



2018 | Том / Volume VI

№ 4

Научно-практический журнал
Scientific and Practical Journal

ISSN 2307-9266
e-ISSN 2413-2241

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACY & PHARMACOLOGY



Обзоры, лекции
Reviews, Lectures

Фармакогнозия, ботаника
Pharmacognosy, Botany

**Фармацевтическая технология
и биотехнология**
Pharmaceutical Technology
and Biotechnology

**Фармацевтическая
и токсикологическая химия**
Pharmaceutical and Toxicological
Chemistry

**Фармакология и клиническая
фармакология**
Pharmacology and Clinical
Pharmacology

**Информационные технологии
в фармации**
Information Technologies in Pharmacy

**Организация и экономика
фармацевтического дела**
Organization and Economy
of Pharmacy

**Экономика и менеджмент
медицины**
Economy and Management
of Medicine

Фармацевтическое образование
Pharmaceutical Education

Краткие сообщения
Brief Reports

**Дискуссии, рецензии, юбилеи,
научные школы, история
фармации и фармакологии**
Discussions, Referee Reports,
Anniversaries, Schools
of Thought, History
of Pharmacy and
Pharmacology



ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Научно-практический журнал
Периодичность 6 номеров в год
Том 6, Выпуск № 4, 2018

Свидетельство регистрации СМИ: ПИ № ФС77–67428 от 13.10.2016 г.

Главный редактор

Петров Владимир Иванович академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Заместитель главного редактора

Озеров Александр Александрович доктор химических наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Редакционная коллегия

Фармакогнозия, ботаника

Куркин Владимир Александрович доктор фармацевтических наук, профессор, г. Самара, Россия.

Зилфикаров Ифрат Назимович профессор РАН, доктор фармацевтических наук, г. Москва, Россия

Фармацевтическая технология и биотехнология

Саканян Елена Ивановна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Москва, Россия

Фармацевтическая и токсикологическая химия / Информационные технологии в фармации

Вавер Ивона PhD, профессор, г. Варшава, Польша

Фармакология и клиническая фармакология

Ханферьян Роман Авакович доктор медицинских наук, профессор, г. Москва, Россия.

Буске Паскаль MD, профессор, г. Страсбург, Франция

Кампизи Коррадино профессор, MD, PhD, г. Генуя, Италия

Организация и экономика фармацевтического дела / Экономика и менеджмент медицины

Наркевич Игорь Анатольевич доктор фармацевтических наук, профессор, г. Санкт-Петербург, Россия

Сомасундарам Субраманиан MD, Россия/Индия

Статьи, представленные в разделы **Обзоры, лекции / Фармацевтическое образование / Краткие сообщения / Дискуссии, рецензии, юбилей, научные школы, история фармации и фармакологии** могут быть рассмотрены любыми членами редакционной коллегии.

Ответственный секретарь: Корянова Ксения Николаевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Корректор: Санникова Евгения Геннадиевна, г. Пятигорск, Россия

Переводчик: Давыденко Любовь Григорьевна, кандидат филологических наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Технический редактор: Доценко Марина Александровна, г. Пятигорск, Россия

Адрес редакции: 357532, г. Пятигорск, пр-т Калинина, 11.

Пятигорский медико-фармацевтический институт –

филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России

Телефон: +7 (8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Объединенный каталог. Пресса России. Газеты и журналы. Индекс 94183

Формат А4, тираж 1000 экз.

Журнал «Фармация и фармакология» включен в перечень рецензируемых научных изданий, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (Перечень ВАК), РИНЦ, eLibrary, ВИНТИ, РГБ, Киберленинка, Соционет, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universiteit Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Отпечатано в соответствии с предоставленными материалами в ООО «Амирит», 410004, г. Саратов, ул. Чернышевского, 88.

© ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 2018
© Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, 2018
© Авторы, 2018

ISSN 2307-9266
e-ISSN 2413-2241

PHARMACY & PHARMACOLOGY

Scientific and practical journal

Periodicity is 6 issues a year

Volume VI, Issue N 4, 2018

The mass media registration certificate: ПИ № ФС77–67428 от 13.10.2016

Editor-in-Chief

Petrov Vladimir Ivanovich Academician RAS, PhD (Medicine), Professor, Volgograd, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Ozerov Aleksandr Aleksandrovich PhD (Chemistry), Professor, Volgograd, Russia

Editorial Board

Pharmacognosy, Botany

Kurkin Vladimir Aleksandrovich PhD (Pharmacy), Professor, Samara, Russia

Zilfikarov Ifrat Nazimovich PhD (Pharmacy), Professor of the RAS, Moscow, Russia

Pharmaceutical Technology and Biotechnology

Sakanyan Elena Ivanovna PhD (Pharmacy), Professor, Moscow, Russia

Pharmaceutical and Toxicological Chemistry / Information Technologies in Pharmacy

Iwona Wawer PhD, Professor, Warsaw (Poland)

Pharmacology and Clinical Pharmacology

Khanfer`yan Roman Avakovich PhD (Medicine), Professor, Moscow, Russia

Pascal Bousquet MD, PhD Professor, Strasbourg, France

Campisi Corradino Professor, MD, PhD, Genoa, Italy

Organization and Economy of Pharmacy / Economy and Management of Medicine

Narkevich Igor Anatolyevich PhD (Pharmacy), Professor, Saint-Petersburg, Russia

Somasundaram Subramanian MD, Russia/India

Manuscripts presented in sections **Reviews, Lectures / Pharmaceutical Education / Brief Reports / Discussions, Referee Reports, Anniversaries, School of Thought, History of Pharmacy and Pharmacology** can be considered by any members of the editorial board.

Executive Editor: Koryanova Ksenia Nikolaevna, PhD (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Proofreader: Sannikova Evgeniya Gennadiyevna, Pyatigorsk, Russia

Translator: Davydenko Lubov Grigoryevna, PhD (Philology), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Technical editor: Dotsenko Marina Aleksandrovna, Pyatigorsk, Russia

Editors office address: 357532, Pyatigorsk, Kalinina, 11.

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University

Phone number: +7(8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Union catalogue. Russian Press/ Newspapers and journals. Code 94183

A4 size, 1000 issues circulation.

Journal “Pharmacy & Pharmacology” is recommended International Committee Of Medical Journal Editors and included in Higher Attestation Commission, Russian citation database, eLibrary, ARISTI (All-Russian Institute of Scientific and Technical Information), RSL (Russian State Library), CyberLeninka, Socionet, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich’sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Printed in the LLC “Amirit” in accord with provided materials, 410004, Saratov, 88, Chernishevsky Str.

ISSN 2307-9266
e-ISSN 2413-2241

© Volgograd State Medical University, 2018
© Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University, 2018
©Authors, 2018

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS

Обзоры, лекции / Reviews, Lectures

<i>Е.Г. Санникова, О.И. Попова, Е.В. Компанцева</i>	<i>E.G. Sannikova, O.I. Popova, E.V. Kompantseva</i>
ИВА ТРЕХТЫЧИНКОВАЯ (SALIX TRIANDRA L.) – ПЕРСПЕКТИВЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАЦИИ.....318	WILLOWTRIANDRA (SALIX TRIANDRA L.): PROSPECTS AND OPPORTUNITIES FOR USE IN MEDICINE AND PHARMACY318

Фармацевтическая технология и биотехнология / Pharmaceutical Technology and Biotechnology

<i>Н.Н. Бойко, Д.И. Писарев, Е.Т. Жилиякова, О.О. Новиков</i>	<i>N.N. Boyko, D.I. Pisarev, E.T. Zhilyakova, O.O. Novikov</i>
ИЗУЧЕНИЕ И МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАСТВОРИТЕЛЯ НА ЭКСТРАКЦИЮ ИЗОСАЛИПУРПОЗИДА ИЗ HELICHRYSI ARENARI FLORES340	STUDY AND MODELING OF SOLVENT INFLUENCE ON ISOSALIPURPOSIDE EXTRACTION FROM HELICHRYSI ARENARI FLOWERS340

Фармацевтическая и токсикологическая химия / Pharmaceutical and Toxicological Chemistry

<i>Л.И. Бутенко, С.А. Кулешова, Ж.В. Подгорная, Л.П. Мыкоц, А.Б. Дмитриев</i>	<i>L.I. Butenko, S.A. Kuleshova, J.V. Podgornaya, L.P. Myikots, A.B. Dmitriev</i>
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПЧЕЛИНОГО ЯДА И ПРОДУКТОВ НА ЕГО ОСНОВЕ.....351	PHYSICO-CHEMICAL STUDIES OF APITOXIN AND PRODUCTS ON ITS BASIS351

Фармакология и клиническая фармакология / Pharmacology and Clinical Pharmacology

<i>М.В. Черников, М.А. Оганова, А.С. Герасименко, Е.А. Артемьев</i>	<i>M.V. Chernikov, M.A. Oganova, A.S. Gerasimenko, E.A. Artemyev</i>
ПРОТИВОЯЗВЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ДИНИТРАТА 2-ФЕНИЛ-9-ДИЭТИЛАМИНОЭТИЛИМИДА- ЗО[1,2-А]БЕНЗИМИДАЗОЛА ПРИ ГЕЛИКОБАК- ТЕРОПОДОБНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА.....367	ANTIULCER ACTIVITY OF DINITRATE 2-PHENYL-9- DIETHYLAMINOETHYLAMINE[1,2-A] BENZIMIDAZOLE WITH HELICOBACTER PYLORI-LIKE DAMAGE OF GASTRIC MUCOSA367

Краткие сообщения / Brief Reports

<i>А.Л. Голованенко, Е.В. Третьякова, Е.С. Патлусова, И.В. Алексеева, Е.С. Березина, Р.Г. Першина</i>	<i>A.L. Golovanenko, E.V. Tretyakova, E.S. Patlusova, I.V. Alekseeva, E.S. Berezina, R.G. Pershina</i>
ИССЛЕДОВАНИЕ РЕМИНЕРАЛИЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАЧАЛЬНОГО КАРИЕСА ЭМАЛИ.....380	STUDY OF REMINERALIZING ACTIVITY OF DOSAGE FORMS FOR TREATMENT OF INITIAL ENAMEL CARIES380

История фармации и фармакологии / History of Pharmacy and Pharmacology

<i>Ф.Д. Воронов, И.Н. Ружинская</i>	<i>F.D. Voronov, I.N. Ruzhinskaya</i>
ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВ И «ГАЛЕНОВЫХ» ПРЕПАРАТОВ НА ПРИМЕРЕ РЕЦЕПТУРНЫХ ПРОПИСЕЙ «АНТИДОТАРИЯ» НИКОЛАЯ ИЗ САЛЕРНО389	TECHNOLOGY OF MEDICINES AND GALENICAL PREPARATIONS: THE CASE OF PRESCRIPTION FORMULA SFROM “ANTIDOTARIUM” NICOLAI BY NICHOLAS OF SALERNO389

ИВА ТРЕХТЫЧИНКОВАЯ (*SALIX TRIANDRA* L.) – ПЕРСПЕКТИВЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАЦИИ

Е.Г. Санникова, О.И. Попова, Е.В. Компанцева

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский
государственный медицинский университет» Минздрава России,
357532, Россия, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11
E-mail: dskompanцева@mail.ru

Одним из перспективных растительных объектов для расширения номенклатуры лекарственных средств, обладающих вяжущим и противовоспалительным действием, являются различные виды ивы, которые с давних времен использовались в народной медицине и сейчас находят широкое применение в составе различных биологически активных добавок к пище как за рубежом, так и в России. В настоящее время в медицинской практике, в основном, используется ива белая (*Salix alba* L.). Многочисленные виды ивы, которые произрастают и широко культивируются на территории Российской Федерации, пока не нашли широкого применения в медицине. **Цель исследования** – обобщить литературные сведения о распространении, среде обитания, содержания биологически активных веществ и о возможности заготовки сырья ивы трехтычинковой и ее использования в медицине и фармации. **Материалы и методы.** В качестве объекта исследования взята широко распространенная в Российской Федерации ива трехтычинковая (*S. triandra* L.). Исследование проводилось с использованием поисково-информационных (eLibrary, PubMed, CyberLeninka, ResearchGate) и библиотечных баз данных. **Результаты и обсуждение.** Ива трехтычинковая (*Salix triandra* L.) – многолетнее двудомное растение, относящееся к семейству Salicaceae (Ивовые) секции Amygdalinae. Ареал произрастания ивы трехтычинковой – преимущественно лесные и лесостепные зоны Европейского и Азиатского континентов. Восточная Европа является географическим центром произрастания ивы трехтычинковой, где она встречается на всей территории. В России ива трехтычинковая занимает почти всю ее Европейскую часть, доходя на севере до линии Петрозаводск – Вологда – Киров, и Северный Кавказ, встречается на территории Западной и Средней Сибири. Это говорит о том, что растительные ресурсы ивы трехтычинковой значительны. Отмечена возможность культивирования ивы трехтычинковой в различных эдафо-фитоценологических условиях, так как она наиболее легко подвергается вегетативному размножению. Показано, что ива трехтычинковая, как и другие виды ив, содержит богатый комплекс полифенольных соединений, что обуславливает ее противовоспалительный эффект. Выявлено, что побеги по эффективности не уступают коре исследуемых видов, что дает возможность применять побеги различных видов ив в качестве лекарственного растительного сырья. **Заключение.** Подтверждена перспектива исследования побегов различных видов ивы, в том числе и ивы трехтычинковой, как лекарственного растительного сырья, проявляющего противовоспалительные свойства.

Ключевые слова: ива трехтычинковая, ареал произрастания, биологически активные вещества, противовоспалительный эффект

Для цитирования:

Санникова Е.Г., Попова О.И., Компанцева Е.В.
ИВА ТРЕХТЫЧИНКОВАЯ (*SALIX TRIANDRA* L.) –
ПЕРСПЕКТИВЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАЦИИ.
Фармация и фармакология. 2018;6(4):318-339.
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-318-339
© Санникова Е.Г., Попова О.И., Компанцева Е.В., 2018

For citation:

Sannikova E.G., Popova O.I., Kompantseva E.V.
WILLOW TRIANDRA (*SALIX TRIANDRA* L.):
PROSPECTS AND OPPORTUNITIES FOR USE
IN MEDICINE AND PHARMACY.
Pharmacy & Pharmacology. 2018;6(4):318-339. (In Russ.)
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-318-339

WILLOW TRIANDRA (SALIX TRIANDRA L.): PROSPECTS AND OPPORTUNITIES FOR USE IN MEDICINE AND PHARMACY

E.G. Sannikova, O.I. Popova, E.V. Kompantseva

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532
E-mail: dskompanceva@mail.ru

One of the most promising plants for expanding the range of medicines having astringent and anti-inflammatory effects are various species of willow, which have been used in folk medicine for a long time and now are widely applied in the composition of various biologically active additives to food both abroad and in Russia. Currently, in medical practice, white willow (*Salix alba* L.) is mainly used. Numerous species of willow that grow and are widely cultivated in the Russian Federation have not yet been widely used in medicine. **The aim of the study** is to summarize the literary data about the expansion habitat, the content of biologically active substances and the possibility of harvesting raw materials of willow triandra (*Salix triandra* L.) and its use in medicine and pharmacy. **Materials and methods.** The object of the study is willow triandra (*S. triandra* L.) widespread in the Russian Federation. The study was conducted using search and information and library databases (eLibrary, PubMed, CyberLeninka, ResearchGate). **Results and discussion.** Willow triandra (*Salix triandra* L.) is a perennial dioecious plant, belonging to the Salicaceae family (Willow), Amygdalinae section. The natural habitat of willow triandra is predominantly forest and forest-steppe zones of the European and Asian continents. Eastern Europe is the geographical center of the growth of willow triandra, where it occurs throughout the territory. In Russia, willow triandra occupies almost the whole of its European part, in the North extends as far as the Petrozavodsk-Vologda-Kirov line, and the North Caucasus, it can be found on the territory of Western and Central Siberia. This suggests the idea that plant resources of willow triandra are significant. The possibility of cultivation of willow triandra in various edaphic-phytocenotic conditions is noted, since it is most easily subjected to vegetative propagation. It has been pointed out that willow triandra, like other willow species, contains a rich complex of polyphenolic compounds, which causes its anti-inflammatory effect. It has been revealed that in efficiency, the branches are not inferior to the bark of the species under study, which makes it possible to use branches of various willow species as a medicinal plant material. **Conclusion.** The prospect of research of branches of various willow species, including willow triandra, as a medicinal plant raw material showing anti-inflammatory properties, is confirmed.

Keywords: willow triandra (*Salix triandra* L.), the natural habitat, biologically active substances, anti-inflammatory effect

ВВЕДЕНИЕ. Одним из перспективных растительных объектов для расширения номенклатуры лекарственных средств, обладающих вяжущим и противовоспалительным действием, являются различные виды ивы, которые с давних времен использовались в народной медицине, и находят широкое применение в составе различных биологически активных добавок к пище (БАД) как за рубежом, так и в России [1].

В 2009 году был определен список растений, которые имеют первоочередное значение для включения в Государственную Фармакопею Российской Федерации (ГФ РФ), среди которых была отмечена ива [2].

В настоящее время в медицинской практике в основном используется ива белая (*Salix alba* L.) [3]. Многочисленные виды ивы, которые произрастают и широко культивируются на территории Российской Федерации, пока не нашли широкого применения в медицине. Всего в России произрастает около 80 видов ивы, причем они встречаются в различных климатических поясах, в частности, на Северном Кавказе – около 20. Комплексным изучением ив занимается особая наука – саликология [4].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – обобщить литера-

турные сведения о распространении, среде обитания, содержания биологически активных веществ и о возможности заготовки сырья ивы трехтычинковой и ее использования в медицине и фармации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В качестве объекта исследования нами взята широко распространенная и наименее изученная на Северном Кавказе ива трехтычинковая (*S. triandra* L.). Исследование проводилось с использованием поисково-информационных (eLibrary, PubMed, CyberLeninka, ResearchGate) и библиотечных баз данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. *Ботаническая характеристика ивы трехтычинковой.* Ива трехтычинковая (*Salix triandra* L.) – широко распространенное многолетнее двудомное растение, относящееся к семейству Salicaceae (Ивовые) секции Amygdalinae. В литературе можно встретить следующие синонимы видового названия: ива трехтычинковая, ива миндалелистная, белотал, белолоз. Существует 3 подвида *Salix triandra* L.: *S. triandra* ssp. *Bornmuellerii*, *S. triandra* ssp. *nipponica*, *S. triandra* ssp. *triandra* [5, 6].

Ива трехтычинковая является высоким быстрорастущим кустарником или небольшим деревцем до 5–6

м высотой. Отличается раскидистой густой кроной, длинными прутьевидными желтовато-зелеными побегами и миндалевидными листьями. Кора старых ветвей, начиная с диаметра 4–6 см, отслаивается неправильной формы пластинками («заплатами»), обнажая ржаво-коричневую пробку, не образуя грубых продольных трещин (рис. 1). Характерным признаком являются так-

же легко отламывающиеся побеги в сочленениях. Цветоносные почки по внешнему виду одинаковые с вегетативными, сплюснутые, тупые. Черешки в верхней части с отчетливыми железками. Листья ланцетные, плоские. Сережки поздние, на длинных облиственных ножках, узкоцилиндрические, большей частью изогнутые или несколько поникающие (рис. 2).



Рисунок 1 – Ива трехтычинковая (характерный вид коры, фото автора)



Рисунок 2 – Однолетние побеги ивы трехтычинковой во время цветения (<http://photosflowery.ru/iva-tryohtyichinkovaya-foto.html#2>)

Прицветные чешуи бледные, у женских цветков при созревании коробочек полностью или в значительной мере опадающие. Тычинок три, опорожнившиеся пыльники искривленные (это вызывается тем, что оба пыльцевых мешка обращены не в сторону, а вперед). Коробочки на длинных (1–2 мм) ножках, почти веретеновидные, мелкие (зрелые длиной 3–4 мм), с очень коротким столбиком и отогнутыми очень короткими двуллопастными рыльцами. Мужские сережки опадают вскоре после цветения; женские – после созревания семян и вылета их из коробочек [5, 6].

В природе встречаются 2 формы растения: одноцветная (*f. concolor*) и двухцветная (*f. discolor*). В связи с этим нижняя сторона листа у *S. triandra* может быть либо зеленой без налета (*f. concolor*), либо беловатой от воскового налета (*f. discolor*). Этот признак постоянен для всех листьев на кусте и к тому же легко заметен. Кроме разной окраски нижней стороны пластинки листа, между двумя формами нет никаких других различий. В отличие от *S. triandra ssp. triandra* подвид *S. triandra ssp. nipponica* имеет порослевые побеги с сизым налетом, а подвид *S. triandra ssp. Bornmuellerii* – побеги и листья густо коротко опушенные [6].

А.А. Афонин отмечает, что разновидности ивы трехтычинковой отличаются по морфологии листовых пластинок. Типичная форма – *S. triandra f. vulgaris* Wimm. – характеризуется ланцетовидными листьями с индексом продолговатости, равным от 3,5 до 4,5. Были описаны также и формы с широкоэллиптическими (*S. triandra f. latifolia* Schatz. (Toeppf.)) и узкими (*S. triandra f. angustifolia* Ser.) листьями. Кроме того, в Брянской области обнаружены устойчивые формы ивы трехтычинковой, различающиеся по морфологии листовых пластинок (длиннолистная – *S. triandra f. longifolia* и коротколистная – *S. triandra f. brevifolia*) [7].

Распространение ивы на территории России, особенности произрастания и культивирования. Ивы произрастают в самых разнообразных условиях. Благодаря способности легко возобновляться и вегетативно, и семенами, ивы часто являются пионерами зарастания нарушенных территорий. Большинство ив – влаголюбивые и светолюбивые деревья, растущие по берегам рек, по болотам и их окраинам, по сырым лесам, заболоченным лугам и т.д.

В естественных условиях ивы расселяются, главным образом, при помощи семян. Семена легко переносятся ветром. Появившийся корешок в первые 3–5 дней растет довольно быстро, особенно у прибрежных видов – ивы остролистной, трехтычинковой, корзиночной, ломкой и белой [5].

В России накоплен богатейший опыт выращивания ив и переработки продукции ивоводства. Е.Т. Валягина-Малютина отмечает, что тщательные исследования по созданию лесных культур и использованию естественных ивняков России приведены в работах многочисленных известных ученых [5]. Так, методологические принципы создания устойчивых высоко-

продуктивных насаждений ив на примере Брянского лесного массива описаны в работе А.А. Афонина [8]. О перспективах селекции ив, изучению их устойчивости и продуктивности посвящено большое количество работ и ученых-ботаников некоторых зарубежных стран [9, 10]. В России в помощь работникам, прежде всего лесоводства, мелиорации, кожевенной, целлюлозной и др. промышленности, созданы атласы и определители, включающие в себя описание всех видов ив, произрастающих на территории России, в том числе и ивы трехтычинковой. Так, О.И. Недосеко описаны виды ив Нижегородской области [11], И.В. Беляевой с соавт. – ивы Урала [12], Ю.П. Хлоновым – ивы Сибири [13], А.А. Афониным – ивы среднего Подесенья [14], ивам Европейской части России посвящена работа Е.Т. Валягиной-Малютиной [5].

