Мешко А.А., магистрант кафедры фармацевтической технологии 1140

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ ДЕТЯМ И ПОДРОСТКАМ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ
Михайлова О.С., аспирант 3 года обучения 1145

МНОГОВЕКТОРНАЯ ОЦЕНКА РЫНОЧНОГО СЕГМЕНТА, СФОРМИРОВАННОГО ПЕРЕЧНЕМ ПОТЕНЦИАЛЬНО-ЦЕЛЕВЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ (НА ПРИМЕРЕ РЕСПУБЛИКИ КРЫМ)
Мишустина Л.А., студ. 5 курса, Романенко А., студ. 5 курса, Скрипникова Д.В., студ. 5 курса 1149

СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ РОССИЙСКОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ И ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ
Нестерова Д.П., студ. 4 курса 1154

РИСКИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА: ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
Нурзай С.Н., студ. 4 курса 1157

ИССЛЕДОВАНИЕ МИНИМАЛЬНОГО АССОРТИМЕНТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ
Озерова Д.В., студ. 1 курса, Карепина П.А., студ. 1 курса 1163

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ СТРУКТУРЫ ТОВАРОВ АПТЕЧНОГО АССОРТИМЕНТА, РЕАЛИЗУЕМЫХ ДИСТАНЦИОННЫМ СПОСОБОМ
Основа М.Д., студ. 4 курса фармацевтического факультета, Миронова Д.В., студ. 4 курса фармацевтического факультета 1167

ФОРМИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ НЕМАТЕРИАЛЬНОГО СТИМУЛИРОВАНИЯ ТРУДА РАБОТНИКОВ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРЕДПРИЯТИИ
Палагина А.А., студ. 4 курса 1171

ТРАДИЦИОННЫЕ И ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ САХАРНОГО ДИАБЕТА
Пелтола М.А., магистрант 1 года обучения 1175

ИССЛЕДОВАНИЕ УДОВЛЕТВОРЕННОСТИ СИСТЕМОЙ ОБУЧЕНИЯ И ПОВЫШЕНИЕМ КВАЛИФИКАЦИИ ПЕРСОНАЛА АО «ФАРМАСИНТЕЗ-НОРД»
Петрова В.А., магистрант 2 года обучения 1179

ПОДХОДЫ К РАЗВИТИЮ ПРОЕКТНЫХ КОМПЕТЕНЦИЙ В РАМКАХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ ВЫСШЕГО И ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО И МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ
Пимонова Е.Э., студ. 3 курса 1183

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКОСИСТЕМЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СТАРТАПОВ НА ПРИМЕРЕ ИННОВАЦИОННОГО ЦЕНТРА «СКОЛКОВО» И КРЕМНИЕВОЙ ДОЛИНЫ
Полякова Ю.Ю., магистрант 1 года обучения 1186

ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ УПРАВЛЕНИЕ РИСКАМИ ДЛЯ КАЧЕСТВА НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРЕДПРИЯТИИ
Понамарева А.П., магистрант 1 года обучения 1192

ОБЗОР РЫНКА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ПРЕПАРАТОВ Г. МОСКВЫ И ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВ ЕГО РАЗВИТИЯ
Попел Е.А., магистрант 2 года обучения 1198

МАРКЕТИНГОВЫЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН И ЯЗВ
Попова П.Н., студ. 5 курса 1202

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ КРОСС-КАТЕГОРИАЛЬНЫХ ПОДХОДОВ К УПРАВЛЕНИЮ АССОРТИМЕНТОМ АПТЕЧНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ
Радичкина Д.А., студ. 5 курса 1205

АКТУАЛЬНЫЕ ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ПАТЕНТНОГО ЗАКОНОДАТЕЛЬСТВА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ОТРАСЛИ
Ротблат Г.Р., магистрант 2 года обучения 1210

АНАЛИЗ ЗАРУБЕЖНЫХ И ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПРАКТИК НАЗНАЧЕНИЯ ПРОДУКТОВ ЭНТЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОНКОЛОГИЧЕСКОГО СПЕКТРА
Сметанина Д.Я., студ. 3 курса 1214

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ НАУКОВЕДЕНИЕ КАК ОСНОВА ДЛЯ РАЗВИТИЯ ФАРМАЦИИ
Соколова Е.В., аспирант 1 года обучения 1218

ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ АПТЕК ПО ОБСЛУЖИВАНИЮ НАСЕЛЕНИЯ
Тимофеева К.П., студ. 5 курса, Петров О.М., асп. 3 года обучения 1224