По данным А.А. Афонина, ареал произрастания ивы трехтычинковой – преимущественно лесные и лесостепные зоны Европейского и Азиатского континентов. Восточная Европа является географическим центром произрастания ивы трехтычинковой, где она встречается на всей территории. Растение отлично произрастает во всех странах с теплым и жарким климатом [14].

Ареал произрастания ивы трехтычинковой в нашей стране достаточно широкий и занимает почти всю Европейскую часть России, доходя на севере до линии Петрозаводск – Вологда – Киров, и Северный Кавказ, встречается на территории Западной и Средней Сибири (до 65° с.ш.), в том числе в бассейне реки Лены (вблизи г. Иркутска). Это говорит о том, что растительные ресурсы ивы трехтычинковой значительны. Ареал распространения других подвидов: *S. triandra ssp. Bornmuellerii* – Малая Азия; *S. triandra ssp. nipponica* распространена от Прибайкалья и далее к востоку [5, 6, 14].

Характер распространения двух форм несколько различен: в Западной и Средней Европе и на Кавказе в горных районах преобладает *f. concolor*; а на низменности – *f. discolor* [6].

Ива трехтычинковая – типичный пойменно-аллювиальный вид. Заросли ивы трехтычинковой располагаются обычно в поймах рек, где идет накопление аллювия, а также вдоль русел рек, по берегам проток и стариц, на песчаных косах и отмелях. Заросли не имеют сплошного распространения, связаны с рельефом поймы, часто разбросаны в форме куртин, полос и островов, разделенных водой или лугом [15].

По данным ученых Ставропольского ботанического сада, ива трехтычинковая является засухоустойчивым и зимостойким растением. Выносит сульфатное засоление почвы (более 0,16% сульфат-иона от массы абсолютно сухой почвы) при достаточном увлажнении [16].

Также следует отметить возможность культивирования ивы трехтычинковой в различных эдафо-фитотенотических условиях, т.к. она наиболее легко подвергается вегетативному размножению и прекрасно размножается черенками, колыями и хлыстами,

незаменима в защитном лесоразведении, может культивироваться во всех районах, кроме Крайнего Севера [8, 17–20]. Кроме того, из исследованных видов в естественных ивняках выделяют иву трехтычинковую, у которой среднегодовой показатель поглощения углекислого газа составляет 10,3 т/га, выделение кислорода 8,0 т/га и усвоение углерода соответствует 2,9 т/га в год [21].

На примере изучения запасов фитомассы ивы, выращиваемой в Воронежской области, показано, что продуктивность в пересчете на абсолютно сухое сырье ивы трехтычинковой больше на 2,6 т, чем ивы пурпурной. Л.А. Логиновой отмечено, что продуктивность ивы трехтычинковой составляет: сырой лозы 18,4 т/га; абсолютно сухой лозы 7,3 т/га (густота посадки 83,3 тыс. шт./га с размещением 0,8×0,15 м), в то время как у ивы белой 7,3 т/га сырой и 2,9 т/га абсолютно сухой лозы. Таким образом, Л.А. Логинова считает, что одним из видов, который обеспечивает быстрый и высокий прирост фитомассы является ива трехтычинковая (*S. triandra* L.) [20]. В связи с этим именно данный вид ивы был выбран в качестве объекта исследования [22].

Химический состав ивы трехтычинковой и методы анализа биологически активных веществ. В соответствии с литературными данными различные виды семейства Ивовые имеют богатый состав полифенольных соединений (флавоноиды, фенологликозиды (ФГ), фенолкарбоновые кислоты (ФК) и дубильные вещества (ДВ)) [23].

В связи с тем, что объектом нашего исследования является ива трехтычинковая, особое внимание уделено нами поиску литературных сведений по изучению химического состава именно этого вида ивы. Кроме того, мы уделили внимание и некоторым современным методам анализа, с помощью которых изучались биологически активные вещества (БАВ) других видов ив.

В соответствие с данными, представленными в академическом труде «Растительные ресурсы СССР, 1986», до 1985 года в иве трехтычинковой, произрастающей на территории республик бывшего Советского Союза, обнаружены многие классы соединений, которые содержатся в растительных объектах [24].

Флавоноиды. Класс флавоноидов представлен рутином и кверцетином (листья и соцветия) и лютеолином (листья). В коре обнаружены салипурпозид и изосалипурпозид [24].

В.А. Компанцев в 60–80-х годах прошлого столетия занимался изучением химического состава ивы трехтычинковой, произрастающей на Северном Кавказе. Им найдены в соцветиях флавоноиды: рутин и кверцетин (3,7%), в листьях – рутин (5%), в коре – салипурпозид и нарингенин (1,5%) [25, 26]. Количественное определение рутина в листьях ивы трехтычинковой, которое проводилось в 60-е годы XX века хромато-спектрофотометрическим методом, требовало длительной пробоподготовки. Параллельно в этих же условиях проводилось определение оптиче-

ской плотности стандартного образца рутина [25, 27]. В настоящее время описаны доступные и простые методы определения флавоноидов в растительном сырье. Так, в коре ивы трехтычинковой О.О. Хитевой дифференциальным спектрофотометрическим методом, основанным на реакции флавоноидов с алюминием хлоридом, найдено 0,41% флавоноидов [28].

Р.Ю. Фарраховым установлено, что в листьях ивы трехтычинковой, произрастающей в Башкортостане, преобладают флавонолы (производные агликонов кверцетина, изорамнетина и кемпферола) [29]. В.С. Никитиной и О.Э. Оразовым выявлено, что содержание суммы флавоноидов в листьях двух форм ивы трехтычинковой (*f. concolor* и *f. discolor*), произрастающей в районе Предуралья, незначительно отличается и составляет около 1,9–2,1% (время сбора – сентябрь) и 2,1–2,2% (время сбора – август). При этом в листьях мужских и женских растений различия по содержанию флавоноидных соединений достоверно проявляются в период цветения – начало плодоношения, а затем в ходе вегетации они нивелируются [30].

Изучению флавоноидов листьев ивы трехтычинковой и ивы остролистной, произрастающих в Беларуси, посвящена работа В.Л. Шелюто с соавт. [27].

Фенологликозиды. Известно, что салицин и его производные являются хемотаксономическими маркерами видов рода Ива. Они несут ответственность за фармакологическую активность коры ивы [31]. Среди фенологликозидов в иве трехтычинковой найдены: салицин (кора – менее 0,1%, в листьях и соцветиях – следы), салирепозид (кора – менее 0,1%), грандидентатин (кора – менее 0,1%), триандрин (кора – 0,1–1%, следы в листьях), салидрозид (кора – 1–2%, следы в листьях). Обнаружены также фрагилин (кора, листья), вималин (листья), тремулоидин (листья), саликортин (листья). Сумма фенологликозидов составляет в коре – 1,6%, в листьях – 0,2% [24].

Ранее для количественного определения фенологликозидов описан метод ТСХ с последующей экстракцией. В.А. Компанцевым при экстракции больших количеств свежей коры ивы трехтычинковой были выделены индивидуальные ФГ в кристаллическом виде: салицин, салидрозид и триандрин и установлена их масса, сумма ФГ в сырье составила порядка 3% [26]. Для количественного определения ФГ описан также метод ТСХ с последующей денситометрией [32].

В анализе фенольных гликозидов широко использовался также метод газовой хроматографии (ГХ). Однако, для анализа требовалось получение силильных производных, которые для некоторых фенольных соединений оказались даже после дериватизации не достаточно летучи [31]. Описано также использование для определения ФГ метода квадратно-волновой вольтамперометрии. В литературе имеются также данные о количественном определении ФГ в листьях ивы в пересчете на салидрозид по методике ГФ XI на сырье родиолы розовой, где исполь-

зуется метод спектрофотометрии на основе реакции диазотирования [33, 34].

В настоящее время для определения фенологликозидов применяется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [31]. Согласно требованиям Европейской и Британской фармакопей, определение содержания общего салицина в коре ивы проводят методом ВЭЖХ [35, 36]. Согласно Европейской Фармакопеи 5-го издания в качестве сырья (кора или побеги) могут использоваться различные виды ивы, содержащие не менее 1,5% салицина [36].

Методом ВЭЖХ при исследовании фенологликозидов в некоторых видах ив, произрастающих на территории Польши, салицин и саликортин были найдены в четырех видах, но не в иве трехтычинковой, в коре которой был обнаружен триандрин [37].

Метод ВЭЖХ был использован также и для определения салицина в коре 12 видов ив, произрастающих на территории Латвии. Оказалось, что не все виды ивы накапливают одинаковое количество салицина. Найдено, что содержание салицина в коре различных видов ив колебалось от 0,04 до 12,6%. Обнаружено, что некоторые виды ив, в том числе ива трехтычинковая, ива корзиночная, ива шерстистопобеговая и другие, обладали крайне низким содержанием салицина [31].

В соответствии с МУ 08-47/172 «Кора ивы и осины, экстракты из них и БАД на их основе. ВЭЖХ метод определения массовой концентрации салицина» определение салицина в водных извлечениях из коры ивы проводится также методом ВЭЖХ, но без щелочного гидролиза [38]. О.О. Хитевой данным методом определено количественное содержание салицина в коре ивы трехтычинковой, произрастающей на Северном Кавказе, которое составило 0,2%. Кроме того, ею в исследуемом объекте обнаружен триандрин [28].

В 1997 году S.E. Zaugg опубликовал данные по использованию капиллярного электрофореза (КЭ) для анализа салицина в некоторых видах ивы [39]. С.П. Сенченко проведены исследования по изучению электрофоретического поведения ФГ методом КЭ на примере салидрозиды, арбутина и триандрина [40].

Таким образом, представленные работы свидетельствуют о том, что не все виды ивы могут содержать большие количества салицина, среди которых находится и ива трехтычинковая. Наличие салицина, даже в незначительных количествах, очевидно, зависит от места произрастания и времени сбора сырья.

Дубильные вещества. Известно, что вяжущее, кровоостанавливающее и противовоспалительное действие может быть обусловлено наличием в коре и листьях различных видов ивы значительного количества дубильных веществ [5]. Имеются сведения, что весной (в апреле), в период набухания и распускания почек, и осенью (в октябре), в период массового листопада и полного опадания листьев, наблюдается максимальное содержание танинов у отдельных видов ив [31]. Наибольшее содержание танинов наблюдается в коре ивы в возрасте от 3 до 6 (8) лет [5, 41].

Среди дубильных веществ обнаружены в коре ивы трехтычинковой – катехин и лейкоантоцианидины в листьях. Сумма ДВ содержится в коре в пределах 2,4–21%, в ветвях – 0,9–8,7% [26].

И.Ф. Мазан отмечает высокое содержание танинов (до 16,1%) в коре ивы трехтычинковой, произрастающей на прирусловых отмелях и на пойменных почвах Витебской и Гомельской областях Беларуси [42]. В.И. Бормотов и В.Н. Нилов указывают на еще большее содержание ДВ (от 12,6 до 18,73%) также в коре ивы трехтычинковой, произрастающей в Архангельской области [43]. Довольно значительное содержание ДВ в коре ивы трехтычинковой, произрастающей в Новосибирской области и Предуралья, найдено Г.Н. Субоч, О.Э. Оразов и др. [5, 30, 44].

Показано также, что и среди исследованных видов ив Башкортостана наиболее высоким содержанием танинов в коре ветвей в начале и в конце вегетации выделялся ряд видов ив, в том числе и кора ивы трехтычинковой (до 16%) [30]. При определении содержания танинов в образцах коры как ветвей мужских и женских растений, так и в двух формах (*f. concolor* и *f. discolor*), отобранных в течение сезона вегетации, достоверных различий по накоплению ДВ не выявлено [30, 41].

В коре ивы трехтычинковой, произрастающей на Северном Кавказе, обнаружены конденсированные и гидролизующиеся ДВ в сумме до 9,4% (лейкоантоцианидины, эпикатехингаллат, катехин) [28].

Содержание ДВ в растительных объектах определяется, в основном, перманганатометрическим методом. Кроме того, ГФ РФ 13 изд. предлагает проводить определение суммы ДВ спектрофотометрическим методом до и после добавления кожного порошка, который осаждает только дубильные вещества [45–47].

Таким образом, кора ивы трехтычинковой содержит значительные количества ДВ и является не только источником их получения для кожевенной промышленности, но и может служить сырьем для получения лекарственных препаратов. Е.Т. Валягина-Малютина пишет, что в настоящее время совершенствуется технология заготовки и переработки танинсодержащего сырья, а также возможность получения танинов из побегов ивы в более молодом возрасте (от 1 до 7 лет). Кроме того, планируется и введение в культуру высокотанинных видов ив, например, ивы трехтычинковой, ивы корзиночной, ивы шерстистопобеговой и их гибридов [5].

А. Бовкиным и соавт. проведены исследования антиоксидантной активности водных вытяжек, полученных из листьев ивы трехтычинковой, произрастающей в Белоруссии, и установлено, что она обусловлена наличием значительного количества полифенольных соединений [48].

Кроме проведенных исследований по изучению химического состава коры и листьев ивы трехтычинковой в отношении полифенольных соединений, имеются работы по выявлению некоторых биологически

активных веществ другой природы. В частности, это относится к обнаружению фенолкарбоновых кислот в коре ивы трехтычинковой – 0,29% (феруловая, п-кумаровая, коричная) и тритерпеновых сапонинов – 0,14% (урсоловая кислота) [23, 28] и ряду других соединений. Так в листьях найдены антоцианы, проантоцианидины, алкалоиды, сложные эфиры оксикоричных кислот, пипеколиновая кислота, витамин С и сахара. В коре найдены полисахариды (23,8%), лигнин, жирное масло, фенолы, витамины С, антоцианы (3-глюкозид дельфинидина, 3-глюкозид цианидина, 3-глюкозид петунидина) [24].

В побегах *S. viminalis*, *S. triandra*, *S. alba*, *S. fragilis*, *S. purpurea* флоры Украины обнаружено более 20 аминокислот, из которых 9 являются незаменимыми [49, 50]. Установлено также, что в листьях ивы трехтычинковой, произрастающей в Башкортостане, незаменимых аминокислот содержится не более 20 мг/100 г (лейцин, фенилаланин, лизин, аргинин, метионин), что составляет около 30% от общего содержания аминокислот [51].

Таким образом, наиболее полно изучен химический состав только коры ивы трехтычинковой, произрастающей в различных регионах России и Европы. Имеется ряд работ по исследованию БАВ листьев и побегов ивы трехтычинковой, в которых, в основном, изучалось содержание фенольных соединений (флавоноиды, фенологликозиды, дубильные вещества). Однако, практически отсутствуют сведения о содержании других БАВ (полисахариды, фенолокислоты, аминокислоты, оксикоричные кислоты, сапонины, макро- и микроэлементы, пигменты).

Использование ивы трехтычинковой в народной медицине. Использование ивы как лечебного средства известно с древнейших времен, о чем упоминается в Папирусе Эберса, в трудах Гиппократ (460–377 гг до н.э.) и Авл Корнелия Цельса (1 век н.э.) [52–54]. В настоящее время применение ивы в народной медицине описано во многих справочных изданиях [55–57]. Извлечения коры ивы оказывают противовоспалительный, мягкий анальгетический и жаропонижающий эффект. Механизм действия обычно объясняется наличием природных салицилатов, которые влияют на разные звенья регуляции гомеостаза [58–60].

Однако, почти во всех справочных изданиях описано применение коры ивы белой и только в одном сообщении собраны сведения об использовании в народной медицине ивы трехтычинковой [61]. В работе указано, что наличие дубильных веществ делает возможным применение отваров ивы трехтычинковой (белолоза) в качестве средства для борьбы с диареей неинфекционного характера, для лечения больных с ревматическим поражением суставов, а также при подагре. Отвары могут применяться также и для лечения некоторых заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки, например, гастрите с повышенной кислотностью, а также наружно при повышенной потливости. Противомикробная и антивирусная ак-

тивность отваров коры настолько высока, что многие целители раньше использовали средства из белолоза для лечения таких серьезных заболеваний, как малярия и туберкулез [61].

Фармакологические исследования. В последние годы учеными проведен ряд фармакологических исследований, позволяющих обосновывать эффективность экстракта коры ивы не только превращением салицина в ацетилсалициловую кислоту. Существенное влияние на фармакологический эффект оказывают и другие биологически активные вещества коры ивы – полифенольные соединения, такие как флавоноиды, дубильные вещества и др. [62, 63]. В работе О.Д. Барнаулова отмечено, что флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты и дубильные вещества имеют сходство фармакологического действия с адреналином и норадреналином, т.е. способны оказывать не прямое адреномиметическое действие [64]. Обнаруженное иммуномодулирующее действие извлечений коры ивы корзиночной обусловлено наличием фенолпропаноида триандрина [65, 66]. Кроме того, обнаружена выраженная противовоспалительная активность коры и антистрессорная активность настоя листьев ивы корзиночной [67]. В опытах на животных показана целесообразность включения экстракта ивы белой в гидрогель противоартрозного действия [68].

Как следует из приведенных выше работ, использование ивы обусловлено не только наличием в ней фенологликозидов, а целым комплексом БАВ, и частности наличием полифенольных соединений. Проведены успешные клинические испытания экстракта коры ивы белой для лечения остеоартроза и хронических ревматических заболеваний в сравнении с современными нестероидными противовоспалительными средствами [69–73].

Таким образом, одним из перспективных видов лекарственного растительного сырья (ЛРС) для внедрения в клиническую практику при заболеваниях суставов, является кора различных видов ивы [55, 74, 75].

В последние годы изучалась фармакологическая активность измельченных в порошок побегов некоторых видов ив, произрастающих на Северном Кавказе. Так, при изучении противовоспалительной активности порошка измельченных однолетних побегов ивы белой, ивы пурпурной, ивы трехтычинковой, ивы вавилонской и ее гибрида с ивой белой оказалось, что она сопоставима с кислотой ацетилсалициловой (АСК) или диклофенаком натрия [76–79]. Ульцерогенная активность изучаемых порошков была намного ниже АСК и диклофенака натрия. Выявлено, что порошок побегов по эффективности не уступает порошку коры исследуемых видов, что дает возможность применять побеги различных видов ив в качестве лекарственного растительного сырья. Об использовании побегов вместо коры ивы пишут и Н.В. Бородин с соавт., обнаружив богатый полифенольный комплекс в однолетних побегах некоторых видов ив, произрастающих в Украине [80].

Нами проведено исследование номенклатуры лекарственных средств (ЛС) и биологически активных добавок к пище, содержащих в своем составе кору ивы или ее экстракт [81].

В настоящее время, в основном, при изготовлении ЛС и БАД используется кора ивы белой. Кроме того, разрешены к применению, согласно Европейской Фармакопее, ива волчниковая (*S. daphnoides* Vill.), ива пурпурная (*S. purpurea* L.), ива ломкая (*S. fragilis* L.) и другие виды. Следует отметить, что в качестве сырья рекомендуется использовать не только кору молодых ветвей, но и однолетние ветви диаметром не более 10 мм [36]. В Российской Федерации разрешено к применению в медицинской практике только одно ЛС, содержащее в своем составе кору ивы (страна производитель Пакистан) и более 90 наименований биологически активных добавок к пище, производимых как в России, так и за рубежом [81]. Эти данные позволяют считать, что включение ивы в Государственную Фармакопею особенно актуально в связи с наличием больших сырьевых запасов ивы и возможностью культивирования в различных эдафо-фитоценологических условиях [5].

В настоящее время наблюдается тенденция роста использования препаратов, содержащих измельченное в порошок нативное растительное сырье. Прием нативного сырья внутрь практикуется в Тибетской и Китайской медицине. Преимуществом этого способа применения является отсутствие необходимости заваривания. При этом не происходит разрушение полезных веществ, вследствие нагревания и гидролиза. Также комплекс природных соединений имеет незначительные побочные эффекты по сравнению с побочным действием синтетических ЛС. Производство ЛС с нативным измельченным растительным сырьем экономичнее производства экстракционных лекарственных форм [82]. Анализ номенклатуры БАД, содержащих измельченное в порошок лекарственное растительное сырье, в том числе и содержащих иву, показал, что оно изготавливается в виде таблеток и саше, однако лидирующей формой выпуска являются капсулы, предназначенные для перорального применения [81].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Анализ литературных данных показал, что в настоящее время ива находит широкое применение в составе лекарственных средств и различных биологически активных добавок к пище как за рубежом, так и в России. В медицинской практике, в основном, используется ива белая (*Salix alba* L.).

INTRODUCTION. One of the most promising plants for expanding the range of medicines having astringent and anti-inflammatory effects are various willow species, which have been used in folk medicine for a long time and now are widely applied in the composition of various biologically active additives to food both abroad and in Russia [1].

In 2009, a list of plants of primary importance for inclusion into the State Pharmacopoeia of the Russian Federation was identified. Willow was among them [2].

Ива, как лекарственное растительное сырье включена в государственные фармакопеи таких стран, как США, Германия и др. В виду того, что на территории России произрастает около 80 видов ивы, становится очевидным необходимость изучения этих видов с целью расширения номенклатуры ЛРС и включения ивы в Государственную фармакопею Российской Федерации. Особое внимание следует обратить на те виды ивы, которые широко распространены, а также наиболее легко подвергаются вегетативному размножению. Одним из видов, который обеспечивает быстрый и высокий прирост фитомассы является ива трехтычинковая (*S. triandra* L.). В России ива трехтычинковая встречается почти на всей Европейской части России, на Северном Кавказе, на территории Западной и Средней Сибири. Отмечена возможность культивирования ивы трехтычинковой, так как она незаменима в защитном лесоразведении. Все это свидетельствует о том, что в России имеется достаточная сырьевая база для данного перспективного ЛРС.

Показано, что ива трехтычинковая, как и другие виды ив, содержит богатый комплекс полифенольных соединений, что обуславливает ее противовоспалительный эффект. Высокое содержание рутина в листьях ивы трехтычинковой позволяет рекомендовать ее, как резервный промышленный источник получения широко востребованного лекарственного препарата. Наиболее полно изучен полифенольный комплекс, в частности ДВ, ивы трехтычинковой, произрастающей на территории Архангельской, Воронежской, Новосибирской областей и Предуралья. На Северном Кавказе изучены БАВ только коры ивы трехтычинковой. Эти данные свидетельствуют о том, что необходимо всестороннее изучение БАВ ивы трехтычинковой, произрастающей на других территориях России.

Приведенные в литературном обзоре сведения по использованию ивы в медицинской практике относятся, в основном, к применению в качестве ЛРС коры различных видов ивы. В то же время имеется ряд работ, в которых подтверждена перспективность замены растительного сырья «кора» на более доступное сырье «однолетние побеги». Целесообразность применения вегетативных частей растения в качестве лекарственного растительного сырья, в том числе и ивы трехтычинковой, позволит снизить наносимый ущерб растению при заготовке по сравнению со сбором коры.

Currently, white willow (*Salix alba* L.) is mainly used in medical practice [3]. Numerous species of willow, which grow and are widely cultivated in the Russian Federation, have not yet been widely used in medicine. In total, about 80 species of willow grow in Russia, and they are found in various climatic zones, in particular, in the North Caucasus they are about 20. A comprehensive study of willow is done by a special science – salicology [4].

THE AIM OF THE STUDY is to summarize the literary data about the expansion habitat, the content of

biologically active substances and the possibility of harvesting raw materials of willow triandra (*Salix triandra* L.) and its use in medicine and pharmacy.

MATERIALS AND METHODS. The object of the study is willow triandra (*S. triandra* L.) widespread in the Russian Federation and least studied in the North Caucasus. The study was conducted using search and information and library databases (eLibrary, PubMed, CyberLeninka, ResearchGate).

RESULTS AND DISCUSSION. Botanical characteristics of willow triandra (*Salix triandra* L.). Willow triandra (*Salix triandra* L.) is a widespread perennial dioecious plant belonging to the Salicaceae family (Willow), Amygdalinae section.

In literature, you can find the following synonyms for the species name: willow triandra, almond-leaved willow, basket willow, European willow. There are 3 subspecies of *Salix triandra* L.: *S. triandra* ssp. *Bornmuellerii*, *S. triandra* ssp. *nipponica*, *S. triandra* ssp. *triandra* [5, 6].

Willow triandra (*Salix triandra* L.) is a high fast-growing shrub or a small tree up to 5 – 6 m high. It is distinct in a spreading dense crown, long yellowish-green branches and almond-shaped leaves. The bark of the old branches, beginning with a diameter of 4-6 cm, exfoliates irregularly in the form of plates (“patches”), exposing rust-brown bark, without forming coarse longitudinal cracks (Fig. 1) and branches easily broken off

in joints, are also a characteristic feature of willow triandra. Flower-bearing buds are similar in appearance to vegetative ones: oblate, dull. Petioles in the upper part are with distinct glands. The leaves are lanceolate, flat. Earrings are late, with long, leafy legs, narrow-cylindrical, mostly curved or slightly drooping (Fig. 2). Bracts are pale, in female flowers completely or considerably falling off during maturation of the capsules. There are three stamens, the emptied anthers are twisted (this is caused by the fact that both pollen sacs are turned not to the side but forward). Capsules are on long (1-2 mm) legs, almost fusiform, small (mature ones are 3-4 mm long), with very short stalk and bent very short bilobate stigmas. Male earrings fall off shortly after flowering; female ones – after ripening of the seeds and their release from the boxes [5, 6].

In nature, there are 2 forms of the plant: one-color (*f. concolor*) and two-color (*f. discolor*). In this regard, the lower side of the leaf in *S. triandra* can be either green without plaque (*f. concolor*) or whitish, covered with waxy bloom (*f. discolor*). This feature is constant for all the leaves on the bush and is also easily visible. In addition to different coloring of the lower side of the leaf plate, there are no other differences between the two forms. Unlike *S. triandra* ssp. *triandra*, the subspecies *S. triandra* ssp. *nipponica* has coppice branches with a bluish bloom, and the subspecies *S. triandra* ssp. *Bornmuellerii* has branches and leaves densely pubescent [6].



Figure 1 – Willow triandra (characteristic bark, the author's photo)



Figure 2 – Annual branches of willow triandra flowering
(<http://photosflowery.ru/iva-tryohtyichinkovaya-foto.html#2>)

A.A. Afonin notes that the species of willow triandra differ in the morphology of the leaf blades. The typical form, *S. triandra f. vulgaris* Wimm., is characterized by lanceolate leaves with an oblong index ranging from 3.5 to 4.5. The forms with wide elliptic (*S. triandra f. latifolia* Schatz. (Toepff.)) and narrow (*S. triandra f. angustifolia* Ser.) leaves were also described. In addition, in Bryansk region, stable forms of willow triandra, differing in the morphology of leaf blades (long-leaved *S. triandra f. longifolia* and short-leaved *S. triandra f. brevifolia*) were found [7].

In addition, in Bryansk region, stable forms of willow triandra, differing in the morphology of leaf blades (long-leaved *S. triandra f. longifolia* and short-leaved *S. triandra f. brevifolia*) have been found [7].

Expansion of willow on the territory of Russia, characteristics of growth and cultivation. The plants grow in a variety of conditions. Due to the ability to easily renew both vegetatively and with seeds, willows are often pioneers of overgrowing disturbed areas. Most willows are moisture-loving and light-demanding trees growing along river banks, along swamps and their outskirts, over moist forests, meadow bogs, etc.

In natural conditions, the willow settles, mainly, by means of seeds. Seeds are easily carried by the wind. The root let appearing in the first 3–5 days, grows fairly quickly, especially in coastal species – sharp-leaved willow, willow triandra, basket-willow, crack willow and white willow [5].

Russia has accumulated great experience in cultivation of the willow and processing the products of willow cultivation. E.T. Valyagina-Malyutina notes that careful studies on the creation of forest cultures and the

use of natural willow woods in Russia are referred to in the works of numerous well-known scientists [5]. Thus, methodological principles for the creation of sustainable high-productive plantations of willows on the example of the Bryansk forest expanse are described in the work by A.A. Afonina [8]. A large number of works by scientists-botanists of some foreign countries are devoted to the prospects of selection of willows, to the study of their stability and productivity [9, 10]. In Russia, atlases and determinants have been created to help workers, primarily of forestry, melioration, leather, cellulose and other industries, including descriptions of all willow species that grow on the territory of Russia, including willow triandra. So, O.I. Nedoseko described willow species in Nizhny Novgorod region [11], I.V. Belyaeva et al. described Ural's willow [12], Yu.P. Chlonov – willows of Siberia [13]. The willow of the Middle Podesenie is described by A.A. Afonin [14], and the work by E.T. Valyagina-Malyutina is devoted to willows of the European part of Russia [5].

According to A.A. Afonin's data, the natural habitat of willow triandra is predominantly forest and forest-steppe zones of the European and Asian continents. Eastern Europe is the geographical center of the growth of willow triandra, where it occurs throughout the territory. The plant grows well in all countries with a warm and hot climate [14]. The natural habitat of willow triandra is rather wide and occupies almost the whole of its European part, in the North it extends as far as the Petrozavodsk-Vologda-Kirov line, it grows in the North Caucasus and can be found on the territory of Western and Central Siberia (up to 65° north latitude), including the basin of the Lena River (near Irkutsk). This suggests the idea that the plant

resources of willow triandra are significant. The natural habitat of other subspecies is: *S. triandra ssp. Bornmuellerii* grows in the Asia Minor; *S. triandra ssp. nipponica* grows from the Baikal region and further to the East [5, 6, 14].

The nature of the expansion of the two willow forms is somewhat different: in Western and Central Europe and in the Caucasian mountainous *f. concolor* prevails, and in the low lands *f. discolor* is represented [6].

Willow triandra is a typical floodplain-alluvial species. Thickets of willow triandra are usually found in the river floodplains where alluvium is accumulated, along river beds, along the banks of the channels and former river-beds, on sandy spits and shallows. The thickets do not have a continuous distribution, are associated with the relief of the floodplain, often scattered in the form of curtains, stripes and islands separated by water or meadows [15].

According to the data of the scientists of the Stavropol Botanical Garden, willow triandra is a drought-resistant and winter-hardy plant. It tolerates sulfate salinization of the soil (more than 0.16% of the sulphate ion from the mass of absolutely dry soil) with sufficient moisture [16].

The possibility of willow triandra cultivation under various edaphic-phytocenotic conditions should be also noted, since it most easily undergoes vegetative reproduction and reproduces perfectly by cuttings, planting daggers and tree lengths. It is indispensable in protective afforestation, can be cultivated in all regions except the Far North [8, 17–20]. In addition, in natural habitat willow triandra is isolated of the species studied. Its average annual carbon dioxide absorption is 10.3 t / ha, oxygen release is 8.0 t / ha, and carbon uptake is 2.9 t / ha per year [21].

The case of studying the stocks of a willow phytomass grown in Voronezh region shows that willow triandra productivity in terms of absolutely dry raw material is 3–4 tons higher than that of purple willow. L.A. Loginova notifies that the productivity of willow triandra is the following: of raw vines it is 18.4 t / ha; of absolutely dry vines it is 7.3 t / ha (the density of planting is 83,3 thousand pieces / ha with plant spacing of 0,8 × 0,15 m), while in the case of white willow it is 7.3 t / ha wet and 2, 9 t / ha of absolutely dry vines. Thus, L.A. Loginova believes that one of the species that provides a fast and high increment of phytomass is willow triandra (*S. triandra* L.) [20]. In connection with this, it is this willow species that was chosen as the object of research [22].

Chemical composition of willow triandra and methods for the analysis of biologically active substances. According to the reported data, various species of the Salicaceae family (Willow) have complex polyphenolic compounds (flavonoids, phenolic glycosides (PG), phenol carboxylic acids (PCA) and tannins (T)) [23].

Due to the fact that the object of our investigation is willow triandra, special attention is paid to the search of reported data on the study of the chemical composition of this very willow species. In addition, we have paid atten-

tion to some modern methods of analysis with the help of which we have studied biologically active substances (BAS) of other willows species.

In accordance with the data presented in the academic work “Plant Resources of the USSR, 1986”, until 1985 in willow triandra growing on the territory of the republics of the former Soviet Union, many classes of compounds in plant objects had been found out [24].

Flavonoids. The class of flavonoids is represented by rutin and quercetin (in leaves and inflorescences) and luteolin (in leaves). Salipurposide and isosalipurposide were found in the bark [24].

In the 60–80-ies of the last century V.A. Kompantsev was studying the chemical composition of willow triandra, growing in the North Caucasus. Flavonoids were found out in the inflorescences: rutin and quercetin (3.7%), insertions – rutin (5%), in the bark – salipurposide and naringenin (1.5%) [25, 26]. The quantitative determination of rutin in leaves of willow triandra, which was carried out in the 60s of the XX century by a chromatographic-spectrophotometric method, required a long-term preparation. Simultaneously, in the same circumstances, the optical density of the standard rutin was determined [25, 27]. Currently, available and simple methods for the determination of flavonoids in plant raw materials were described. Thus, in the willow triandra bark, 0.41% flavonoids were found out by O.O. Hitevoy. The differential spectrophotometric method, based on the reaction of flavonoids with aluminum chloride, was used [28].

R.Yu. Farrakhov found out that flavonols (derivatives of aglycon equercetin, isoramnnetin and kaempferol) predominate in the willow triandra leaves growing in Bashkortostan [29]. V.S. Nikitina and O.E. Orazov found out that the content of the sum of flavonoids in the leaves of two willow triandra species (*f. concolor* and *f. discolor*) growing in the region of the Cis-Ural region is slightly different and amounts to about 1.9–2.1% (the harvest time in September) and 2.1–2.2% (the harvest time in August) respectively. Hereby, in the leaves of male and female plants, the differences in the content of flavonoid compounds statistically appear during the flowering period – the beginning of fruiting, and then in the course of vegetation they are leveled off [30].

Flavonoids in the leaves of willow triandra and bog willow, growing in Belarus, are studied in the work by V.L. Sheluto et al. [27].

Phenoglycosides. It is known that salicin and its derivatives are chemotaxonomic markers of the species of the willow genus. They are responsible for the pharmacological activity of the willow bark [31]. In willow triandra the following phenoglycosides have been found: salicin (in the bark – less than 0.1%, in the leaves and inflorescences – traces), salireposid (in the bark – less than 0.1%), grendidentatin (in the bark- less than 0.1%), triandrin (in the bark – 0.1–1%, traces in leaves), salidroside (in the bark – 1–2%, traces in the leaves). Fragiline (in the bark and leaves), vimalin (in the leaves), tremuloidin (in the leaves), salicortin (in the leaves) have also

been found. The sum of phenolic glycosides is 1.6% in the bark and 0.2% in the leaves [24].

Previously, for the quantitative determination of phenolic glycosides, the TLC method followed by extraction was described. In the extraction of large quantities of fresh bark of willow triandra, V.A. Kompantsev isolated individual phenolic hydroxyls in crystalline form: salicin, salidroside and triandrin, and their mass were established: the amount of phenolic hydroxyls in the plant raw material was about 3% [26]. For the quantitative determination of phenolic hydroxyls, the TLC method with subsequent densitometry was also described [32].

In the analysis of phenolic glycosides, gas chromatography (GC) was also widely used. However, the analysis required the production of silyl derivatives, which were not sufficiently volatile for some phenolic compounds even after derivatization [31]. The use of the method of square-wave voltammetry for determining phenolic hydroxyls (PH) is also described. In the literature there are also data on the quantitative determination of PH in the willow leaves in terms of salidroside according to the methods of State Pharmacopoeia XI on *rhodiola rosea*, where spectrophotometry is used on the basis of the diazotization reaction [33, 34].

Currently, high-performance liquid chromatography (HPLC) is used to determine phenolic glycosides [31]. According to the requirements of the European and British pharmacopoeias, the determination of the total salicin content in the willow bark is carried out by HPLC [35, 36]. According to the European Pharmacopoeia of the 5th edition, various willow species containing at least 1.5% salicin can be used as a raw material (bark or branches) [36].

Using HPLC in the study of phenolic glycosides in some species of willows growing in Poland, salicin and salicortin were found in four species, but not willow triandra, in which triandrin was found in the bark [37].

The HPLC method was also used to determine salicin in the bark of 12 willow species growing on the territory of Latvia. It turned out that not all willow species accumulate the same quantity of salicin. The content of salicin in the bark of various species ranged from 0.04 to 12.6%. It was found out that some willow species, including willow triandra, basket-willow, woollytwig willow and others, had an extremely low salicin content [31].

In accordance with "Methodological Guidelines", 08-47 / 172, "Willow and aspen bark, extracts from them and dietary supplements on their basis. HPLC method for determining the mass concentration of salicin" the determination of salicin in aqueous extracts from the willow bark is also carried out by HPLC, but without alkaline hydrolysis [38]. The quantitative content of salicin in the bark of willow triandra growing in the North Caucasus, was detected by O.O. Hitevaya on the basis of this method. It was 0.2%. In addition, triandrin was discovered in the investigated object [28].

In 1997 S.E. Zaugg published the data on the use of capillary electrophoresis (CE) for the analysis of salicin

in some willow species [39]. S.P. Senchenko conducted studies on the electrophoretic behavior of phenolic hydroxyls by the CE method using the example of salidroside, arbutin and triandrin [40].

Thus, the reported data show that not all the willow species can contain large amounts of salicin, and willow triandra is among them. The presence of salicin, even in small amounts, obviously depends on the place of growth and the harvesting time of raw materials.

Tannins. It is known that astringent, hemostatic and anti-inflammatory effects can be due to the presence of a significant amount of tannins in the bark and leaves of various willow species [5].

There is evidence that in spring (in April), during swelling of the buds and budbreak, and in autumn (in October), during the period of massive leaf fall and complete fall of leaves, maximum content of tannins is observed in individual species of willows [31]. The highest content of tannins is observed in the willow bark at the age of 3 to 6 (8) years [5, 41].

Among the tannins found in the willow triandra bark there are two other components in the leaves – catechin and leucoanthocyanidins. The amount of tannins is within 2.4–21% in the bark, and 0.9–8.7% in the branches [26].

I. F. Mazan notes the high content of tannins (up to 16.1%) in the willow triandra bark, which grows on scroll meanders and floodplain soils of Vitebsk and Gomel regions in Belarus [42]. V. I. Bormotov and V. N. Nils indicate an even greater content of tannins (from 12.6 to 18.73%) also in the willow triandra bark, growing in Arkhangelsk region [43]. Quite a significant content of tannins in the willow triandra bark, growing in Novosibirsk region and the Urals, was found out by G.N. Suboch, O. E. Orazov et al. [5, 30, 44].

Condylated and hydrolyzed tannins (leucoanthocyanidins, epicatechin gallate, catechin) in the sum up to 9.4% were found the willow triandra bark, growing in the North Caucasus [28].

The content of tannins in plant objects is determined, mainly, by the permanganometric method. In addition, the RF State Pharmacopoeia, XIII ed. proposes to determine the amount of tannins spectrophotometrically before and after the addition of skin powder, which precipitates only tannic substances [45, 46, 47].

Thus, the willow triandra bark contains significant amounts of tannins and is not only a source of their production for the leather industry, but can also serve as a raw material for obtaining medicinal preparations. E.T. Valyagina-Malyutina writes that at present the technology of harvesting and processing of tannin-containing raw materials is being improved, as well as the possibility of obtaining tannins from willow branches at the younger age (from 1 to 7 years). In addition, the introduction of the willow species with high content of tannins, for example, willow triandra, basket-willow, woollytwig willow and their hybrids, is also planned [5].

A. Bovkin et al. has studied the antioxidant activity of the aqueous extracts obtained from the willow triandra

dra leaves growing in Belarus. The author has established that the antioxidant activity is due to the presence of a significant amount of polyphenolic compounds [48].

In addition to the studies on the chemical composition of the willow triandra bark and leaves concerning polyphenolic compounds, there are works to identify some biologically active substances of a different nature. In particular, this refers to the detection of phenolic carboxylic acids in the willow triandra bark – 0.29% (ferulic, p-coumaric, cinnamonic) and triterpene saponins – 0.14% (ursolic acid) [23, 28] and a number of other compounds. So, anthocyanins, proanthocyanidins, alkaloids, esters of oxycinnamic acids, pipelicolic acid, vitamin C and sugars have been found in the leaves. Polysaccharides (23.8%), lignin, fatty oil, phenols, vitamins C, anthocyanins (3-glucoside of delphinidine, 3-glucoside of cyanidine, 3-glucoside of petunidine) have been found in the bark [24].

More than 20 amino acids, 9 of which are irreplaceable, have been found in the branches of *S. viminalis*, *S. triandra*, *S. alba*, *S. fragilis*, *S. purpurea* of the Ukraine flora [49, 50]. It has also been established that in the leaves of willow triandra growing in Bashkortostan, there is no more than 20 mg / 100 g of irreplaceable amino acids (leucine, phenylalanine, lysine, arginine, methionine), which makes about 30% of the total amino acid content [51].

Thus, the chemical composition of only the bark of willow triandra growing in various regions of Russia and Europe, has been most thoroughly studied. There is a number of works on the study of BAS in the willow triandra leaves and branches, in which, mainly, the content of phenolic compounds (flavonoids, phenolic acids, tannins) was studied. However, there is practically no information on the content of other BAS (polysaccharides, phenolic acids, amino acids, oxycinnamic acids, saponins, macro- and microelements, pigments) there.

Application of willow triandra in folk medicine. The use of willow as a remedy has been known since ancient times, as mentioned in the Ebers Papyrus, in the writings of Hippocrates (460-377 BC) and Aulus Cornelius Celsus (1st century AD) [52–54]. Currently, the application of willow in folk medicine is described in many reference publications [55–57]. Extracts from the willow bark have anti-inflammatory, mild analgesic and antipyretic effects. The mechanism of action is usually explained by the presence of natural salicylates, which affect different parts of the homeostasis regulation [58–60].

However, almost all reference publications describe the application of the white willow bark and only one reports collected information on the use of willow triandra in folk medicine [61]. The work shows that the presence of tannins makes it possible to use the willow triandra decoctions as a means for controlling non-infectious diarrhea, for treating patients with rheumatic joint damage, and also for arthralgia. Decoctions can be also used to treat some diseases of stomach and duodenum, for example, gastritis with high acidity, and also externally with

increased sweating. The antimicrobial and antiviral activity of the bark decoction is so high that many healers used remedies from white willow for treatment of such serious diseases as malaria and tuberculosis [61].

Pharmacological studies. In recent years, a number of pharmacological studies have been carried out to validate the effectiveness of the willow bark extract not only by converting salicin to acetylsalicylic acid. Other biologically active substances of the willow bark, such as polyphenol compounds (flavonoids, tannins, etc.), also have a significant effect on their pharmacological properties [62, 63]. In the work by O.D. Barnaulova it is notified that flavonoids, phenolcarboxylic acids and tannins have a similar pharmacological effect in comparison with epinephrine and norepinephrine, i.e. they can have an indirect adrenomimetic effect [64]. It has been found out that the immunomodulating effect of the extracts from the basket-willow bark is due to the presence of phenylpropanoid trianthrene [65, 66]. In addition, a pronounced anti-ulcer activity of the bark and an antistress activity of the leaf infusion of basket-willow have been found [67]. In experiments on animals, the expediency of incorporation of white willow extract into the anti-arthrosis hydrogel has been proved [68].

As follows from the above mentioned works, the use of willow is due not only to the presence of phenolic glycosides, but to the whole complex of BAS, and in particular to the presence of polyphenolic compounds. Successful clinical investigation of the willow bark extract for the treatment of osteoarthritis and chronic rheumatic diseases in comparison with modern non-steroidal anti-inflammatory drugs has been carried out [69, 70–73].

Thus, one of the promising types of medicinal plant materials (MPM) for introduction into clinical practice for treatment of joint diseases is the bark of various willow species [55, 74, 75].

In recent years, the pharmacological activity of pulverized branches of some willow species growing in the North Caucasus has been studied.

Thus, while studying the anti-inflammatory activity of the powder of crushed annual branches of white willow, purple willow, willow triandra, drooping willow and its hybrid with white willow, it was found out that it was comparable with acetylsalicylic acid (ASA) or diclofenac sodium [76–79].

The ulcerogenic activity of the powders studied was much lower than those of ASA and diclofenac sodium.

It was found out that the branch powder is not inferior in effectiveness to the bark powder of the species under study, which makes it possible to use branches of various willow species as a medicinal plant material. The use of branches instead of the willow bark is discussed by N.V. Borodin et al., discovering a rich polyphenolic complex in annual branches of some willow species growing in Ukraine [80].

The study of the drugs nomenclature of medicinal substances and biologically active food additives containing the willow bark or its extract has been carried out by us [81].

Currently, for manufacturing drugs and dietary supplements, the white willow bark is mainly used. In addition, according to the European Pharmacopoeia, Caspian willow (*S. daphnoides* Vill.), purple willow (*S. purpurea* L.), crack willow (*S. fragilis* L.) and other willow species are allowed to be used. It should be noted that as a raw material, it is recommended to use not only the bark of young branches, but also annual branches with a diameter of no more than 10 mm [36]. In the Russian Federation, in medical practice only one medicinal product is allowed to be used. In its composition it contains the willow bark (the manufacturing country is Pakistan), and more than 90 names of biologically active additives to food produced both in Russia and abroad [81]. These data make it possible to consider that the inclusion of willow in the State Pharmacopoeia is especially important in connection with the availability of large willow raw stocks and the possibility of its cultivation under various edapho- phytocenotic conditions [5].

Currently, there is a growing trend in the use of drugs containing a native powdered plant material. The intake of native raw materials is practiced internally in Tibetan and Chinese medicine. The advantage of this method of use is the absence of brewing.

Hereby, no destruction of useful substances due to heating and hydrolysis takes place. The complex of natural compounds has alsominor side effects in comparison with the side effects of synthetic medicinal substances. The production of medicinal substances with native ground plant raw materials is more economical than the production of extraction dosage forms [82]. The analysis of the nomenclature of dietary supplements containing powdered herbal medicinal raw materials, hereby including those containing willow, showed that it is manufactured in the forms of tablets and sachets, but the leading form is capsules intended for oral administration [81].

CONCLUSION. The analysis of reported data showed, that at present, willow is widely used in the composition of medicines and various biologically active food additives both abroad and in Russia. In medical practice white willow (*Salix alba* L.) is mainly used.