ОБЗОР И АНАЛИЗ ЗАРУБЕЖНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ О ПРОГНОЗАХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19 НА ФОНЕ ПОПУЛЯЦИОННОГО СТРЕССА
Тостановский Г.С., студ. 2 курса, Жариков М.В., магистрант 1 года обучения, Склярова Л.В., магистрант 1 года обучения 1230

ОЦЕНКА ФИНАНСИРОВАНИЯ РЕГИОНАЛЬНЫХ ПРОГРАММ ЛЬГОТНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЛИЦ, СТРАДАЮЩИХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ В СУБЪЕКТАХ РФ
Трапезникова Е.А., студ. 5 курса 1233

ОСОБЕННОСТИ ПРИВЛЕЧЕНИЯ И ПОДБОРА ПЕРСОНАЛА НА СОВРЕМЕННОМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ПРЕДПРИЯТИИ
Тышко О.А., магистрант 2-го года обучения 1237

ЭКСПЕРТНАЯ ОЦЕНКА ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ГОСПИТАЛЬНУЮ ПОТРЕБНОСТЬ В ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ
Угольцова В.Н., аспирант 3 года обучения 1240

РЫНОК МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ
Хорунжая А.А., ведущий специалист по ЭО и ДОТ 1244

АНАЛИЗ ФИНАНСОВЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КЛЮЧЕВЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ АКТИВНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ В РОССИИ
Хрол Д.Д., магистрант 2 года обучения 1248

РАЗРАБОТКА ИНФОРМАЦИОННОГО РЕСУРСА ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЕТЕЙЛА
Чуднов А.А., аспирант 3 года обучения 1252

ОЦЕНКА ЭКОНОМИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19
Широбоков Я.Е., аспирант 3-го года обучения 1256

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОНСОЛИДИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ (НА ПРИМЕРЕ СТАЦИОНАРОВ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ)
Шуваева А.С., соискатель 1259

СЕКЦИЯ 7. WORLD YOUNG PHARMACY

PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF IMPATIENS GLANDULIFERA ROYLE GRASS
Alexandrov M.A., 2nd year student 1263

THE DEVELOPMENT OF SORPTION-CHROMATOGRAPHIC METHOD FOR ENZYME COMPLEX ISOLATION (A-AMYLASE, ACID PROTEASE, LIPASE) FROM ASPERGILLUS ORYZAE NATIVE SOLUTION
Golovina L.A., 4th year student 1266

ANALYSIS OF RESEARCH DIRECTIONS IN THE FIELD OF NEW NATURAL SUBSTANCES WITH ANTITUBERCULAR ACTIVITY
Zamkina M.A., 2nd year student, Akhmetchanova A.V., 2nd year student 1270

STUDY OF THE OSMOTIC ACTIVITY OF A SOFT ANTI-INFLAMMATORY DRUG FORM
Zufarova Z.Kh., 1st year applicant 1274

PERSPECTIVE OF APPLICATION OF BROWN ALGAE (LAMINARIA SACCHARINA ET FUCUS VESICULOSUS) AS RAW MATERIALS FOR PHARMACEUTICAL SUBSTANCES
Ilinykh S.I., 1st year student, Zhulyaeva U.A., 1st year student 1277

PRACTICAL USE OF A FOREIGN LANGUAGE AS A FACTOR IN INCREASING THE MOTIVATION FOR LANGUAGE LEARNING AMONG NON-LINGUISTIC UNIVERSITY STUDENTS DURING THE COVID-19 PANDEMIC
Mishina P.A., 2nd year student 1282

ANTISEPTICS. THEIR RELEVANCE AND USEFULNESS IN THE FIGHT AGAINST COVID-19 INFECTION
Polyakova V.K., Tikhomirov V.A., 1st year students 1286

THE WORK OF COVID-19 VACCINES ON THE EXAMPLE OF VARIOUS INTERNATIONAL DRUGS
Potapova D.A., 2nd year student, Stepkina D.M., 2nd year student 1290

SCREENING METHOD FOR KAPPA-OPIOID AGONISTS IDENTIFICATION BASED ON PLATELET ACTIVATION MODEL
Pridvorov G.V., 1st year postgraduate student, Mukha O.Y., 5th year graduate student 1293

EMOTIONAL INTELLIGENCE OF PHARMACY STUDENTS
Rudometova M.O., Suchkova K.M., 2st year students 1296