As medicinal plant raw materials, willow is included into the State Pharmacopoeias of such countries as the USA, Germany, etc. Due to the fact that about 80 willow species grow on the territory of Russia, it becomes obvious that these species need to be studied in order to expand the nomenclature of medicinal plant substances and be included in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Special attention should be paid to the willow species that are widely spread and most easily subjected to vegetative propagation. One of the species that provides rapid and high growth of phytomass is willow triandra (*S. triandra* L.). In Russia, willow triandra occurs almost throughout the European part of Russia, in the North Caucasus, on the territory of Western and Central Siberia. The possibility of willow triandra cultivation is noted, since it is indispensable of protective afforestation. All these facts testify that in Russia there is a sufficient raw material base for this promising medicinal plant substance.

Like other willow species, willow triandra contains a rich complex of polyphenolic compounds causing its anti-inflammatory effect. High maintenance of rutin in willow triandra leaves allows to recommend it as a reserve industrial source of reception of widely demanded medical preparation.

The polyphenolic complex of willow triandra growing on the territory of Arkhangelsk, Voronezh, Novosibirsk and the Cis-Ural regions, is studied most thoroughly, in particular tannin. In the North Caucasus, only the willow triandra bark is studied. These data testify the necessity for a comprehensive study of the biologically active substances from willow triandra that grows in other parts of Russia. The data on the use of willow in medical practice given in the literature review, refer mainly to the use of bark of different willow species as a medicinal plant substance. At the same time, there is a number of works in which the prospects of replacing “bark” plant raw materials by more accessible raw materials, “annual branches”, has been confirmed. The expedience of using vegetative parts of the plant as a medicinal plant raw material, including willow triandra, will reduce the damage to the plant during harvesting as compared to harvesting the bark.

Библиографический список

1. Реестр продукции, прошедшей государственную регистрацию. М., 2014. URL: <http://fp.crc.ru/gosregfr/>. (дата обращения: 10.12.2015)
2. Смирнова Ю.А., Киселева Т.Л. Новые виды лекарственных растений для отечественной фармакопеи // Фармация. 2009. №7. С. 6–7.
3. Регистр БАД – Единый Электронный Справочник Биологически Активных Добавок, 2017. URL: <http://www.registrbad.ru/bad/bad.php> (дата обращения: 10.12.2015)
4. Афонин А.А. Изменчивость массовых видов ив Юго-Запада России: Теоретическая и прикладная саликология. Saarbrücken, LAMBERT Academic Publishing, 2011. 182 с.
5. Валягина-Малюткина Е.Т. Ивы европейской части России: иллюстр.пособие для работников лесного хозяйства. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2004. 217 с.
6. Скворцов А.К. Ивы СССР. Систематический и географический обзор. М: Наука, 1968. 259 с.
7. Афонин А.А., Фучило Я.Д. Формовое разнообразие ивы трехтычинковой (*Salix triandra* L.) на территории Восточной Европы // Вестник Брянского Государственного университета. 2012. №4 (1). Точные и естественные науки. С. 32–36.
8. Афонин А.А. Методологические принципы создания устойчивых высокопродуктивных насаждений ив (на примере автохтонных видов *Salix* Брянского лесного массива). Брянск: БГУ. 2005. 146 с.

9. Newsholme C. Willows the genus *Salix*. Portland: Timber, 1992. 224 p.
10. Pohjonen V. Selection of species and clones for biomass willow forestry in Finland = Biomassan viljelyyn sopovien pajulajien ja-kloonien valinta Suomessa. Helsinki : [s. n.]. 1991. 58 p.
11. Недосеко О.И. Ивы Нижегородской области. Арзамас. гос. пед. ин-т им. А. П. Гайдара. Арзамас: АГПИ, 2010. 171 с.
12. Беляева И.В., Епанчинцева О.В., Шаталина А.А., Семкина Л.А. Ивы Урала = Willows of Ural : атлас-определитель / ред. С. А. Мамаев. Рос. акад. наук, Урал. отделение, Ботан. сад. Екатеринбург: УрО РАН, 2006. 172 с.
13. Хлонов Ю.П. Атлас деревьев и кустарников Сибири (ивы, тополя, чозения) = Atlas of trees and shrubs of Siberia (*salix*, *populus*, *chosenia*) / ред. Коропачинский И.Ю. Новосибирск, 2000. 92 с.
14. Афонин А.А. Ивы среднего Подесенья // Брянский государственный университет. URL: <http://afonin-59-salix.narod.ru/salix06040201.htm>. (дата обращения: 15.12.2015)
15. Растительный мир Северной Осетии / ред. А.Л. Комжа, К.П. Попов. Владикавказ, 2000. 544 с.
16. Кольцова М.А., Кожевников В.И., Кольцов А.Ф. Методические рекомендации по ассортименту, технологии возделывания и воспроизводству видов и культиваторов рода ива // Ставрополь: ГНУ «Ставропольский ботанический сад им. В.В. Скрипничинского», 2009. 84 с.
17. Максименко А.П. Лесорастительные условия и состояние лесных экосистем Таманского полуострова: Монография. Краснодар: Кубан. учебник, 2003. 295 с.
18. Недосеко О.И. Бореальные виды ив подродов *Salix* и *Vetrix*: онтоморфогенез и жизненные формы. М-во образования и науки Рос. Федерации, Нижегор. гос. ун-т им. Н.И. Лобачевского-нац. исслед. ун-т. Нижний Новгород: Издательство Нижегородского госуниверситета, 2014. 426 с.
19. Фаррахов Р.Ю., Оразов О.Э., Зарипов А.А., Кунакова Р.В., Кулагин А.Ю. Комплексное использование водоохранно-защитных лесных насаждений в эрозионно-опасных регионах // Биологическая рекультивация нарушенных земель. Материалы Международного совещания, Екатеринбург, 3–7 июня 2002 г. Екатеринбург: УрО РАН, 2003. С. 519–524.
20. Горобец А.И., Логинова Л.А. Продуктивность и технические характеристики лозы на ивовой плантации Семилукского лесопитомника // Природопользование: ресурсы, техническое обеспечение: Межвуз. сб. науч. трудов. Вып. 2 / ред. Ф.В. Пошарникова. Воронеж: ВГЛТА, 2004. С. 18–22.
21. Логинова Л.А. Углеродопонирующая и кислородопродуцирующая функция ивовых насаждений // Проблемы ускорения воспроизводства и комплексного использования лесных ресурсов: матер. междунар. научно-практической конф. 2006 г. / Под ред. авторов; Фед. агентство по науке и инновациям, адм. Воронеж. обл., ВГЛТА. Воронеж, 2006. С. 105–108.
22. Попова О.И., Компанцева Е.Г. Геоботанические аспекты изучения некоторых видов *Salix* L. с целью обоснования их медицинского использования // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2014. № 4. С. 50–51.
23. Фролова О.О., Компанцева Е.В., Дементьева Т.М. Биологически активные вещества растений рода ива (*Salix* L.) // Фармация и фармакология. 2016. №2. С. 41–49.
24. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; семейства *Reoniaceae* – *Thymelaeaceae*. / ред. П.Д. Соколов. Л.: Наука. 1986. 336 с.
25. Компанцев В.А., Шинкаренко А.Л. Получение фармпрепарата рутина из листьев ивы трехтычинковой // Исследования по изысканию лекарственных средств природного происхождения: тез. докл. Всесоюз. науч. конф. Ленинград, 1981. С. 48.
26. Компанцев В.А. Фенольные соединения ивы трехтычинковой // тез докл.: науч. конф. молодых ученых Пятигорского фармацевтического института. Пятигорск, 1973. С. 28–29.
27. Шелюто В.Л., Шретер А.И., Устюжанин А.А., Кузьмичева П.А. Флавоноиды эфирных фракций листьев видов *Salix* L. // Растит. ресурсы. 1987. Т. 23. Вып. 4. С. 590–597.
28. Компанцева Е.В., Хитева О.О. Сравнительное фитохимическое изучение коры трех видов ивы, произрастающих на Северном Кавказе // Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы. Материалы VIII международной конференции 2–3 апреля 2010 г. Минск. Издательский центр БГУ. 2010. С. 144–146.
29. Фаррахов Р.Ю., Оразов О.Э., Кулагин А.Ю. Рациональное использование прирусловых ивовых насаждений в эрозионно-опасных регионах: содержание танидов // Состояние биосферы и здоровье людей. Сборник материалов 2 Международной научно-практической конференция. Пенза: МНИЦ ПГСХА, 2002. С. 184–185.
30. Никитина В.С., Оразов О.Э. Динамика содержания суммы флавоноидов в листьях и танидов в коре ветвей разнополых особей *Salix triandra* L. и *S.acutifolia* Willd. // Растит. ресурсы. 2001. Вып. 3. С. 65–72.
31. Kenstavičienė P., Nenortienė P., Kiliuvienė G., Ževžikovas A., Lukošius A., Kazlauskienė D. Application of high-performance liquid chromatography for research of salicin in bark of different varieties of *Salix* // Medicina (Kaunas). 2009. No. 45 (8). С. 644–651.

32. Vanhaelen M., Vanhaelen F. Quantitative determination of biologically active constituents in medicinal plant crude extracts by thin-layer chromatography-densitometry // J. Chromatogr. 1983. No. 281. P. 263–271.
33. Кулак В.А., Кузьмичева Н.А. Содержание флавоноидов и фенологликозидов в листьях белорусских видов ив / Официальный сайт Государственного предприятия «Научно-технологический парк БНТУ «Политехник». Минск, 2010. URL: http://www.metolit.by/imcysb/txt320.php#txt32_46.html (дата обращения: 07.04.2015)
34. Корневища и корни родиолы розовой: [фармакоп. ст.] // Государственная фармакопея СССР: в 2 вып. Вып. 2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. 11-е изд. М., 1990. С. 364–366.
35. Willow bark [monograph]: British Pharmacopoeia. London, 2009. Vol. III. Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations. 3 p.
36. Willow bark [monograph]: European Pharmacopoeia. 5 ed. Strasbourg, 2005. P. 2702.
37. Pobłocka-Olech L., van Nedekassel A.-M., VanderHeyden Y., Krauze-Baranowska M., Glód D., Baczek T. Chromatographic analysis of salicylic compounds in different species of the genus *Salix* // J. Sep. Sci. 2007. No. 30. P. 2958–2966.
38. МУ 08-47/172 Кора ивы и осины, экстракты из них и БАД на их основе. ВЭЖХ метод определения массовой концентрации салицина. 2005. Томск: Томск. политех. ун-т, 2005. 17 с.
39. Zaugg S.E., Cefalo D., Walke E.B. Capillary electrophoretic lysis of salicin in *Salix* spp. // J. of Chromatography A. 1997. No. 1-2. P. 487–490.
40. Сенченко С.П. Прогноз электрофоретического поведения фенольных соединений в условиях капиллярного зонного электрофореза // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015. № 7. С. 3–9.
41. Оразов О.Э., Никитина В.С., Кулагина А.Ю., Баталов А.А. Динамика содержания танидов в коре некоторых видов рода *Salix* L. // Растит. ресурсы. 1993. №1. С. 69–71.
42. Мазан И.Ф. Содержание танинов в коре видов *Salix* L. в зависимости от условий произрастания // Растит. ресурсы. 1986. Т. 22. Вып.1. С. 72–75.
43. Бормотов В.И., Нилов В.И. Таннидность видов ив *Salix* L. в Архангельской области // Растит. ресурсы. 1987. Т. 23. Вып. 2. С. 234–238.
44. Субоч Г.Н. Содержание дубильных веществ у видов *Salix* L. (Новосибирская область) // Растит. ресурсы. 1988. Т. 24. Вып. 4. С. 610–614.
45. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье: [фармакоп. ст.] // Государственная фармакопея СССР: в 2 вып.: вып. 1. Общие методы анализа. 11-е изд. М., 1987. С. 286.
46. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах: (ОФС.1.5.3.0008.15) Государственная фармакопея Российской Федерации. 13 изд.: в 3 т. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2015. URL: <http://www.femb.ru/feml>. (дата обращения: 11.12.2014)
47. Самылина И.А., Антонова Н.П., Рудакова И.П. Исследования по разработке фармакопейного метода определения содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье // Фармация. 2009. №6. С. 3–6.
48. Бовкин А., Игнатович Е., Гурина Н. Антиоксидантная активность отваров листьев трех разновидностей ивы из Беларуси // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: материалы 6 междунар. съезда «Фитофарм», 4–6 июля 2002 г. СПб, 2002. С. 139–142.
49. Бородин Н.В., Ковалев В.Н., Стремоухов А.А. Анализ аминокислотного состава побегов *Salix alba* L. // Inter-Medical. 2014. №4. С. 68–71.
50. Бородин Н.В., Ковалев В.Н., Кошевой О.Н. Сравнительный анализ аминокислотного состава побегов *Salix purpurea* L., *Salix viminalis* L., *Salix fragilis* L. // Вестн. Южно-Казахст. гос. фармацев. акад. 2014. Т. 4. №3(68). С. 53–55.
51. Фаррахов Р.Ю., Оразов О.Э., Хисамов Р.Р., Кулагин А.Ю. Рациональное использование приусадебных ивовых насаждений в эрозионно-опасных регионах: содержание аминокислот // Биосфера и человек – проблемы взаимодействия. Сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции. Пенза: МНИЦ ПГСХА, 2002. С. 88–90.
52. Aspirin from Willow Bark // Forest. Chron. 2000. Vol. 76. No. 4. P. 553.
53. Complementary and alternative therapies resource. Somerville (USA), 2011. URL: www.naturalstandard.com. (дата обращения: 07.02.2015)
54. Levesque H.O. Lafont Aspirin throughout the ages: a historical review // Rev Med Interne. 2000. Vol. 21. No. 1. P. 8–17.
55. Алефиров А.Н. Фитотерапия заболеваний суставов. СПб., 2011. URL: <http://www.travolekar.ru/articles/pract/art.htm>. (дата обращения: 07.02.2015)
56. Палов М. Энциклопедия лекарственных растений: пер. с нем. М.: Мир, 1998. С. 142–143.
57. Маркова А. Травник: золотые рецепты народной медицины. М.: Эксмо, 2007. С. 671–673.
58. Насонов Е.Л. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов и ингибиторов циклооксигеназы-2 в начале XXI века // Рос. мед. журн. 2003. Т. 11. №7. С. 375–379.

59. Швец П., Халабала М. Кислота ацетилсалициловая — лекарство, проверенное поколениями (к столетию ацетилсалициловой кислоты) // Словакофарма ревью. Киев, 2002. С.66–68.
60. Vane J.R. The fight against rheumatism: from willow bark to COX-1 sparing drugs // J. Physiol. Pharmacol. 2000. Vol. 4. Pt. 1. P. 573–586.
61. Лекарственные растения в народной медицине – лекарственные травы, народные рецепты, сборы трав. 2017. URL: <http://vapakol.ru/> – (дата обращения: 14.10.2017)
62. Kelber O. Inhibitorische Effekte von Weidenrinden extrakten auf proinflammatorische Prozesse in LP-aktivierten Humanmonozyten // Z. Rheumatol. 2006. Vol. 1. P. 31.
63. Keusgen M., Allgäuer-Lechner C. Weidenrindenextrakt. Vielstoffgemisch gegen Entzündungen und Schmerzen: Pharmazeutische Zeitung. Eschborn (Germany), 2012. URL: <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=2666&type=4>. (дата обращения: 14.10.2017)
64. Барнаулов О.Д. Введение в фитотерапию. СПб: Лань, 1999. 160 с.
65. Куркин В.А., Дубищев А.В., Ежков В.Н., Титова И.Н., Авдеева Е.В., Браславский Е.В., Бонцевич В.Б. Сравнительная актопротекторная активность фенилпропаноидов и растительных препаратов // Фармация. 2005. № 5. С. 32–34.
66. Куркин В.А. Фенилпропаноиды как потенциальные иммуномодуляторы // Человек и лекарство: тез. докл. 9 Рос. нац. конгр. 8–12 апр. 2002 г. М., 2002. С. 646.
67. Аксиненко С.Г., Кузьмин В.Ю., Горбачева А.В., Зеленская К.Л., Нестерова Ю.В., Пашинский В.Г. Противоязвенные свойства вытяжек ивы корзиночной // Сиб. ж. гастроэнтерол. и гепатол. 2001. №12. С. 65.
68. Компанцев Д.В. Экспериментальное изучение целесообразности включения экстракта ивы белой в гидрогель противоартрозного действия // Бюл. сиб. мед. 2007. Т. 6. №2. С. 26–30.
69. Вернер Г., Шульц К. Экстракт коры ивы (Ассаликс) в лечении пациентов с хронической болью в спине и суставах. Результаты крупномасштабного постмаркетингового исследования // Укр. ревматол. ж. 2006. № 1. С. 62–64.
70. Зеннер-Вебер М.А. Успешное лечение пациентов с хроническими ревматическими заболеваниями с помощью экстракта коры ивы (препарат Ассаликс) // Укр. ревматол. ж. 2006. №4. С. 65–67.
71. Крубасик С., Кюнзел О., Модел А., Конрадт К., Блэк А. Лечение боли в нижней части спины растительными или синтетическими противоревматическими препаратами: рандомизированное контролируемое исследование. Экстракт коры ивы при боли в нижней части спины // Укр. ревматол. ж. 2008. №2. С. 41–47.
72. Marz R.W. Weidenrindenextrakt- Wirkungen und Wirksamkeit. Erkenntnisstand zu Pharmakologie, Toxikologie und Klinik // Wien. med. Wochenschr. 2002. Vol. 152. No. 15–16. P. 354–359.
73. Chrubasik S., Kunzel O., Black A., Conradt C., Kerschbaumer F. Potential economic impact using a proprietary willow bark extract in outpatient treatment of low back pain: an open non-randomized study // Phytomedicine. 2001. Vol. 4. P. 241–251.
74. Компанцева Е.В., Фролова О.О., Дементьева Т.М. Возможность использования ивы вавилонской в фармации // Фармация и фармакология. 2013. №1. С. 4–8.
75. Salicis cortex (Willow bark): ESCOP (European Scientific Cooperative on Phytomedicine). Monographs on the medicinal use of plant drugs. 2. ed. Stuttgart, 2003. P. 445–451.
76. Санникова Е.Г., Сергеева Е.О., Саджая Л.А., Кузнецова Л.С., Компанцева Е.В., Фролова О.О. Фармако-технологические исследования порошка ивы трехтычинковой побегов // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 5; URL: <http://www.science-education.ru/128-22354> (дата обращения: 26.10.2016).
77. Фролова О.О., Шевченко О.А., Компанцева Е.В., Лысенко Т.А. Химическое изучение побегов ивы пурпурной (*Salix purpurea* L.) и определение противовоспалительной активности их водного извлечения // Современные проблемы науки и образования. 2012. №6. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=8066>. (дата обращения: 26.10.2015)
78. Компанцева Е.В., Фролова О.О., Савенко И.А. Изучение противовоспалительной активности побегов ивы белой // Проблемы фармацевтической науки и практики: материалы IV Межрегион. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Владикавказ, 30–31 мая 2014 г.). Владикавказ, 2014. С. 206–209.
79. Дементьева Т.М., Сергеева Е.О., Саджая Л.А., Фролова О.О. Фармакологическое действие коры и побегов ивы вавилонской и ее гибрида с ивой белой // Современные проблемы науки и образования. 2015. №5. URL: <http://www.science-education.ru/128-21893>. (дата обращения: 14.02.2016)
80. Бородина Н.В., Ковалев В.Н. Сравнительный анализ фенольных соединений побегов *Salix caprea* L., *Salix purpurea* L., *Salix viminalis* L. флоры Украины // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. материалов IX Междунар. симпоз. 20–25 апр. 2015 г. М., 2015. С. 27–33.
81. Санникова Е.Г., Фролова О.О., Компанцева Е.В., Попова О.И. Лекарственные средства и БАД, содержащие иву: тенденции и перспективы // Фармация. 2015. №5. С. 51–53.
82. Гранулы и капсулы. Микрокапсулирование. URL: <http://farmf.ru/lekcii/granuly-i-kapsuly-mikrokapsulirovanie/> (дата обращения: 12.11.2015)

References

1. Reestr produkci, proshedshej gosudarstvennyu registraciju [Register of products that have passed state registration]. [Internet]. Moskva;2014. [cited 2015 Dec 10]. Available from: <http://fp.crc.ru/gosregfr/> Russian.
2. Smirnova YuA, Kiseleva TL. Novye vidy lekarstvennyh rastenij dlya otechestvennoj farmakopei [New types of medicinal plants for the domestic pharmacopoeia]. Pharmacy. 2009;7:6-7. Russian.
3. Registr BAD – Edinyj Elektronnyj Spravochnik Biologicheskij Aktivnyh Dobavok [Register of BAD – Unified Electronic Directory of Biologically Active Additives]. 2017. [Internet]. [cited 2015 Dec 10]. Available from: <http://www.registrbad.ru/bad/bad.php> Russian.
4. Afonin AA. Izmenchivost' massovyh vidov iv YUgo-Zapada Rossii: Teoreticheskaya i prikladnaya salikologiya [Variability of Mass Species in the South-West of Russia: Theoretical and Applied Sakicology]. Saarbrücken, LAMBERT Academic Publishing; 2011. 182 p. Russian.
5. Valyagina-Malyutina ET. Ivy evropejskoj chasti Rossii: illyustr.posobie dlya rabotnikov lesnogo hozyajstva [Willows of the European part of Russia: illustrations for forestry workers]. Moskva: Tovarishestvo nauchnih izdanie, KMK; 2004. 217 p. Russian.
6. Skvorcov AK. Ivy SSSR. Sistemicheskij i geograficheskij obzor [Willows of the USSR. Systematic and geographical overview]. Moskva: Nauka; 1968. 259 p. Russian.
7. Afonin AA, Fuchilo YaD. Formovoe raznoobrazie ivy trekhtychinkovoj (Salix triandra L.) na territorii Vostochnoj Evropy [Form variety of willow three-leaved willow (Salix triandra L.) in the territory of Eastern Europe]. Bulletin of Bryansk State University. Exact and natural sciences. 2012;4(1). Russian.
8. Afonin AA. Metodologicheskie principy sozdaniya ustojchivyh vysokoproduktivnyh nasazhdenij iv (na primere avtohtonnyh vidov Salix Bryanskogo lesnogo massiva) [Methodological principles for the creation of sustainable high-yielding stands of willows (on the example of the autochthonous species of the Salix of Bryansk forest)]. Bryansk: BGU; 2005. 146 p. Russian.
9. Newsholme C. Willows the genus Salix. Portland: Timber; 1992. 224 p.
10. Pohjonen V. Selection of species and clones for biomass willow forestry in Finland = Biomassan viljelyyn sopovien pajulajien ja-kloonien valinta Suomessa. Helsinki : [s. n.]. 1991. 58 p.
11. Nedoseko OI. Ivy Nizhegorodskoj oblasti [Willows of Nizhny Novgorod region]. Arzamas. gos. ped. in-t im. A. P. Gajdara. Arzamas: AGPI; 2010. 171 p. Russian.
12. Belyaeva IV, Epanchineva OV, Shatalina AA, Semkina LA. Ivy Urala = Willows of Ural: atlas-opredelitel' [Willow of Ural = Willows of Ural]. Mamaev SA, editor; Ros. akad. nauk, Ural. otделение, Botan. sad. Ekaterinburg: UrO RAN;2006. 172 p. Russian.
13. Hlonov YuP. Atlas derev'ev i kustarnikov Sibiri (ivy, topolya, chozeniya) = Atlas of trees and shrubs of Siberia (salix, populus, chosenia) [Atlas of trees and shrubs of Siberia (willow, poplar, chozenia) = Atlas of trees and shrubs of Siberia (salix, populus, chosenia)]. Koropachinskij IYu, editor. Novosibirsk;2000. 92 p. Russian.
14. Afonin AA. Ivy srednego Podesen'ya [Willow Middle Subfeass]. Bryansk State University. [Internet]. [cited 2015 Dec 15]. Available from: <http://afonin-59-salix.narod.ru/salix06040201.htm> Russian.
15. Rastitel'nyj mir Severnoj Osetii [Flora of North Ossetia]. Komzha AL, Popov KP, editor. Vladikavkaz;2000. 544 p. Russian.
16. Kol'cova MA, Kozhevnikov VI, Kol'cov AF. Metodicheskie rekomendacii po assortimentu, tekhnologii vozde-lyvaniya i vosproizvodstvu vidov i kul'tivatorov roda iva [Methodical recommendations on assortment, technologies of cultivation and reproduction of species and cultivators of the genus Willow]. Stavropol': GNU «Stavropol'skij botanicheskij sad im. V.V. Skripnichinskogo»;2009. 89 p. Russian.
17. Maksimenko AP. Lesorastitel'nye usloviya i sostoyanie lesnyh ekosistem Tamanskogo poluostrova [Forest-growth conditions and condition of forest ecosystems of the Taman Peninsula]. Monografiya. Krasnodar: Kuban. ucheb-nik;2003. 295 p. Russian.
18. Nedoseko OI. Boreal'nye vidy iv podrodov Salix i Vetrix: ontomorfogenez i zhiznennye formy [Boreal species of subgenera Salix and Vetrix: ontomorphogenesis and life forms.]. M-vo obrazovaniya i nauki Ros. Federacii, Nizhegor. gos. un-t im. N.I. Lobachevskogo-nac. issled. un-t. Nizhnij Novgorod: Izdatel'stvo Nizhegorodskogo gosuniversiteta;2014. 426 p. Russian.
19. Farrahov RYu, Orazov OE, Zaripov AA, Kunakova RV, Kulagin AYU. Kompleksnoe ispol'zovanie vodoohran-no-zashchitnyh lesnyh nasazhdenij v erozionno-opasnyh regionah [Integrated use of water-protective forest plan-tations in erosion-hazardous regions]. Biologicheskaya rekul'tivaciya narushennyh zemel'. Materialy Mezhdun-arnodnogo soveshchaniya, Ekaterinburg, 3-7 iyunya 2002 g. Ekaterinburg: UrO RAN;2003. 519-24. Russian.
20. Gorobec AI, Loginova LA. Produktivnost' i tekhnicheskie harakteristiki lozy na ivovoj plantacii Semilukskogo lesopitomnika [Productivity and technical characteristics of the vine on the willow plantation of the Semiluki forest nursery]. Prirodopol'zovanie: resursy, tekhnicheskoe obespechenie: Mezhvuz. sb. nauch. trudov. Vol. 2. FV. Posharnikova, editor. Voronezh: VGLTA;2004:18-22. Russian.
21. Loginova LA. Uglorododeponiruyushchaya i kislorodoproduciruyushchaya funkciya ivovyh nasazhdenij [Car-bon-deposition and oxygen-producing function of willow plantations]. Problemy uskoreniya vosproizvodstva i kompleksnogo ispol'zovaniya lesnyh resursov: mater. mezhdunar. nauchno-prakticheskoy konf. 2006 g. Fed. agentstvo po nauke i innovaciyam, adm. Voronezh. obl., VGLTA. Voronezh, 2006:105-8. Russian.
22. Popova OI, Kompanceva EG. Geobotanicheskie aspekty izucheniya nekotoryh vidov Salix L. s cel'yu obos-

- novaniya ih medicinskogo ispol'zovaniya [Geobotanical aspects of the study of some *Salix* L. species for the purpose of substantiating their medical use]. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2014;4:50-1. Russian.
23. Frolova OO, Kompanceva EV, Dement'eva TM. Biologicheski aktivnye veshchestva rastenij roda iva (*Salix* L.) [Biologically active substances of plants of the genus willow (*Salix* L.)]. Pharmacy & Pharmacology. 2016;2:41-9. Russian.
 24. Rastitel'nye resursy SSSR: Cvetkovye rasteniya, ih himicheskij sostav, ispol'zovanie; semejstva Peoniaceae – Thymelaeaceae [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, use; of the family Peoniaceae – Thymelaeaceae]. Sokolov PD, editor. L.: Nauka;1981. 336 p. Russian.
 25. Kompancev VA, SHinkarenko AL. Poluchenie farmpreparata rutina iz list'ev ivy trekhtychinkovoj [Getting a pharmaceutical preparation of rutin from leaves of a willow triandra]. Issledovaniya po izyskaniyu lekarstvennyh sredstv prirodnogo proiskhozhdeniya: tez. dokl. Vsesoyuz. nauch. konf. Leningrad;1981. 48 p. Russian.
 26. Kompancev VA. Fenol'nye soedineniya ivy trekhtychinkovoj [Phenolic compounds of willow triandra]. Tez dokl.: nauch. konf. molodyh uchenykh Pyatigorskogo farmacevticheskogo instituta. Pyatigorsk; 1973:28-9. Russian.
 27. Shelyuto VL, Shreter AI, Ustyuzhanin AA, Kuz'micheva PA. Flavonoidy efirnykh frakcij list'ev vidov *Salix* L. [Flavonoids of ether fractions of leaves of *Salix* L. species]. Rastitel'nye resursy. 1987;23(4):590—7. Russian.
 28. Kompanceva EV, Hiteva OO. Sravnitel'noe fitohimicheskoe izuchenie kory trekh vidov ivy, proizrastayushchih na Severnom Kavkaze [Comparative phytochemical study of the crust of three species of willow growing in the North Caucasus]. Mediko-social'naya ekologiya lichnosti: sostoyanie i perspektivy. Materialy VIII mezhdunarodnoj konferencii 2-3 aprelya 2010g., Minsk. Izdatel'skij centr BGU;2010:144-6. Russian.
 29. Farrahov RYu, Orazov OE, Kulagin AYu. Racional'noe ispol'zovanie prirusslovykh ivovykh nasazhdenij v erozionno-opasnykh regionah: sodержanie tanidov [Rational use of riverine willow stands in erosion-hazardous regions: the content of tanides]. Sostoyanie biosfery i zdorov'e lyudej. Sbornik materialov 2 Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii. Penza: MNIC PGSKHA; 2002:184-5. Russian.
 30. Nikitina VS, Orazov OE. Dinamika sodержaniya summy flavonoidov v list'yah i tanidov v kore vetvej raznopol'nykh osobey *Salix triandra* L. i *S.acutifolia* Willd. [Dynamics of the content of the sum of flavonoids in the leaves and tannides in the bark of branches of the opposite sex of *Salix triandra* L. and *S.acutifolia* Willd.]. Rastitel'nye resursy. 2001;3:65-72. Russian.
 31. Kenstavičienė P, Nenortienė P, Kiliuvienė G, Ževžikovas A, Lukošius A, Kazlauskienė D. Application of high-performance liquid chromatography for research of salicin in bark of different varieties of *Salix*. Medicina (Kaunas). 2009;45(8):644-51.
 32. Vanhaelen M, Vanhaelen F. Quantitative determination of biologically active constituents in medicinal plant crude extracts by thin-layer chromatography-densitometry. J. Chromatogr. 1983;281:263-71.
 33. Kulak VA, Kuz'micheva NA. Soderzhanie flavonoidov i fenologlikozidov v list'yah belorusskikh vidov iv [The content of flavonoids and phenolic glycosides in leaves of Belarusian species of willows]. [Internet]. Oficial'nyj sayt Gosudarstvennogo predpriyatiya "Nauchno-tekhnologicheskij park BNTU "Politehnik". [cited 2015 Apr 07]. Minsk, 2010. Available from: http://www.metolit.by/imcysb/txt320.php#txt32_46.html. Russian.
 34. Kornevishcha i korni rodioly rozovoj: [farmakop. st.]. [Rhizomes and roots of *rhodiola rosea*: [pharm. article]]. Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR [State Pharmacopoeia of the USSR]. Vol. 2: Obshchie metody analiza. Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e. 11 edition. Moskva, 1990:364-6. Russian.
 35. Willow bark [monograph]: British Pharmacopoeia. London; 2009;III. Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations. 3 p.
 36. Willow bark [monograph]: European Pharmacopoeia. 5 ed. Strasbourg; 2005. P. 2702.
 37. Pobłocka-Olech L, van Nedekassel AM, VanderHeyden Y, Krauze-Baranowska M, Glód D, Baczek T. Chromatographic analysis of salicylic compounds in different species of the genus *Salix*. J. Sep. Sci. 2007;30:2958 – 66.
 38. MU 08-47/172 Kora ivy i osiny, ekstrakty iz nih i BAD na ih osnove. VEZHKh metod opredeleniya massovoj koncentracii salicina [Willow bark and aspen, extracts from them and dietary supplements on their basis. HPLC method for determining the mass concentration of salicin]. Tomsk: Tomsk. politekh. un-t; 2005. 17 p. Russian.
 39. Zaugg SE, Cefalo D, Walke EB. Capillary electrophoretic lysis of salicin in *Salix* spp. J. of Chromatography A. 1997;1-2:487-90.
 40. Senchenko SP. Prognoz elektroforeticheskogo povedeniya fenol'nykh soedinenij v usloviyah kapillyarnogo zonnogo elektroforeza [Forecast of electrophoretic behavior of phenolic compounds under capillary zone electrophoresis]. Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry. 2015;7:3-9. Russian.
 41. Orazov OE, Nikitina VS, Kulagina AYu, Batalov AA. Dinamika sodержaniya tanidov v kore nekotorykh vidov roda *Salix* L. [Dynamics of tanid content in the bark of some species of the genus *Salix* L.]. Rastitel'nye resursy. 1993;1:69-71. Russian.
 42. Mazan IF. Soderzhanie taninov v kore vidov *Salix* L. v zavisimosti ot uslovij proizrastaniya [The content of tannins in the bark of *Salix* L. species, depending on the conditions of growth]. Rastitel'nye resursy. 1986;22(1):72-5. Russian.
 43. Bormotov VI, Nilov VI. Tannidnost' vidov iv *Salix* L. v Arhangel'skoj oblasti [The sporulation of *Salix* L. willow species in the Arkhangelsk Region]. Rastitel'nye resursy. 1987;23(2):234-8. Russian.
 44. Suboch GN. Soderzhanie dubil'nykh veshchestv u vidov *Salix* L. (Novosibirskaya oblast') [The content of tannins in species *Salix* L. (Novosibirsk region)]. Rastitel'nye resursy. 1988;24(4):610-4. Russian.

45. Opređenje soderzhaniya dubil'nyh veshchestv v lekarstvennom rastitel'nom syr'e: [farmakop. st.] [Determination of the content of tannins in medicinal plant raw materials: [Pharmacop. article]]. Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR [State Pharmacopoeia of the USSR]. Vol. 1. Obshchie metody analiza. 11 edition. Moskva; 1987. 286 p. Russian.
46. Opređenje soderzhaniya dubil'nyh veshchestv v lekarstvennom rastitel'nom syr'e i lekarstvennyh rastitel'nyh preparatah: (OFS.1.5.3.0008.15) [Determination of the content of tannins in medicinal plant raw materials and herbal preparations]. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii [State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. 13 edition. Vol. 3 Moskva: Ministerstvo zdravoohraneniya Rossijskoj Federacii. [Internet]. 2015. [cited 2014 Dec 11]. Available from: <http://www.femb.ru/feml>. Russian.
47. Samylina IA, Antonova NP, Rudakova IP. Issledovaniya po razrabotke farmakopejnogo metoda opredeleniya soderzhaniya dubil'nyh veshchestv v lekarstvennom rastitel'nom syr'e [Research on the development of the pharmacopoeia method for determining the content of tannins in medicinal plant raw materials]. Pharmacy. 2009;6:3-6. Russian.
48. Bovkin A, Ignatovich E, Gurina N. Antioksidantnaya aktivnost' otvarov list'ev trekh raznovidnostej ivy iz Belarussii [Antioxidant activity of decoctions of leaves of three varieties of willow from Belorussia]. Aktual'nye problemy sozdaniya novyh lekarstvennyh preparatov prirodnoho proiskhozhdeniya: materialy 6 mezhdunar. s'ezda «Fitofarm», 4-6 iyulya 2002 g. SPb; 2002:139-42. Russian.
49. Borodina NV, Kovalev VN, Stremouhov AA. Analiz aminokislotnogo sostava pobegov Salix alba L. [Analysis of amino acid composition of branches Salix alba L.]. Inter-Medical. 2014;4:68-71. Russian.
50. Borodina NV, Kovalev VN, Koshevoj ON. Sravnitel'nyj analiz aminokislotnogo sostava pobegov Salix purpurea L., Salix viminalis L., Salix fragilis L. [A comparative analysis of the amino acid composition of shoots Salix purpurea L., Salix viminalis L., Salix fragilis L.]. Vestn. YUzhno-Kazahst. gos. farmacev. akad. 2014;4(68):53-5. Russian.
51. Farrahov RYu, Orazov OE, Hisamov PP, Kulagin AYU. Racional'noe ispol'zovanie prirulovyyh ivovyh nasazhdenij v erozionno-opasnyh regionah: soderzhanie aminokislot [Rational use of virgin willow plantations in erosion-hazardous regions: amino acid content]. Biosfera i chelovek — problemy vzaimodejstviya. Sbornik materialov VI Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferencii. Penza: MNIC PGSKHA; 2002:88-90. Russian.
52. Aspirin from Willow Bark. Forest. Chron. 2000;76(4):553.
53. Complementary and alternative therapies resource. [Internet]. Somerville (USA), 2011. [cited 2015 Feb 07]. Available from: www.naturalstandard.com.
54. Levesque HO. Lafont Aspirin throughout the ages: a historical review. Rev Med Interne. 2000;21(1):8-17.
55. Alefirov AN. Fitoterapiya zabolevanij sustavov [Phytotherapy of joint diseases]. [Internet]. SPb; 2011. [cited 2015 Feb 07]. Available from: <http://www.travolekar.ru/articles/pract/art.htm>. Russian.
56. Palov M. Enciklopediya lekarstvennyh rastenij [Encyclopedia of Medicinal Plants]: per. s nem. Moskva: Mir; 1998:142-3. Russian.
57. Markova A. Travniki: zolotyie recepty narodnoj mediciny [Travniki: golden recipes of folk medicine]. Moskva: Eksmo; 2007:671-3. Russian.
58. Nasonov EL. Primenenie nesteroidnyh protivovospalitel'nyh preparatov i ingibitorov ciklooksigenazy-2 v nachale XXI veka [The use of non-steroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 inhibitors at the beginning of the 21st century]. Ros. med. zhurn. 2003;11(7):375-9. Russian.
59. Shvets P, Halabala M. Acetylsalicylic acid — a drug tested by generations (to the century of acetylsalicylic acid) [Kislota acetylsalicylovaya — lekarstvo, proverennoe pokoleniyami (k stoletiyu acetylsalicylovoj kisloty)]. Slovo-farma revue. Kiev; 2002:66-8. Russian.
60. Vane JR. The fight against rheumatism: from willow bark to COX-1 sparing drugs. J. Physiol. Pharmacol. 2000;4(Pt. 1):573-86.
61. Lekarstvennye rasteniya v narodnoj mediciny — lekarstvennye travy, narodnye recepty, sbory trav [Medicinal plants in folk medicine — medicinal herbs, folk recipes, herbages]. [Internet]. 2017. [cited 2017 Oct 14]. Available from: <http://vapakol.ru/> Russian.
62. Kelber O. Inhibitorische Effekte von Weidenrinden extrakten auf proinflammatorische Prozesse in LP-aktivierten Humanmonozyten. Z. Rheumatol. 2006;1:31.
63. Keusgen M, Allgäuer-Lechner C. Weidenrindenextrakt. Vielstoffgemisch gegen Entzündungen und Schmerzen: [Internet]. Pharmazeutische Zeitung. Eschborn (Germany), 2012. [cited 2017 Oct 14]. Available from: <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=2666&type=4>.
64. Barnaulov OD. Vvedenie v fitoterapiyu [Introduction to herbal medicine]. SPb: Lan'; 1999. 160 p. Russian.
65. Kurkin VA, Dubishchev AV, Ezhkov VN, Titova IN, Avdeeva EV, Braslavskij EV, Boncevic VB. Sravnitel'naya aktoprotektnaya aktivnost' fenilpropanoidov i rastitel'nyh preparatov [Comparative actoprotective activity of phenylpropanoids and herbal preparations]. Pharmacy. 2005;5:32-4. Russian.
66. Kurkin VA. Fenilpropanoidy kak potencial'nye immunomodulyatory [Phenylpropanoids as potential immunomodulators]. Chelovek i lekarstvo: tez. dokl. 9 Ros. nac. kongr. 8-12 apr. 2002 g. Moskva; 2002. 646 p. Russian.
67. Aksinenko SG, Kuz'min VYu, Gorbacheva AV, Zelenskaya KL, Nesterova YuV, Pashinskij VG. Protivoyazvennyye svoystva vytyazhek ivy korzinochnoj [Anti-ulcer properties of willow basket hoods]. Sib. zh. gastroenterol. i gepatol. 2001;12:65. Russian.

68. Kompancev DV. Eksperimental'noe izuchenie celesoobraznosti vklucheniya ekstrakta ivy beloј v gidrogeļ' protivoartralnogo deјstviya [Experimental study of the expediency of including an extract of willow white in the anti-arthritis hydrogel]. Bulletin of Siberian Medicine. 2007;6(2):26-30. Russian.
69. Verner G, Shul'c K. Ekstrakt kory ivy (Assaliks) v lechenii pacientov s hronicheskoy bol'yu v spine i sustavah. Rezul'taty krupnomasshtabnogo postmarketingovogo issledovaniya [Extract of the bark of willow (Assalix) in the treatment of patients with chronic pain in the back and joints. Results of large-scale post-marketing research]. Ukr. revmatol. zh. 2006;1:62-4. Ukrain.
70. Zenner-Weber MA. Uspeshnoe lechenie pacientov s hronicheskimi revmaticheskimi zabolevaniyami s pomoshch'yu ekstrakta kory ivy (preparat Assaliks) [Successful treatment of patients with chronic rheumatic diseases with the help of an extract of the willow bark (Assalix preparation)]. Ukr. revmatol. zh. 2006;4:65-7. Ukrain.
71. Krubasik S., Kyunzel O., Model A., Konradt K., Blek A. Lechenie boli v nizhnej chasti spiny rastitel'nymi ili sinteticheskimi protivorevmaticheskimi preparatami: randomizirovannoe kontrolirovannoe issledovanie. Ekstrakt kory ivy pri boli v nizhnej chasti spiny [Treatment of pain in the lower back by plant or synthetic antirheumatic drugs: a randomized controlled trial. Willow bark extract with pain in lower back]. Ukr. revmatol. zh.. 2008;2:41-7. Ukrain.
72. Marz RW. Weidenrindenextrakt- Wirkungen und Wirksamkeit. Erkenntnisstand zu Pharmakologie, Toxikologie und Klinik. Wien. med. Wochenschr. 2002;152(15-16):354-9.
73. Chrubasik S, Kunzel O, Black A, Conradt C, Kerschbaumer F. Potential economic impact using a proprietary willow bark extract in outpatient treatment of low back pain: an open non-randomized study. Phytomedicine. 2001;4:241-51.
74. Kompanceva EV, Frolova OO, Dement'eva TM. Vozmozhnost' ispol'zovaniya ivy vavilonskoј v farmacii [The possibility of using Babylonica willow in pharmacy]. Pharmacy & pharmacology. 2013;1:4-8. Russian.
75. Salicis cortex (Willow bark): ESCOP (European Scientific Cooperative on Phytomedicine). Monographs on the medicinal use of plant drugs. 2. ed. Stuttgart;2003:445-51.
76. Sannikova EG, Sergeeva EO, Sadzhaya LA, Kuznecova LS, Kompanceva EV, Frolova OO. Farmakotekhnologicheskie issledovaniya poroshka ivy trekhtychinkovoј pobegov [Pharmacotechnological studies of the powder of willow of three-branch branches]. Modern problems of science and education. [Internet]. 2015;5. [cited 2016 Oct 26]. Available from: <http://www.science-education.ru/128-22354> Russian.
77. Frolova OO, Shevchenko OA, Kompanceva EV, Lysenko TA. Himicheskoe izuchenie pobegov ivy purpurnoј (Salix purpurea L.) i opredelenie protivovospalitel'noј aktivnosti ih vodnogo izvlecheniya [Chemical study of willow purple branches (Salix purpurea L.) and the determination of the anti-inflammatory activity of their aqueous extract]. Modern problems of science and education. [Internet]. 2012;6. [cited 2015 Oct 26]. Available from: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=8066>. Russian.
78. Kompanceva EV, Frolova OO, Savenko IA. Izuchenie protivovospalitel'noј aktivnosti pobegov ivy beloј [Study of the anti-inflammatory activity of white willow branches]. Problemy farmaceuticheskoy nauki i praktiki: materialy IV Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem (Vladikavkaz, 30–31 maya 2014 g.). Vladikavkaz; 2014:206-9. Russian.
79. Dement'eva TM, Sergeeva EO, Sadzhaya LA, Frolova OO. Farmakologicheskoe deјstvie kory i pobegov ivy vavilonskoј i ee gibrida s ivoy beloј [Pharmacological action of the bark and branches of the willow of Babylon and its hybrid with white willow]. Modern problems of science and education. [Internet]. 2015;5. [cited 2016 Feb 14]. Available from: <http://www.science-education.ru/128-21893>. Russian.
80. Borodina NV, Kovalev VN. Sravnitel'nyj analiz fenol'nyh soedinenij pobegov Salix caprea L., Salix purpurea L., Salix viminalis L. flory Ukrainy [Comparative analysis of phenolic branches of Salix caprea L., Salix purpurea L., Salix viminalis L. flora of Ukraine]. Fenol'nye soedineniya: fundamental'nye i prikladnye aspekty: sb. materialov IX Mezhdunar. simpoz. 20-25 apr. 2015 g. Mockva, 2015:27-33. Russian.
81. Sannikova EG, Frolova OO, Kompanceva EV, Popova OI. Lekarstvennye sredstva i BAD, soderzhashchie ivu: tendencii i perspektivy [Medicines and dietary supplements containing willow: trends and prospects]. Pharmacy. 2015;5:51-3. Russian.
82. Granuly i kapsuly. Mikroapsulirovanie [Granules and capsules. Microencapsulation]. [Internet]. [cited 2015 Nov 12]. Available from: <http://farmf.ru/lekcii/granuly-i-kapsuly-mikroapsulirovanie/> Russian.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Авторы

Санникова Евгения Геннадиевна – редактор редакционно-издательского отдела Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ. Область научных интересов: фитохимическое исследование лекарственных растений. E-mail: Je-Je4ka2012@yandex.ru.

Аutors

Sannikova Evgeniya Gennadiyevna – editor of editorial Department Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: phytochemical study of medicinal plants. E-mail: Je-Je4ka2012@yandex.ru.