MENTAL SELF-CARE. THE PHENOMENON OF OPENNESS
Ruchka V.V., 2nd year student, Yakubovskaya Y.A., 2nd year student, Kiryanova E.V., 2nd year student, Sandulyan V.S., 2nd year student 1300

EXTRACTION OF LICORICE ROOT WITH THE NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENT
Shikova V.A., 1st year student 1304

IMPACT OF COVID-19 GLOBAL PANDEMIC ON PHARMACEUTICAL INDUSTRY ECONOMY
Dobrynina T.V., 2nd year student, Novikova M.P., 2nd year student 1309

ANALYSIS OF CARBOHYDRATES IN EXTRACTS OF ROOT AND ABOVEGROUND PART OF COMARUM PALUSTRE L.
Mineev A.A., 2nd year student, Petrov N.V., 2nd year student 1311

THE USE OF EXTRACTS OF RAW MATERIALS OF THE GENUS DIOSCOREA UNDER EXTREME PHYSICAL EXERTION
Turavinina Z.A., 2nd year student 1314

СЕКЦИЯ 8. СРЕДНЕЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ: ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ФАРМАЦИИ

ВЛИЯНИЕ ФОРМЫ ЗАГОТОВКИ НА СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЛОДАХ ШИПОВНИКА И РЯБИНЫ
Горбунов Н.М., студ. 4 курса 1317

COVID-19 – МИФЫ И РЕАЛЬНОСТЬ
Кокина О.Е., студ., 2 год обучения, Кряжев Р.А., студ., 2 год обучения 1318

«ПУШКИНА У НАС ВСЯК ЛЮБИТ»
Кряжев Р.А., студ. 2 курса фармацевтического техникума 1320

ВЛИЯНИЕ ЦЕЛОСТНОСТИ ПЛОДОВ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ НА СОДЕРЖАНИЕ В НЕМ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ
Матвеева А.М., студ. 4 курса фармацевтического техникума 1322

АПТЕКАРСКИЙ УСТАВ – СВЯЗЬ ВРЕМЁН
Носар К.С., студ. 2-го года обучения, Белянина У.М., студ. 2-го года обучения 1323

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕ- И ПРОБИОТИКОВ В ПЕРИОД НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19
Удальцова А.С., студ. 1 профессионального курса 1327

МАСКИ И КОРОНАВИРУС В СТУДЕНЧЕСКОЙ И АПТЕЧНОЙ СРЕДЕ
Федорова У.А., студ. 4 курса фармацевтического техникума, Кряжев Р.А., студ. 2 курса фармацевтического техникума 1328

АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ ТЕНДЕНЦИЙ НА РОССИЙСКОМ И МИРОВОМ РЫНКЕ ПРЕПАРАТОВ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ
Яматин С.В., Юрчик А.С., студ. 2 курса 1331

ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ 1334

СОДЕРЖАНИЕ. 1339

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Организатор конференции
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Наркевич Игорь Анатольевич, ректор ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, д-р фармацевт. наук, профессор.

Главный редактор
Маймистов Денис Николаевич, заведующий лабораторией аддитивных технологий
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Технический редактор
Роденкова Вера Анатольевна, заведующий библиотекой ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Редакционная коллегия
Чернов Никита Максимович, доцент кафедры органической химии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Крысько Марина Владимировна, заместитель директора департамента науки
и подготовки научно-педагогических кадров ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Титович Ирина Александровна, директор департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Красовицкая Ирина Александровна, старший преподаватель кафедры биотехнологии
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Терентьева Оксана Андреевна, старший научный сотрудник лаборатории аддитивных технологий
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Орлов Александр Сергеевич, заведующий кафедрой экономики и управления
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Петрова Марина Валерьевна, старший преподаватель научно-образовательного центра иностранных языков
и межкультурной коммуникации ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Беспалова Нина Владимировна, преподаватель фармакогнозии фармацевтического техникума
ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Дизайн
Омельянова Александра Павловна, ОПТиТО ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.
Чистяков Кирилл Сергеевич, ОПТиТО ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Верстка
Демина Мария Павловна, редакционно-издательский отдел ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

ISBN 978-5-8085-0541-4

**XII ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
СТУДЕНТОВ И АСПИРАНТОВ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
«МОЛОДАЯ ФАРМАЦИЯ – ПОТЕНЦИАЛ БУДУЩЕГО»**

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ КОНФЕРЕНЦИИ

14 марта – 18 апреля 2022 года

Зав. издательством *О. Л. Олейник*

Компьютерная верстка *М. П. Деминой*

**Заказ 2282.
Гарнитура «Garamond».**

**Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14**