Попова Ольга Ивановна – доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры фармакогнозии и ботаники Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ. Область научных интересов: фитохимическое исследование лекарственных растений. E-mail: beegeeslover@mail.ru.

Компанцева Евгения Владимировна – доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ. Область научных интересов: фитохимическое исследование лекарственных растений. E-mail: dskompanceva@mail.ru

Popova Olga Ivanovna – PhD (Pharmacy), professor, professor of the Department of pharmacognosy and botany Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: phytochemical study of medicinal plants. E-mail: beegeeslover@mail.ru.

Kompanceva Evgeniya Vladimirovna – PhD (Pharmacy), professor, professor of the Department of pharmaceutical and toxicological chemistry Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: phytochemical study of medicinal plants. E-mail: dskompanceva@mail.ru.

Поступила в редакцию: 19.05.2018
Отправлена на доработку: 21.06.2018
Принята к печати: 12.08.2018

Received: 19.05.2018
Sent back for revision: 21.06.2018
Accepted for publication: 12.08.2018

ИЗУЧЕНИЕ И МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАСТВОРИТЕЛЯ НА ЭКСТРАКЦИЮ ИЗОСАЛИПУРПОЗИДА ИЗ *HELICHRYSI ARENARII FLORES*

Н.Н. Бойко, Д.И. Писарев, Е.Т. Жилиякова, О.О. Новиков

Научно-образовательный центр «Фармация»,
Белгородский государственный национальный исследовательский университет,
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85
E-mail: boykoniknik@gmail.com

В данной работе представлены результаты изучения и моделирования влияния диэлектрической проницаемости растворителя на экстракцию изосалипурпозидов из цветков бессмертника песчаного. **Цель данной работы** – изучить влияние растворителя на экстракцию изосалипурпозидов из цветков бессмертника песчаного, предложить теоретическую модель для описания полученных результатов. **Материалы и методы.** Измельченное растительное сырье «Бессмертника песчаного цветки» (*Helichrysi arenarii flores*). Водные растворы этанола (26, 43, 59, 72, 81, 97±1% об.), метанола, 1-пропанола, 2-пропанола, ацетона и этилацетата. Экстракты получали при соотношении растительное сырье – экстрагент 1:5 (масс./об.), настаиванием в течение 24 часов при температуре 24±1°C. Анализ экстрактов проводили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии и стандартного образца изосалипурпозидов. **Результаты и обсуждение.** Изучена зависимость концентрации изосалипурпозидов в спирто-водных экстрактах от концентрации этанола в растворе. Найдено, что максимальная концентрация изосалипурпозидов наблюдается в растворах с концентрацией этанола 75±5% об. Этот диапазон концентраций этанола соответствует диэлектрической константе растворителя равной 38±3 единиц. Получено регрессионное уравнение зависимости концентрации изосалипурпозидов в экстракте от диэлектрической постоянной спирто-водных растворов. Теоретически спрогнозирована и экспериментально проверена оптимальная концентрация растворителя на примере водных растворов метанола, ацетона, 1-пропанола, 2-пропанола. **Заключение.** Выяснено, что на процесс выделения фитокомпонента из растительного сырья наиболее существенное влияние оказывает диэлектрическая постоянная растворителя. Теоретически обоснована и апробирована математическая модель для описания зависимости концентрации изосалипурпозидов от диэлектрической постоянной водно-этанольных растворов. Найден оптимальный диапазон значений диэлектрической постоянной растворителя для достижения максимальной концентрации изосалипурпозидов в экстракте.

Ключевые слова: Бессмертника песчаного цветки, растворители, ВЭЖХ анализ, диэлектрическая константа, изосалипурпозид

STUDY AND MODELING OF SOLVENT INFLUENCE ON ISOSALIPURPOSIDE EXTRACTION FROM *HELICHRYSI ARENARII FLOWERS*

N.N. Boyko, D.I. Pisarev, E.T. Zhilyakova, O.O. Novikov

Scientific and Educational Centre "Pharmacy", Belgorod State University,
85, Pobedy St., Belgorod, Russia, 308015
E-mail: boykoniknik@gmail.com

This article presents results of the study and modeling of solvent influence on isosalipurposide extraction from *Helichrysi Arenarii* flowers. **The aim** of this work is to study the influence of the solvent on isosalipurposide extraction

Для цитирования:

Бойко Н.Н., Писарев Д.И., Жилиякова Е.Т., Новиков О.О.
ИЗУЧЕНИЕ И МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ
РАСТВОРИТЕЛЯ НА ЭКСТРАКЦИЮ ИЗОСАЛИ-
ПУРПОЗИДА ИЗ *HELICHRYSI ARENARII FLORES*.
Фармация и фармакология. 2018;6(4):340-350.

DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-340-350

© Бойко Н.Н., Писарев Д.И., Жилиякова Е.Т.,
Новиков О.О., 2018

For citation:

Boyko N.N., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T., Novikov O.O.
STUDY AND MODELING OF SOLVENT
INFLUENCE ON ISOSALIPURPOSIDE
EXTRACTION FROM *HELICHRYSI ARENARII*
FLOWERS.

Pharmacy & Pharmacology. 2018;6(4):340-350. (In Russ.)

DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-340-350

from *Helichrysi arenarii* flowers and suggest a theoretical model for description of the results obtained. **Materials and methods.** The basic materials were: a ground plant raw material of *Helichrysi arenarii* flowers. water solutions of ethanol (26, 43, 59, 72, 81, 97±1% v/v.), methanol, 1-propanol, 2-propanol, acetone and ethyl acetate. The extracts were obtained from the plant raw materials / solvent at the ratio of 1:5 (wt./vol.) by maceration for 24 hours at the temperature of 24±1°C. The analysis of the extracts was carried out by reversed-phase high performance liquid chromatography and isosalipurposide reference substance. **Results and discussion.** A dependence of isosalipurposide concentration in ethanol-water extracts on ethanol concentration in the solution was studied. It has been found out that maximum concentration of isosalipurposide is observed in the solutions with ethanol concentration of 75±5% v/v. This range of ethanol concentrations corresponds to solvent's dielectric constant value of 38±3 units. The regression equation of dependence between isosalipurposide concentration in the extract and dielectric constant of ethanol-water solution has been obtained. Optimal concentration of the solvent has been theoretically predicted and experimentally verified as in the case of water solutions of methanol, acetone, 1-propanol, and 2-propanol. **Conclusion.** It has been determined that solvent's dielectric constant has the most significant influence on the extraction process of phytocompound from the plant raw material. A mathematical model for description of the dependence of isosalipurposide concentration on dielectric constant of ethanol-water solutions has been substantiated theoretically and tested. The optimal range of solvent's dielectric constant to obtain maximum concentration of isosalipurposide in the extract has been found.

Keywords: *Helichrysi arenarii* flowers, solvents, HPLC analysis, dielectric constant, isosalipurposide

ВВЕДЕНИЕ. На данный момент в научной литературе в области фитохимии очень мало работ, которые были бы посвящены вопросу разработки и создания математической модели для описания зависимости концентрации биологически активных веществ в экстракте от физико-химических свойств растворителя.

Одни из них фокусируются только на эмпирическом изучении степени перехода фитокомпонентов из растительного сырья в тот или иной растворитель, без теоретического объяснения полученных результатов [1].

Другие исследования посвящены математическому описанию влияния ионных и гидротропных жидкостей на процесс экстракции фитокомпонентов из растительного сырья [2, 3], что безусловно интересно, однако не применимо к обычным типам растворителей.

Еще одна группа работ посвящена моделированию процесса растворения фитокомпонентов в растворителе с использованием термодинамических принципов [4]. Однако в работе не учитывалось влияние растительного матрикса на процесс распределения фитокомпонентов между фазами.

Следует подчеркнуть, что теоретическое описание подобной зависимости дает ключ к выявлению оптимальных параметров растворителя для достижения максимальной степени истощения растительного сырья при минимальных затратах объема растворителя, энергии и массы перерабатываемого растительного сырья.

Бессмертник песчаный является интересным растением для научных исследований, поскольку это растение широко распространено по всему миру, обладает рядом ценных фармакологических эффектов и содержит в своем составе несколько групп биологически активных веществ (флавоноиды, халконы, флалиды, гидроксикоричные кислоты, эфирные масла и ряд других групп веществ) [5–17].

Одним из важных биологически активных ве-

ществ в цветках *Helichrysum arenarium* (L.) Moench по данным литературы является халконовый гликозид изосалипурпозид, который является доминирующим в смеси фенольных соединений. При этом его содержание в сырье достигает 1,5% и более [6]. Кроме того, на территории России и Украины разработан и выпускается препарат «Фламин», который содержит фенольные соединения, в том числе изосалипурпозид, и применяется для лечения хронических заболеваний печени.

ЦЕЛЬ данной работы – экспериментально изучить влияние растворителя на экстракцию изосалипурпозиды из цветков бессмертника песчаного и предложить теоретическую модель для описания полученных результатов.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить ряд задач: изучить влияние водно-этанольного растворителя на концентрацию изосалипурпозиды в экстракте; теоретически обосновать и апробировать математическую модель зависимости концентрации изосалипурпозиды от диэлектрической постоянной растворителя; спрогнозировать, экспериментально проверить результат и предложить оптимальный вид экстрагента для выделения изосалипурпозиды из *Helichrysi arenarii* flores.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лекарственное растительное сырье

Для исследований использовали фармакопейное растительное сырье (ФС.2.5.0007.15) измельченное до однородной массы «Бессмертника песчаного цветки» (*Helichrysi arenarii* flores), приобретенное в аптеке ООО «Лекарственные травы», г. Харьков, Украина, серия № 530617, срок годности до 07.2020 г.

Растворители и вещества стандарты

В качестве экстрагента использовали водные растворы этанола (26, 43, 59, 72, 81, 97±1% об.), метанола, 1-пропанола, 2-пропанола, ацетона и этилацетат. Все растворители, кроме этанола, квалификации «ч.д.а.», этанол – фармацевтический, производства РФ.

В качестве вещества стандарта использовали стандартный образец государственной фармакопеи Украины – изосалипурпозид.

Получение экстрактов

Экстракты для анализа получали по следующей методике: 1,0 г сырья (точная навеска) заливали 5,0 мл растворителя (точная навеска), настаивали в течение 24 часов, при температуре $24 \pm 1^\circ\text{C}$.

Готовый экстракт сливали и центрифугировали при частоте вращения 13000 об/мин в течение 5 мин, а затем анализировали с помощью метода обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ).

Методика анализа ОФ ВЭЖХ

Анализ экстрактов проводили с помощью прибора фирмы «Agilent Technologies» серии «Agilent 1200 Infinity», производства США. Подробно методика анализа приведена в работе [18].

Теория

Одним из ключевых количественных параметров

растворителя, которые могут оказывать значительное влияние на процесс распределения фитокомпонента между фазами экстракционной системы является его диэлектрическая постоянная [19, 20].

Для построения математической модели авторы применили энергетический подход, который связан с изменением энергии Гиббса в экстракционной системе и энергией межмолекулярных сил. Для этого авторы использовали ряд допущений: молекулы полярны; силами Дебая можно пренебречь; матрикс растительного сырья представлен целлюлозой; диэлектрическая проницаемость пропитанного матрикса растительного сырья (ε_y) равна сумме произведения объемной доли компонентов на их диэлектрическую постоянную, т.е. целлюлозы (ε_l) и растворителя (ε_x); константа равновесия (K) равна равновесной концентрации фитокомпонента в экстракте (C).

Таким образом, используя данные допущения и формулы из источника [20], можно составить ряд уравнений (1)–(5):

$$\Delta G = \Delta G_{solid} + \Delta G_{solv} + \Delta G_{unpred} \quad (1)$$

$$\Delta G = -RT \ln K = -RT \ln C \quad (2)$$

$$\Delta G_{solid} = N_A \cdot \left(\frac{\mu_1 \cdot \mu_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_y) \cdot r^3} + \frac{3 \cdot \alpha_1 \cdot \alpha_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_y)^2 \cdot 2 \cdot r^6} \cdot \left(\frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2} \right) \right) \quad (3)$$

$$\Delta G_{solv} = -N_A \cdot \left(\frac{\mu_3 \cdot \mu_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_x) \cdot r^3} + \frac{2 \cdot \mu_3^2 \cdot \mu_2^2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_x)^2 \cdot 3 \cdot k \cdot T \cdot r^6} + \frac{3 \cdot \alpha_3 \cdot \alpha_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_x)^2 \cdot 2 \cdot r^6} \cdot \left(\frac{I_3 \cdot I_2}{I_3 + I_2} \right) \right) \quad (4)$$

$$\varepsilon_y = \varphi_l \cdot \varepsilon_l + (1 - \varphi_l) \cdot \varepsilon_x \quad (5)$$

где ΔG – энергия Гиббса, Дж/моль; R – газовая постоянная, 8,314, Дж/(моль·К); T – абсолютная температура, К; K – константа равновесия; C – равновесная концентрация вещества в экстракте, моль/л; ΔG_{solid} – энергия связи молекул биологически активных веществ с матриксом растительного сырья, Дж/моль; ΔG_{solv} – энергия взаимодействия молекул биологически активных веществ и молекул растворителя, Дж/моль; ΔG_{unpred} – неучтенные энергетические процессы, Дж/моль; N_A – число Авогадро, $6,02 \cdot 10^{23}$ моль⁻¹; π – математическая константа, 3,14; ε_0 – электрическая постоянная, $8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м; ε_l , ε_x – диэлектрическая проницаемость: матрикса растительного сырья и растворителя соответственно; μ_1 , μ_2 , μ_3 – дипольный момент молекул: матрикса растительного сырья, био-

логически активных веществ и растворителя соответственно, Кл·м; α_1 , α_2 , α_3 – поляризуемость молекул: матрикса растительного сырья, биологически активных веществ и растворителя соответственно, м³; I_1 , I_2 , I_3 – энергия ионизации молекул: матрикса растительного сырья, биологически активных веществ и растворителя соответственно, Дж; r – расстояние между молекулами, м; φ_l – объемная доля матрикса растительного сырья.

После преобразования данных уравнений и выделения из них диэлектрической проницаемости растворителя можно записать конечное уравнение (6), которое связывает равновесную концентрацию веществ в экстракте и диэлектрическую проницаемость растворителя:

$$\frac{R \cdot T}{N_A} \cdot \ln C = \frac{1}{\varepsilon_x^2} \cdot \left((D + E) - \frac{\varepsilon_x^2}{\varepsilon_y^2} \cdot B \right) + \frac{1}{\varepsilon_x} \cdot \left(F - \frac{\varepsilon_x}{\varepsilon_y} \cdot A \right) + \Delta G_{unpred} \quad (6)$$

$$\text{где } D = \frac{2 \cdot \mu_3^2 \cdot \mu_2^2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0)^2 \cdot 3 \cdot k \cdot T \cdot r^6}, E = \frac{3 \cdot \alpha_3 \cdot \alpha_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0)^2 \cdot 2 \cdot r^6} \cdot \left(\frac{I_3 \cdot I_2}{I_3 + I_2} \right), B = \frac{3 \cdot \alpha_1 \cdot \alpha_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0)^2 \cdot 2 \cdot r^6} \cdot \left(\frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2} \right),$$

$$F = \frac{\mu_3 \cdot \mu_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0) \cdot r^3}, A = \frac{\mu_1 \cdot \mu_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0) \cdot r^3}$$

Уравнение (6) довольно сложно для математической обработки, поэтому для его упрощения авторы приняли еще одно допущение, что отношения $\varepsilon_x^2/\varepsilon_y^2$ и $\varepsilon_x/\varepsilon_y$ равны константе. В этом случае данная зависимость будет определяться в основном балансом энергетических коэффициентов $(D+E)\text{-const}\cdot B$ и $(G\text{-const}\cdot A)$, и может быть проанализирована даже с использованием инструмента *MS Excel*, так как при

введении новой переменной $x=1/\varepsilon_x$, уравнение (6) сводится к квадратному уравнению.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В первой части исследований изучалась зависимость концентрации изосалипурпозиды в экстрактах, полученных с помощью разных концентраций этанола. Результаты ОФ ВЭЖХ анализа содержания данного вещества в экстрактах приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Значение площади пика и концентрации изосалипурпозиды в экстрактах, полученных из *Helichrysi arenarii flores*, на основе этанола различной концентрации

Параметр	Время удерживания, мин	Концентрация этанола, % об.					
		26	43	59	72	81	97
1. Площадь пика, mAU·s*	20,6±0,6	3464±104	8314±249	10544±316	10801±324	11700±351	9821±295
2. Концентрация вещества, ммоль/л		2,22±0,07	5,34±0,16	6,77±0,20	6,94±0,21	7,51±0,22	6,31±0,19
3. Диэлектрическая константа		68±1	59±1	48±1	40±1	35±1	27±1

* Примечание. Среднее значение и ошибку параметра рассчитывали при трех повторностях $n=3$ и уровне значимости $P=0,95$.

Как видно из данных таблицы 1, наибольшая концентрация изосалипурпозиды наблюдается для раствора этанола 81% об. Однако следует уточнить, что максимальную концентрацию изосалипурпозиды в экстракте можно ожидать в диапазоне концентрации этанола 75±5% об.

Далее с помощью данных, отображенных в таблице 1, и справочных данных относительно диэлектрической проницаемости для смеси этанол-вода [21], была построена зависимость в координатах $\ln C=f(1/\varepsilon)$ (см. рис. 1).

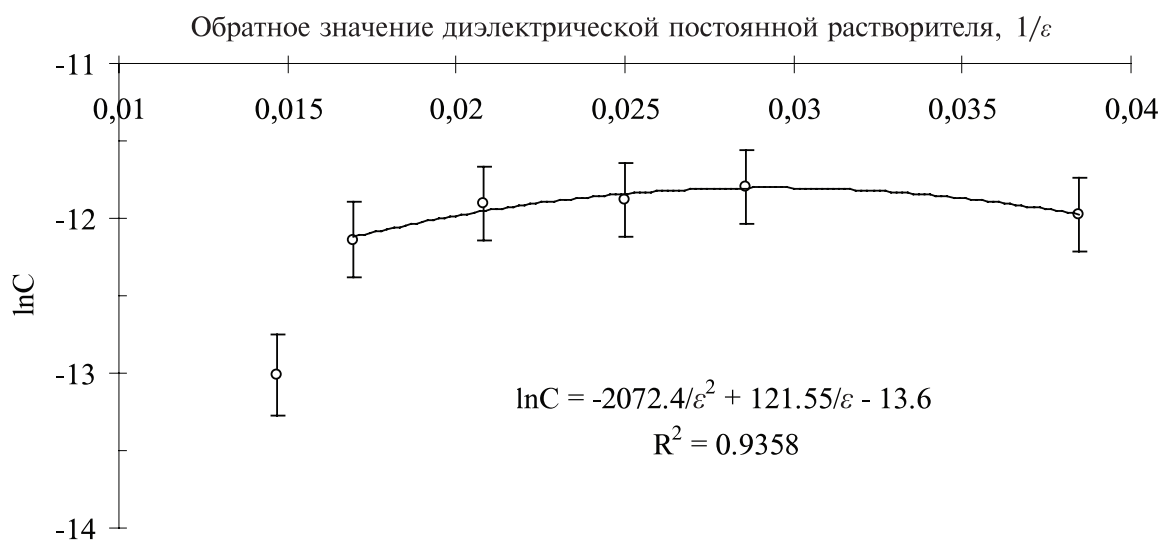


Рисунок 1 – Зависимость концентрации изосалипурпозиды в экстрактах от обратной величины диэлектрической проницаемости растворителя

Как видно из рисунка 1, экспериментальные данные хорошо описываются предложенной математической моделью (6) в пределах значений диэлектрической константы от 26 до 59 единиц ($1/\varepsilon = 0,039\text{--}0,017$). При этом регрессионное уравнение имеет вид $\ln C = -13,6 + 122/\varepsilon - 2072/\varepsilon^2$, а коэффициент детермина-

ции равен $R^2=0,94$, что говорит об адекватности математической модели. Однако для значений диэлектрической константы выше 60 единиц ($1/\varepsilon$ менее 0,017), отклонения становятся очень существенными, и экспериментальные данные значительно отклоняются от предложенной упрощенной математической моде-

ли, что вероятно связано с возникновением в экстракционной системе непредвиденных процессов.

Согласно выше приведенного уравнения, максимальное значение концентрации изосалипурпозидов соответствует диэлектрической константе растворителя 38 ± 3 единиц.

Поэтому можно ожидать, что и для других растворителей с данным значением диэлектрической постоянной концентрация изосалипурпозидов в экс-

трактах также будет на высоком уровне. Для проверки данного предположения, авторы использовали следующие растворители: метанол, водный раствор ацетона 65% масс., 1-пропанола 70% масс., 2-пропанола 68% масс. и метанола 95% масс. Для сравнения также использовали чистый ацетон, 1-пропанол, 2-пропанол и этилацетат. Данные по значению площади пика и концентрации для изосалипурпозидов в этих растворителях приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Значение площади пика и концентрации изосалипурпозидов в экстрактах, полученных из *Helichrysi arenarii flores* на основе различных растворителей

Параметр	Время удерживания, мин	Растворитель				
		Ацетон 65 % масс.	Метанол 95 % масс.	1-пропанол 70 % масс.	2-пропанол 68 % масс.	Этилацетат
1. Площадь пика, mAU·s*	20.6±0.6	5302±159 13439±403	9544±286 10987±330	6315±190 11723±352	2382±72 12673±380	2056±62
2. Концентрация вещества, ммоль/л		3.41±0.10 8.63±0.26	6.13±0.18 7.06±0.21	4.06±0.12 7.53±0.23	1.53±0.05 8.14±0.24	1.32±0.04
3. Диэлектрическая константа		19±1 39±1	34±1 36±1	21±1 38±1	19±1 37±1	6±1

* Примечание. Среднее значение и ошибку параметра рассчитывали при трех повторностях $n=3$ и уровне значимости $P=0.95$.

Как видно из данных приведенных в таблице 2, значения концентрации изосалипурпозидов в экстрактах для таких растворителей, как ацетон, 1-пропанол, 2-пропанол и этилацетат (числитель) ниже по сравнению со значением концентрации в этаноле 81% об., только в метаноле концентрация данного вещества приближается к уровню этанола 59% об. Данные результаты хорошо согласуются с предположением, что это связано с величиной диэлектрической постоянной растворителя, которая сильно отличается от оптимального диапазона.

В противоположность чистым растворителям, значение концентрации изосалипурпозидов в экстрактах из их водных растворов (знаменатель), как и было предсказано, находятся на высоком уровне даже превышающим его максимальное значение для этанола 81% об.

Полученные результаты могут быть использованы для усовершенствования некоторых технологических аспектов выделения биологически активных

веществ и, в частности, изосалипурпозидов из цветков бессмертника.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Изучено влияние вида растворителя на экстракцию изосалипурпозидов из цветков бессмертника песчаного. Выяснено, что наиболее существенное влияние на данный процесс оказывает диэлектрическая постоянная растворителя. Теоретически обоснована и апробирована математическая модель для описания зависимости концентрации изосалипурпозидов от диэлектрической постоянной растворителя на примере водно-этанольных растворов. Найден диапазон значений диэлектрической постоянной растворителя 38 ± 3 единиц, при котором достигается максимальная концентрация изосалипурпозидов в экстракте. Теоретически спрогнозирована и экспериментально проверена оптимальная концентрация растворителя на примере водных растворов метанола, ацетона, 1-пропанола, 2-пропанола. Полученные результаты могут быть использованы в дальнейших исследованиях по усовершенствованию технологии выделения изосалипурпозидов из цветков бессмертника песчаного.

INTRODUCTION. At present, scientific papers dedicated to phytochemistry contain very little information about the development of a mathematical model to describe the dependence of biologically active substances concentration in the extract on physical and chemical parameters of the solvent.

Some of them focus only on empirical study of phytochemical transfer degree from the plant raw material into various solvents without any theoretical explanation of the results obtained [1].

Other studies are dedicated to mathematical description of the influence of ionic or hydrotropic solvents on the extraction process of phytochemicals from the plant

raw material [2, 3], which is certainly interesting, but not applicable to traditional types of solvents.

Another group of works is dedicated to modeling dissolution of phytocomponents in a solvent using thermodynamic principles [4]. However, the authors of this work disregard the influence of plant matrix on the distribution process of phytochemicals between the phases.

It should be noted that theoretical description of this dependence gives the key to determination of solvent's optimal parameters to obtain the maximum depletion degree of a plant raw material at the minimum amount of the solvent, energy and weight of the plant raw material used.

Helichrysum arenarium (L.) is a plant interesting for

scientific studies due to its being widely spread all over the world. In addition, it has some useful pharmacological effects and contains different groups of biologically active substances (flavonoids, chalcones, phthalides, hydroxycinnamic acids, essential oil, and some other groups of substances) [5–17].

Chalcone glycoside (isosalipurposide) is one of the important biologically active substances present in *Helichrysi arenarii* flowers. According to the scientific data it is dominating among all the phenolic compounds. Its content is more than 1.5% in the plant raw material [6].

In addition, on the territory of the Russian Federation and Ukraine, a medicine of “Flaminum” has been developed and produced. It is used for treatment of chronic liver diseases and contains certain phenolic compounds, including isosalipurposide. At the same time, some technological aspects of biologically active substances extracted from *Helichrysi arenarii* flowers, isosalipurposide in particular, can be revised and improved, taking into account the results obtained.

THE AIM of this work is to study the influence of the solvent on isosalipurposide extraction from *Helichrysi arenarii* flowers, substantiate it theoretically and suggest a theoretical model for description of the results obtained.

To achieve this goal, it was necessary to solve the following tasks: to study the influence of ethanol-water solvent on isosalipurposide concentration in the extract; to substantiate theoretically and test the mathematical model of the dependence of isosalipurposide concentration on the dielectric constant of the solvent; to predict, test the result experimentally and suggest the optimal type of the solvent for extraction of isosalipurposide from *Helichrysi arenarii* flowers.

MATERIALS AND METHODS

Plant raw material. For the study, pharmacopoeia plant raw material of *Helichrysi arenarii* flowers was used. The flowers were bought at a chemist's shop “Medicinal plants” (Kharkov, Ukraine, lot No. 530617, expiration date 07/2020) and ground to a homogeneous state.

Solvents and Reference Substances / Standards. As extractants, water solutions of ethanol (26, 43, 59, 72, 81, 97±1% v/v), methanol, 1-propanol, 2-propanol, acetone, and ethyl acetate we used. All the solvents were high grade (Russia), only ethanol was of a pharmaceutical grade (Russia).

Isosalipurposide (Ukrainian State Pharmacopoeia, Ukraine) as a reference substance was used for qualitative and quantitative analyses.

Preparation of extracts. The extracts for analyses were obtained as follows: one gram of the ground plant raw material (accurate weight) was embedded in 5.0 ml of the solvent (accurate weight) and macerated for 24 hours at 24±1°C.

Then extract was decanted and centrifuged at 13000 rpm for 5 minutes, and then analyzed by reversed-phase high performance liquid chromatography (HPLC).

HPLC analysis. The extracts were analyzed with a device of “Agilent Technologies” firm of “Agilent 1200 Infinity” series, the USA. The methods of the analysis is presented in in work in detail [18].

Theory. A dielectric constant is one of solvent's key parameters that may have a significant influence on the process of phytocompound distribution between the phases of the extraction system [19, 20].

For the development of a mathematical model, the authors used the energetic approach, which is connected with a change of Gibbs energy in the extraction system and energy of intermolecular forces.

For that, the authors used the following assumptions: Debye forces can be neglected; the matrix of the plant raw material is presented as cellulose; the dielectric constant of the impregnated plant raw material matrix (ε_y) is equal to the sum of the product of the volume fraction of the components by their dielectric constant, i.e. cellulose (ε_l) and the solvent (ε_x); the equilibrium constant (K) is equal to phytocompound equilibrium concentration of the phytocompound in the extract (C).

Therefore, using these assumptions and formulas from the work [20], the following equations can be developed:

$$\Delta G = \Delta G_{solid} + \Delta G_{solv} + \Delta G_{unpred} \quad (1)$$

$$\Delta G = -RT \ln K = -RT \ln C \quad (2)$$

$$\Delta G_{solid} = N_A \cdot \left(\frac{\mu_1 \cdot \mu_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_y) \cdot r^3} + \frac{3 \cdot \alpha_1 \cdot \alpha_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_y)^2 \cdot 2 \cdot r^6} \cdot \left(\frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2} \right) \right) \quad (3)$$

$$\Delta G_{solv} = -N_A \cdot \left(\frac{\mu_3 \cdot \mu_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_x) \cdot r^3} + \frac{2 \cdot \mu_3^2 \cdot \mu_2^2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_x)^2 \cdot 3 \cdot k \cdot T \cdot r^6} + \frac{3 \cdot \alpha_3 \cdot \alpha_2}{(4 \cdot \pi \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_x)^2 \cdot 2 \cdot r^6} \cdot \left(\frac{I_3 \cdot I_2}{I_3 + I_2} \right) \right) \quad (4)$$

$$\varepsilon_y = \varphi_1 \cdot \varepsilon_l + (1 - \varphi_1) \cdot \varepsilon_x \quad (5)$$

where ΔG is Gibbs energy, J/mole; R is gas constant, 8.314 J/(mole·K); T is an absolute temperature value, K; K is equilibrium constant; C is equilibrium phytocompound concentration in the extract, mole/l; ΔG_{solid} is adhesion energy of phytocompound molecules with the plant raw material matrix, J/mole; ΔG_{solv} is interaction energy between molecules of the phytocompound and

the solvent, J/mole; ΔG_{unpred} are unpredicted energetical processes, J/mole; N_A is Avogadro's constant, 6.02·10²³ mole⁻¹; π is mathematical constant, 3.14; ε_0 is electrical constant, 8.85·10⁻¹² F/m; ε_l , ε_x are dielectric constants of the plant raw material matrix and the solvent respectively; μ_1 , μ_2 , μ_3 are molecules' dipole moment for the plant raw material matrix, the phytocompound, and the sol-

vent, respectively, $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$ are molecules' polarizability for the plant raw material matrix, the phytocompound, and the solvent, respectively, m^3 ; I_1, I_2, I_3 are molecules' ionization energy for the plant raw material matrix, the phytocompound, and the solvent, respectively, J ; r is a distance between the molecules, m ; φ_1 is the volume fraction of the plant raw material matrix.

After the transformation of these equations and the separation of the dielectric permittivity of the solvent from them, a final equation (6), can be presented, which connects equilibrium phytocompound concentration in the extract (C) and solvent's dielectric permittivity constant (ϵ_x):

$$\frac{R \cdot T}{N_A} \cdot \ln C = \frac{1}{\epsilon_x^2} \cdot \left((D + E) - \frac{\epsilon_x^2}{\epsilon_y^2} \cdot B \right) + \frac{1}{\epsilon_x} \cdot \left(F - \frac{\epsilon_x}{\epsilon_y} \cdot A \right) + \Delta G_{unpred} \quad (6)$$

$$\text{где } D = \frac{2 \cdot \mu_3^2 \cdot \mu_2^2}{(4 \cdot \pi \cdot \epsilon_0)^2 \cdot 3 \cdot k \cdot T \cdot r^6}, E = \frac{3 \cdot \alpha_3 \cdot \alpha_2}{(4 \cdot \pi \cdot \epsilon_0)^2 \cdot 2 \cdot r^6} \cdot \left(\frac{I_3 \cdot I_2}{I_3 + I_2} \right), B = \frac{3 \cdot \alpha_1 \cdot \alpha_2}{(4 \cdot \pi \cdot \epsilon_0)^2 \cdot 2 \cdot r^6} \cdot \left(\frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2} \right),$$

$$F = \frac{\mu_3 \cdot \mu_2}{(4 \cdot \pi \cdot \epsilon_0) \cdot r^3}, A = \frac{\mu_1 \cdot \mu_2}{(4 \cdot \pi \cdot \epsilon_0) \cdot r^3}$$

Equation (6) is rather difficult for mathematical treatment, thus for its simplicity, the authors used the assumption that ratios $\epsilon_x^2/\epsilon_y^2$ and ϵ_x/ϵ_y are equal to the constant. In this case, the dependence will be defined mainly by the balance of energetical coefficients ($D+E$)-const· B and (G -const· A), and it can be analyzed even using MS Excel, as due to introduction of a new variable $x=1/\epsilon_x$, the

equation (6) transforms into a quadric polynomial equation.

RESULTS AND DISCUSSION. In the first part of our research, we studied the dependence of isosalipurposide concentration in the extracts obtained with different ethanol concentrations in the extractant. The results of RP HPLC analysis of the content of this substance in the extracts are given in Table 1.

Table 1 – Value of the peak area and concentration of isosalipurposide in extracts from *Helichrysi arenarii* flowers based on ethanol of various concentrations

Parameter	Retention time, min	Ethanol concentration, % v/v					
		26	43	59	72	81	97
1. Compound peak area, mAU·s*	20.6±0.6	3464±104	8314±249	10544±316	10801±324	11700±351	9821±295
2. Compound concentration, mmole/l		2.22±0.07	5.34±0.16	6.77±0.20	6.94±0.21	7.51±0.22	6.31±0.19
3. Dielectric constant		68±1	59±1	48±1	40±1	35±1	27±1

* Note. The mean value and its confidence interval (Mean±SEM) were calculated with repeat counts $n=3$ and significance level $P=0.95$

As Table 1 shows, the greatest value of isosalipurposide concentration is observed for ethanol solution 81% v/v. However, it should be noted that maximum isosalipurposide concentration in the extract can be expected in the range of ethanol concentration of $75 \pm 5\%$ v/v.

Then, according to the data presented in Table 1 and reference data about dielectric constant values for ethanol-water solutions [21], the dependence in coordinates $\ln C = f(1/\epsilon)$ was plotted (for more detail, see Fig. 1).

As Fig. 1 shows, experimental data are well-described by the suggested mathematical model (6) within the range of dielectric constant from 26 to 59 units ($1/\epsilon = 0.039-0.017$). Hereby, the regression equation is $\ln C = -13.6 + 122/\epsilon - 2072/\epsilon^2$, and determination coefficient

equals to $R^2 = 0.94$. These factors demonstrate good adequacy of the mathematical model. However, for values of dielectric constant more than 60 units ($1/\epsilon$ less than 0.017), the deviations become rather significant and the experimental data deviate greatly from the simplified mathematical model suggested, which is probably associated with development of unpredicted processes in the extraction system.

According to above mentioned equation, the maximum value of isosalipurposide concentration corresponds to 38 ± 3 units of the solvent's dielectric constant. Thus, it is reasonable to expect that for other solvents with this value of dielectric constant, isosalipurposide concentration in the extracts will be at a high level.

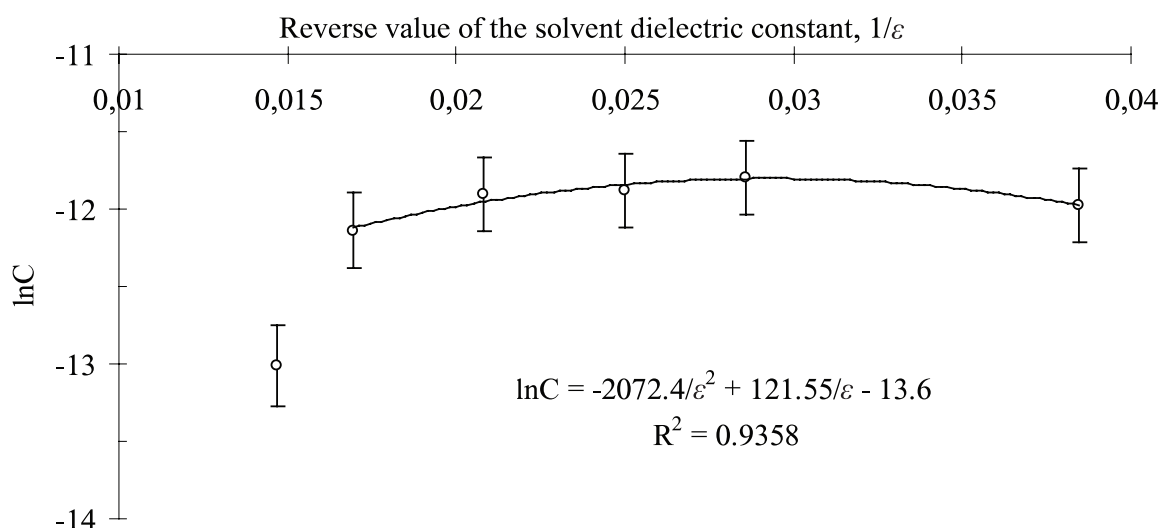


Figure 1 – Dependence between isosalipurposide concentration in the extract and reverse value of the solvent's dielectric constant

To check this statement, the authors used the following types of solvents: methanol, water solution of acetone 65% wt., 1-propanol 70% wt., 2-propanol 68% wt., and methanol 95% wt. For comparison, we also used pure acetone, 1-propanol, 2-propanol, and ethyl acetate. The data on peak areas and isosalipurposide concentration in these solvents are presented in Table 2.

Table 2 – Value of the peak area and isosalipurposide concentration in extracts obtained from *Helichrysi arenarii* flowers on the basis of various solvents

Parameter	Retention time, min	Solvent				
		Acetone 65% wt.	Methanol 95% wt.	1-propanol 70% wt.	2-propanol 68% wt.	EtAc
1. Compound peak area, mAU·s*	20.6±0.6	5302±159 13439±403	9544±286 10987±330	6315±190 11723±352	2382±72 12673±380	2056±62
2. Compound concentration, mmol/l		3.41±0.10 8.63±0.26	6.13±0.18 7.06±0.21	4.06±0.12 7.53±0.23	1.53±0.05 8.14±0.24	1.32±0.04
3. Dielectric constant		19±1 39±1	34±1 36±1	21±1 38±1	19±1 37±1	6±1

* Note. The mean value and its confidence interval (Mean±SEM) were calculated with repeat counts n=3 and significance level P=0.95

As Table 2 shows, the values of isosalipurposide concentration in the extracts for such solvents as acetone, 1-propanol, 2-propanol, and ethyl acetate are lower than those for ethanol 81% v/v, only in methanol the concentration of this compound approaches that of ethanol 59% v/v. These results are in good agreement with the assumption that this phenomenon is associated with the value of solvent's dielectric constant, which differs greatly from the optimal range.

Unlike pure solvents, the value of isosalipurposide concentration in the extracts from their water solutions, as predicted, is at a high level and even exceeds its maximum value for ethanol 81% v/v.

These results can be used for improvement of some technological aspects of biologically active compounds extraction, isosalipurposide in particular, from *Helichrysi arenarii* flowers.

CONCLUSION. The influence of the extractant type on isosalipurposide extraction from *Helichrysi arenarii* flowers has been studied. A mathematical model for description of the dependence between isosalipurposide concentration and solvent's dielectric constant by the example of water-ethanolic solutions has been theoretically substantiated and practically used. The range of solvent's dielectric constant values which is equal to 38±3 units for the maximum isosalipurposide concentration in the extract has been found. An optimal concentration of the solvent as in the case of water solutions of methanol, acetone, 1-propanol, and 2-propanol has been theoretically predicted and experimentally verified. These results can be used in further studies for improvement of the isosalipurposide extraction technology from *Helichrysi arenarii* flowers.

БЛАГОДАРНОСТИ. Исследования проводились в рамках выполнения государственного задания №12.6429.2017/БЧ «Комплексные исследования объектов растительного происхождения в процессе создания ряда целевых лекарственных форм для проктологии». Авторы выражают отдельную благодарность доктору химических наук, профессору Василию Ивановичу Литвиненко, заведующему лабораторией химии и технологии фитохимических препаратов государственного предприятия «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции», г. Харьков, Украина за предоставление вещества стандарта.

ACKNOWLEDGMENTS. This work was supported by state grant No. 12.6429.2017 / BCh “Complex research of plant-origin objects in the process of creating targeted dosage forms for proctology”. The authors express their highest esteem and thanks to Doctor of Sciences (Chemistry), Prof. Vasily Ivanovich Litvinenko, the Head of the Laboratory of Chemistry and Technology of Phytochemical Drugs of State Enterprise “State Scientific Center of Drugs and Medicinal Products”, Kharkiv, Ukraine, for his help with a reference substance.

Библиографический список

1. Fayaz M., Bhat M.H., Kumar A., Jain A.K. Comparative Studies on Different Solvents Used for the Extraction of Phytochemicals from the Plant Parts of *Arnebia benthamii*. (Wall Ex. G. Don) Johnston // J. Chem. Pharm. Res. 2017. Vol. 9. Is. 1. P. 220–224.
2. Rahman N.R.A., Yunus N.A., Mustaffa A.A. Selection of optimum ionic liquid solvents for flavonoid and phenolic acids extraction / IOP Conference Series: Materials Science and Engineering; 2017 Jun 21; Sarawak: Malaysia. 2017. P. 1–12.
3. Nagarajan J., Heng W.W., Galanakis C.M., Ramanan R.N., Raghunandan M.E., Sun J., Ismail A., Beng-Ti T., Prasad K.N. Extraction of phytochemicals using hydrotropic solvents // Separation Science and Technology. 2016. Vol. 51. Is. 7. P. 1151–1165. DOI: 10.1080/01496395.2016.1143842
4. Theo W.L., Mustaffa A.A., Lim J.S. Solubility modelling for phytochemicals of Misai Kucing in different solvents // Fluid Phase Equilibria. 2016. Vol. 427. P. 246–258. DOI: 10.1016/j.fluid.2016.07.019
5. Попова Н.В., Литвиненко В.И., Куцанян А.С. Лекарственные растения мировой флоры: энциклопед. справочник. Харьков: Діса плюс, 2016. 540 с.
6. Куркина А.В., Рыжов В.М., Авдеева Е.В. Определение содержания изосалипурпозидов в сырье и препаратах бессмертника песчаного // Химико-фармацевтический журнал. 2012. Т.46. №3. С. 28–33. DOI: 10.1007/s11094-012-0753-9
7. Литвиненко В.И., Попова Н.В., Волькович О.О. Цмини – ботанічна характеристика, хімічний склад та застосування // Фармаком. 2001. №9. С. 9–15.
8. Гринев В.С., Широков А.А., Наволокин Н.А., Полуконова Н.В., Курчатова М.Н., Дурнова Н.А., Бучарская А.Б., Маслякова Г.Н. Полифенольные соединения новой биологически активной композиции из Бессмертника песчаного (*Helichrysum Arenarium* (L.) Moench.) // Химия растительного сырья. 2015. №2. С. 177–185. DOI: 10.14258/jcprgm.201502406
9. Куркина А.В., Рыжов В.М., Авдеева Е.В. Перспективы использования ВЭЖХ для стандартизации сырья и препаратов бессмертника песчаного // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2011. Т. 13. №1. С. 2015–2020.
10. Георгиевский В.П., Зинченко А.А., Куликов А.Ю., Литвиненко В.И., Колисник А.В., Попова Н.В., Бобрицкая Л.А. К вопросу о стандартизации лекарственного растительного сырья при создании фитопрепаратов. Сообщение 1. Оценка цветков бессмертника песчаного по содержанию биологически активных соединений // Фармаком. 2017. №2. С. 34–56.
11. Попова Т.П., Литвиненко В.И. Изогелихризин суцвіть цміну // Фармацевтичний журнал. 1993. №1. С. 60–65.
12. Гудзенко А.В., Цуркан А.А. Разработка подходов к стандартизации цветков бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.) в растительных смесях // Фармация и фармакология. 2014. №1. С. 29–34.
13. Al-Rehaily A.J., Abbishi O.A., El-Olemy M.M., Mossa J.S. Flavonoids and Terpenoids from *Helichrysum* for Skahlii // Phytochemistry. 2008. Vol. 69. P. 1910–1914.
14. Gradinaru A.C., Sillion M., Trifan A., Miron A., Aprotosoiaie A.C. *Helichrysum arenarium* subsp. *arenarium*: phenolic composition and antibacterial activity against lower respiratory tract pathogens // Natural Product Research. 2014. Vol. 28. Is. 22. P. 2076–2080. DOI: 10.1080/14786419.2014.924931
15. Lv H., Sabir G., Kungurhan B., Liu Y., Aisa H.A. New phthalide glycosides from *Helichrysum arenarium* (L.) Moench // Journal of Asian Natural Products Research. 2009. Vol. 11. Is. 4. P. 352–356. DOI: 10.1080/10286020902819772
16. Zhang Y.-W., Sun W.-X., Li X., Zhao Ch.-Ch., Meng D.-L., Li N. Two new compounds from *Helichrysum arenarium* (L.) // Journal of Asian Natural Products Research. 2009. Vol. 11. Is. 4. P. 289–293. DOI: 10.1080/10286020902771387
17. Czinner E., Kéry A., Hagymási K., Blázovics A., Lugasi A., Szőke E., Lemberkovics E. Biologically active compounds of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. Eur // J Drug Metab Pharmacokinet. 1999. Vol. 24. Is. 4. P. 309–313.

18. Kuznietsova V.Yu., Shimorova Y.E., Boyko N.N., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T., Novikov O.O. HPLC analysis of hydro-ethanolic extracts from *Pastinaca sativa* L. fruits // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2017. Vol. 8. Is. 6. P. 705–712.
19. Фиалков Ю.Я. Растворитель как средство управления химическим процессом. Ленинград: Химия, 1990. 240 с.
20. Hiemenz P.C., Rajagopalan R. Principles of colloid and surface chemistry. 3rd rev. and expanded ed. New York: Marcel Dekker inc., 1997. 650 p.
21. Wohlfarth Ch. Static dielectric constants of pure liquids and binary liquid mixtures. Lechner MD, editor. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2015.

References

1. Fayaz M, Bhat MH, Kumar A, Jain AK. Comparative Studies on Different Solvents Used for the Extraction of Phytochemicals from the Plant Parts of *Arnebia benthamii*. (Wall Ex. G. Don) Johnston. J. Chem. Pharm. Res. 2017;9(1):220–4.
2. Rahman NRA, Yunus NA, Mustaffa AA. Selection of optimum ionic liquid solvents for flavonoid and phenolic acids extraction. In: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering; 2017 Jun 21; Sarawak: Malaysia. 2017. P. 1–12.
3. Nagarajan J, Heng WW, Galanakis CM, Ramanan RN, Raghunandan ME, Sun J, Ismail A, Beng-Ti T, Prasad KN. Extraction of phytochemicals using hydrotropic solvents. Separation Science and Technology. 2016;51(7): 1151–65. DOI: 10.1080/01496395.2016.1143842
4. Theo WL, Mustaffa AA, Lim JS. Solubility modelling for phytochemicals of Misai Kucing in different solvents. Fluid Phase Equilibria. 2016;427:246–58. DOI: 10.1016/j.fluid.2016.07.019
5. Popova NV, Litvinenko VI, Kucanjan AS. Lekarstvennye rasteniya mirovoj flory [Medicinal plants of the world]: encyclopedic handbook. Kharkov: Disa plus; 2016. 540 p. Russian.
6. Kurkina AV, Ryzhov VM, Avdeeva EV. Opredelenie soderzhaniya izosalipurpozida v syr'e i preparatah bessmertnika peschanogo [Assay of isosalipurposide in raw material and drugs from the Dwarf everlast (*Helichrysum arenarium*)]. Pharmaceutical chemistry journal. 2012;46(3):28–33. DOI: 10.1007/s11094-012-0753-9 Russian.
7. Litvinenko VI, Popova NV, Vol'kovich OO. Cmini – botanichna charakteristika, himichnij sklad ta zastosuvannya [The botanical characteristic, chemical composition and therapeutical uses of *Helichrysum* Mill]. Farmacom. 2001;9:9–15. Ukrain.
8. Grinev VS, Shirokov AA, Navolokin NA, Polukonova NV, Kurchatova MN, Durnova NA, Bucharskaia AB, Masliakova GN. Polifenol'nye soedineniya novoj biologicheskii aktivnoy kompozicii iz Bessmertnika peschanogo (*Helichrysum Arenarium* (L.) Moench.) [Polyphenolic compounds of a new biologically active extract from immortelle sandy [*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.] flowers]. Chemistry of raw plant materials. 2015;2: 177–85. DOI: 10.14258/jcprm.201502406 Russian.
9. Kurkina AV, Ryzhov VM, Avdeeva EV. Perspektivy ispol'zovaniya VEZHKKH dlya standartizatsii syr'ya i preparatov bessmertnika peschanogo [Prospects of use the high performance liquid chromatography for standardization of raw materials and preparations of *Helichrysum Arenarium*]. Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk. 2011;13(1):2015–20. Russian.
10. Georgiyevskiy VP, Zinchenko AA, Kulikov AY, Litvinenko VI, Kolisnyk AV, Popova NV, Bobritskaya LA. K voprosu o standartizatsii lekarstvennogo rastitelnogo syria pri sozdanii fitopreparatov. Soobshcheniye 1. Otsenka tsvetkov bessmertnika peschanogo po soderzhaniyu biologicheskii aktivnykh soyedineniy [On the issue of standardization of medicinal plant raw materials in the creation of phytopreparations. Message 1. Evaluation of flowers immortelle sandy in content of biologically active compounds]. Farmakom. 2017;2:34–56. Russian.
11. Popova TP, Litvinenko VI. Izohelykhryzyn sutsvit tsmnu [Isogeelchrysin inflorescences in the midnight]. Pharmaceutical journal. 1993;1:60–5. Ukrain.
12. Goudzenko AV, Tsourkan AA. Razrabotka podhodov k standartizatsii cvetkov bessmertnika peschanogo (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.) v rastitel'nyh smesyah [Elaboration of approaches to the standardization of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench in plant mixtures]. Pharmacy & Pharmacology. 2014;1:29–34. Russian.
13. Al-Rehaily AJ, Abbishi OA, El-Olemy MM, Mossa JS. Flavonoids and Terpenoids from *Helichrysum* for Skahlil. Phytochemistry. 2008;69:1910–4.
14. Gradinaru AC, Silion M, Trifan A, Miron A, Aprotosoae AC. *Helichrysum arenarium* subsp. *arenarium*: phenolic composition and antibacterial activity against lower respiratory tract pathogens. Natural Product Research. 2014;28(22):2076–80. DOI: 10.1080/14786419.2014.924931
15. Lv H, Sabir G, Kungurhan B, Liu Yo, Aisa HA. New phthalide glycosides from *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. Journal of Asian Natural Products Research. 2009;11(4):352–356. DOI: 10.1080/10286020902819772
16. Zhang Y-W, Sun W-X, Li X, Zhao Ch-Ch, Meng D-L, Li N. Two new compounds from *Helichrysum arenarium* (L.). Journal of Asian Natural Products Research. 2009;11(4):289–293 DOI: 10.1080/10286020902771387
17. Czinner E, Kéry A, Hagymási K, Blázovics A, Lugasi A, Szöke E, Lemberkovics E. Biologically active compounds of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. Eur. J Drug Metab Pharmacokinet. 1999 Oct-Dec;24(4):309–13.
18. Kuznietsova VYu, Shimorova YE, Boyko NN, Pisarev DI, Zhilyakova ET, Novikov OO. HPLC analysis of hy-

- dro-ethanolic extracts from *Pastinaca sativa* L. fruits. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2017 Nov-Dec;8(6):705–12.
19. Fialkov YuYa. Rastvoritel' kak sredstvo upravleniya himicheskim processom [Solvent as a tool of chemical process management]. Lenigrad: Chemistry; 1990. 240 p. Russian.
20. Hiemenz PC, Rajagopalan R. Principles of colloid and surface chemistry. 3rd rev. and expanded ed. New York: Marcel Dekker inc.; 1997. 650 p.
21. Wohlfarth Ch. Static dielectric constants of pure liquids and binary liquid mixtures. Lechner MD, editor. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2015.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Авторы:

Бойко Николай Николаевич – кандидат фармацевтических наук, младший научный сотрудник научно-образовательного центра «Фармация», Белгородский государственный национальный исследовательский университет. Область научных интересов: фармацевтические процессы, фитотехнология. E-mail: boykoniknik@gmail.com. ORCID: 0000-0001-9222-2935.

Писарев Дмитрий Иванович – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета. Область научных интересов: фармацевтический анализ, фармакогнозия. E-mail: pisarev@bsu.edu.ru. ORCID: 0000-0002-2996-7712.

Жилякова Елена Теодоровна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии Белгородского государственного национального исследовательского университета. Область научных интересов: фармацевтические процессы. E-mail: ezhilyakova@bsu.edu.ru.

Новиков Олег Олегович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, Белгородского государственного национального исследовательского университета. Область научных интересов: фармацевтический анализ, фармакогнозия. ORCID: 0000-0003-3145-6783. E-mail: novikov@bsu.edu.ru.

Authors:

Nikolay Nikolaevich Boyko – PhD (Pharmacy), junior research scientist of Scientific and Educational Centre “Pharmacy”, Belgorod State University. Research interests: pharmaceutical processes, phytotechnology. E-mail: boykoniknik@gmail.com. ORCID: 0000-0001-9222-2935.

Dmitriy Ivanovich Pisarev – PhD (Pharmacy), professor of pharmaceutical chemistry and pharmacognosy department, Belgorod State University. Research interests: pharmaceutical analysis, pharmacognosy. E-mail: pisarev@bsu.edu.ru. ORCID: 0000-0002-2996-7712.

Elena Teodorovna Zhilyakova – PhD (Pharmacy), professor, head of pharmaceutical technology department, Belgorod State University. Research interests: pharmaceutical processes. E-mail: ezhilyakova@bsu.edu.ru.

Oleg Olegovich Novikov – PhD (Pharmacy), professor, head of pharmaceutical chemistry and pharmacognosy department, Belgorod State University. Research interests: pharmaceutical analysis, pharmacognosy. E-mail: novikov@bsu.edu.ru. ORCID: 0000-0003-3145-6783.

Поступила в редакцию: 19.05.2018
Отправлена на доработку: 11.06.2018
Принята к печати: 01.08.2018

Received: 19.05.2018
Sent back for revision: 19.05.2018
Accepted for publication: 19.05.2018

УДК: 615.324.091.072;543.865/867.42



ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПЧЕЛИНОГО ЯДА И ПРОДУКТОВ НА ЕГО ОСНОВЕ

Л.И. Бутенко¹, С.А. Кулешова¹, Ж.В. Подгорная², Л.П. Мыкоц¹,
А.Б. Дмитриев¹

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России,
357500, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11

² Представительство BRACCO Group в России, Региональный директор,
г. Москва, ул. Краснобогатырская, д. 89

В настоящее время является актуальной разработка метода количественного определения мелиттина не только в образцах пчелиного яда, но и в продуктах его переработки. **Целью** нашего исследования является изучение физико-химических характеристик основного компонента пчелиного яда – мелиттина. А также разработка методики количественного определения мелиттина в образцах пчелиного яда и в фармацевтических продуктах, полученных на основе пчелиного яда: крем «Софья с пчелиным ядом» и препарат «Апизартрон». **Материалы и методы.** Объектами исследований являлись пчелиный яд и мелиттин, а также образцы мази «Апизартрон» и крема «Софья с пчелиным ядом®», соответствующие требованиям нормативной документации, серийно выпускаемые отечественными и зарубежными производителями. УФ-спектр мелиттина и пчелиного яда регистрировали на спектрофотометре СФ 103 в кварцевых кюветах толщиной 1 см. ИК-спектры исследовали на приборе ИК-Фурье – спектрофотометр ФСМ-1201 ООО «Инфраспек». Определение чистоты мелиттина проводили методом хроматографии. **Результаты и обсуждение.** Для мелиттина, как референтного образца и основного компонента пчелиного яда, были установлены основные физико-химические характеристики. Установлена $T_{пл} = 190^{\circ}\text{C}$. В УФ-спектре наблюдаются максимумы поглощения, соответствующие 2 пикам: $\lambda_{тах} = 225 \pm 2$ нм и 285 ± 2 нм. В качестве аналитической длины волны необходимо выбрать пик $\lambda = 285$ нм, так как пик с $\lambda = 225$ нм связан с поглощением света внутренним (экранированным) бензольным кольцом молекулы триптофана. Характер кривой и положение максимумов спектров мелиттина и раствора яда совпадают, что позволяет использовать мелиттин в качестве стандарта для спектрометрического количественного определения действующих веществ в пчелином яде и препаратах на основе пчелиного яда. **Заключение.** Разработанная спектрофотометрическая методика количественного определения мелиттина в пчелином яде валидирована по показателям специфичность, правильность, предел обнаружения, предел количественного определения, линейность.

Ключевые слова: пчелиный яд, мелиттин, стандартизация, спектрофотометрическое определение, УФ- и ИК-спектры мелиттина, лекарственные препараты на основе пчелиного яда

PHYSICO-CHEMICAL STUDIES OF APITOXIN AND PRODUCTS ON ITS BASIS

L.I. Butenko¹, S.A. Kuleshova¹, J.V. Podgornaya², L.P. Myikots¹, A.B. Dmitriev¹

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State
Medical University, 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

² Representative establishment of BRACCO Group in Russia, Regional Director,
89, Krasnobogatyrskaya Str., 107076

Introduction. Nowadays, it is vitally important to develop a method for quantifying melittin not only in apitoxin samples, but also in the products of its processing. **The aim of our study** is to investigate physical and chemical

Для цитирования:

Бутенко Л.И., Кулешова С.А., Подгорная Ж.В.,
Мыкоц Л.П., Дмитриев А.Б.
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ПЧЕЛИНОГО ЯДА И ПРОДУКТОВ НА ЕГО ОСНОВЕ.
Фармация и фармакология. 2018;6(4):351-366.
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-351-366
© Бутенко Л.И., Кулешова С.А., Подгорная Ж.В.,
Мыкоц Л.П., Дмитриев А.Б., 2018

For citation:

Butenko L.I., Kuleshova S.A., Podgornaya J.V.,
Myikots L.P., Dmitriev A.B.
PHYSICO-CHEMICAL STUDIES OF
APITOXIN AND PRODUCTS ON ITS BASIS
Pharmacy & Pharmacology. 2018;6(4):351-366. (In Russ.)
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-351-366

characteristics of melittin, the main component of apitoxin, as well as the development of methods for the quantitative determination of melittin in the samples of apitoxin and in the pharmaceutical products derived from apitoxin: "Sophia with apitoxin" cream and "Apizartron" ointment. **Materials and methods.** The objects of the research were apitoxin and melittin, as well as the samples of "Sophia with apitoxin" cream and "Apizartron" ointment satisfying the requirements of regulatory documentation, produced in lots by domestic and foreign manufacturers. The UV spectra of melittin and apitoxin were registered on SF 103 spectrophotometer in quartz cuvettes with 1 cm thickness. The IR spectra were investigated on the IR-instrument of Fourier – FSM-1201 spectrophotometer, LLC "Infraspek". The determination of melittin purity was carried out by chromatography. **Results and discussion.** The basic physical and chemical characteristics were established for melittin as a reference sample and the main component of apitoxin. The melting temperature was: $(T_{\text{melt}}) = 190^{\circ}\text{C}$. In the UV-spectrum there could be watched the absorption maxima corresponding to 2 peaks: $\lambda_{\text{max}} = 225 \pm 2 \text{ nm}$ and $285 \pm 2 \text{ nm}$ were observed. As an analytical wavelength, it is necessary to choose the peak $\lambda = 285 \text{ nm}$, since the peak with $\lambda = 225 \text{ nm}$ is associated with the absorption of light by the internal (shielded) benzene ring of the tryptophan molecule. The nature of the curve and the position of the maxima of the spectra of melittin and the apitoxin solution coincide, which makes it possible to use melittin as a standard for spectrometric quantitative determination of the active substances in apitoxin and preparations based on apitoxin. **Conclusion.** The worked out spectrophotometric methods for the quantitative determination of melittin in apitoxin has been validated by the indices of specificity, accuracy, detection limit, quantitative determination limit, linearity.

Keywords: apitoxin, melittin, standardization, spectrophotometric determination, UV and IR spectra of melittin, drugs based on apitoxin

ВВЕДЕНИЕ. В последнее десятилетие наблюдается некоторое повышение интереса к продуктам пчеловодства [1–7]. Именно в наши дни апитерапия переживает свое второе рождение. История пчел и их продуктов не только не закончена, напротив, с научной точки зрения, она только начинается [8–14]. Люди поняли, что никакая химия не заменит им натуральный природный материал, и стали возвращаться к препаратам, изготовленным на естественной основе. В нас снова оживает опыт прошедших веков поколений, использовавших пчелиные продукты в лечебных целях. Поэтому на современном этапе являются достаточно актуальными исследования как состава пчелиного яда, так и его основных компонентов [15–29]. Кроме того, необходимо разработать современный, доступный и простой метод анализа пчелиного яда и фармацевтических продуктов на его основе.

ЦЕЛЬЮ нашего исследования является изучение физико-химических характеристик мелиттина – основного компонента пчелиного яда. Также разработка методики спектрофотометрического количественного определения мелиттина в образцах пчелиного яда и в фармацевтических продуктах, полученных на основе пчелиного яда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Пчелиный яд. Все образцы пчелиного яда для исследования были предоставлены Сердиным Юрием Павловичем – индивидуальным предпринимателем Краснодарского края города Майкопа. Представленные образцы – это светло-желтые порошки с резким характерным запахом и горькие на вкус, растворимые в воде, растворах кислот и спиртовых растворах различной концентрации. Яд имеет кислую реакцию (рН 4,5–5,5).

Мелиттин. Референтный образец был предоставлен Аналитическим центром химического факультета Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова.

Мазь «Апизартрон»® – Мазь для наружного применения на основе пчелиного яда. Произведено:

Эспарма Гмбх, Германия, серия: 040033, дата изготовления 07/03.

Крем «Софья. Пчелиный яд Бальзам для тела». Произведено: Россия, ООО КоролевФарм. По заказу ООО НПО «Фара Фарм» соответствие ТР. ТС 0092011, серия: 011821333.

Изучение физико-химических характеристик

УФ-спектр регистрировали на спектрофотометре СФ 103 в кварцевых кюветах толщиной 1 см. Растворитель и раствор сравнения – вода очищенная.

ИК-спектры исследовали на приборе ИК-Фурье – спектрофотометр ФСМ-1201 ООО «Инфраспек».

Определение мелиттина методом хроматографии

Исследования проводили на жидкостной хроматографической системе «Миллихром» с использованием хроматографической колонки Рер RPC HR 5/5. Методика была разработана Академией аграрных наук Украины, Институтом пчеловодства им. П.И. Прокоповича и принята Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 11 МГС от 23 апреля 1997 г.) [31].

Методика спектрофотометрического определения мелиттина в образцах пчелиного яда. Точную навеску (1,0 г) пчелиного яда растворяли в 30 мл дистиллированной воды при небольшом нагревании и отфильтровывали в горячем виде. Фильтр с нерастворившейся частью вновь заливали дистиллированной водой при небольшом нагревании и отфильтровывали в горячем виде (данную операцию проводили дважды). Фильтраты объединяли и после охлаждения доводили извлечение до метки (100,0 мл). Если при охлаждении выпадал осадок, то перед взятием аликвоты колбу нагревали. Затем брали мерную колбу вместимостью 100 мл, в нее помещали 1,0 мл полученного водного извлечения, доводили до метки и спектрофотометрировали при длине волны 285 нм.

В качестве раствора сравнения использовали воду. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора референтного образца мелиттина.

Приготовление раствора референтного образца мелиттина для построения градуировочного графика. Около 0,125 г (точная навеска) мелиттина количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли и доводили до метки водой очищенной. 1 мл полученного раствора содержит 0,00125 г мелиттина (раствор А). Далее готовили разведение: в шесть мерных колб на 10 мл помещали в каждую колбу по 1 мл, 2 мл, 4 мл, 6 мл, 8 мл и 10 мл раствора А и доводили до метки водой. Определяли оптическое светопоглощение полученных растворов на спектрофотометре (СФ-103) при длине волны 285 нм.

Методика количественного определения содержания мелиттина в мази «Апизартрон» и крема «Софья с пчелиным ядом». Высвобождение мелиттина из мазевых основ проводили по методу Кривчинского [27]. На целлофановую мембрану отвешивали навеску исследуемой мази массой 7,0 г и помещали в диализатор, наполненный 100 мл дистиллированной воды. Через 24 часа в диализате проводили количественное определение мелиттина методом спектрофотометрии. Аликвоту 25 мл диализата помещали в мерную колбу объемом 100 мл, затем объем доводили до метки водой. Через 5–10 мин определяли оптическое светопоглощение на СФ 103 при $\lambda=285$ нм. Массовую долю мелиттина вычисляли по формуле 1:

$$\omega\% = \frac{A \cdot V \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot V_a \cdot m}, \text{ где} \quad (1)$$

А – оптическая плотность испытуемого раствора; $A_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель светопоглощения мелиттина, равный 127; m – навеска мази, взятая для анализа (г); V – объем мерной колбы; V_a – аликвота диализата.

Обработку результатов эксперимента проводили с помощью программного пакета Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Молекула мелиттина представляет собой гомомерный пептид, состоящий из 26 аминокислотных остатков [14, 24, 28, 29, 30]. $+H_3N - \text{Гли} - \text{Иле} - \text{Гли} - \text{Ала} - \text{Вал} - \text{Лей} - \text{Лиз} - \text{Вал} - \text{Лей} - \text{Тре} - \text{Тре} - \text{Гли} - \text{Лей} - \text{Про} - \text{Ала} - \text{Лей} - \text{Иле} - \text{Сер} - \text{Трп} - \text{Иле} - \text{Лиз} - \text{Арг} - \text{Лиз} - \text{Арг} - \text{Гли} - \text{Гли} - \text{CONH}_2$. Примечательно, что молекула мелиттина не содержит цистеина, в отличие от нейротоксинов змей, скорпионов, ядовитых пауков, которые являются гетеродетными пептидами и, как правило, содержат несколько дисульфидных мостиков. Молекулярная масса мелиттина равна 2840 Да. В молекуле мелиттина нет отрицательно заряженных групп, а положительно заряженные аминокислотные остатки преимущественно сосредоточены в С-концевом сегменте, который является гидрофильной частью молекулы мелиттина (остатки 21–26). Участок мелиттина 1–20 сформирован преимущественно гидрофобными аминокислотными остатками. Единственный хромофор мелиттина представлен остатком триптофана, который в полипептиде занимает положение 19, что можно удачно использовать для изучения мелиттина и продуктов его содержащих с помощью оптических методов. Полипептидная цепь молекулы мелиттина в растворе принимает конформацию правильной α -спирали (до 80%), нарушаемую остатком пролина в положении 14. При высокой ионной силе раствора или высокой концентрации мелиттин может ассоциироваться в тетрамер, образованный двумя симметрично расположенными парами антипараллельных протомеров [30].

Для стандартизации пчелиного яда, как исходного сырья для фармацевтических препаратов, нет современной нормативной документации. Для определения качества пчелиного яда используют следующие нормативные документы:

1). фармакопейная статья (ФС 42-26583-89 «Яд пчелиный») (утратила силу с 25 апреля 2001 года) [31], разработанная сотрудниками кафедры физиологии и биохимии человека и животных Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского совместно с сотрудниками Рижского медицинского института;

2). ГОСТ 30426-97 [26], разработанный Академией аграрных наук Украины, Институтом пчеловодства им. П. И. Прокоповича. Согласно требованиям ГОСТа, пчелиный яд-сырец должен соответствовать показателям, указанным в таблице 1.

Таблица 1 – Органолептические и физико-химические показатели пчелиного яда-сырца [26].

Наименование показателя	Значение показателей
Внешний вид	Порошок в виде мелких крупинок и чешуек
Цвет	Белый с кремоватым оттенком или с желтизной
Консистенция	Порошкообразная
Органолептические свойства	Вызывает раздражение слизистой оболочки, чихание
Массовая доля нерастворимых в воде примесей, %	не более 5
Массовая доля воды, %	не более 8
Массовая доля сырой золы, %	не более 2
Активность фосфолипазы А ₂ в 1 мг яда в пересчете на сухой вес, МЕ	не менее 100
Активность глюкозамингликангидролазного комплекса (ГАГГ) в 1 мг, в пересчете на сухой вес, мМЕ	не менее 90
Определение времени гемолиза, с	не более 300
Массовая доля мелиттина, %	не менее 50
Массовая доля апамина, %	не менее 2

Как видно из таблицы, преобладающим веществом пчелиного яда, который можно использовать в фармации, должен быть мелиттин.

Определение мелиттина проводят методом колоночной хроматографии [8], который основан на разделении компонентов пчелиного яда-сырца после связывания их с твердой фазой хроматографической колонки. Эта методика требует предварительной подготовки и технология выполнения достаточно кропотлива. Поэтому в настоящее время является актуальным разработка современного более удобного метода количественного определения мелиттина не только в образцах пчелиного яда, но и в продуктах его переработки.

В качестве стандартного образца для разработки

количественного определения был выбран референтный образец мелиттина, предоставленный нам любезно Аналитическим центром химического факультета Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова. Чистота представленного образца была доказана методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием и тандемной масс-спектрометрией в лаборатории МГУ. Результаты исследования приведены на рисунках 1, 2.

Как видно на рисунке 1, на хроматограмме имеется только один пик, что говорит о чистоте полученного референтного образца мелиттина. На хроматограммах пчелиного яда и чистого выделенного мелиттина (рис. 1, 2) хорошо видно, что пик, соответствующий мелиттину, имеет время выхода 12 минут.

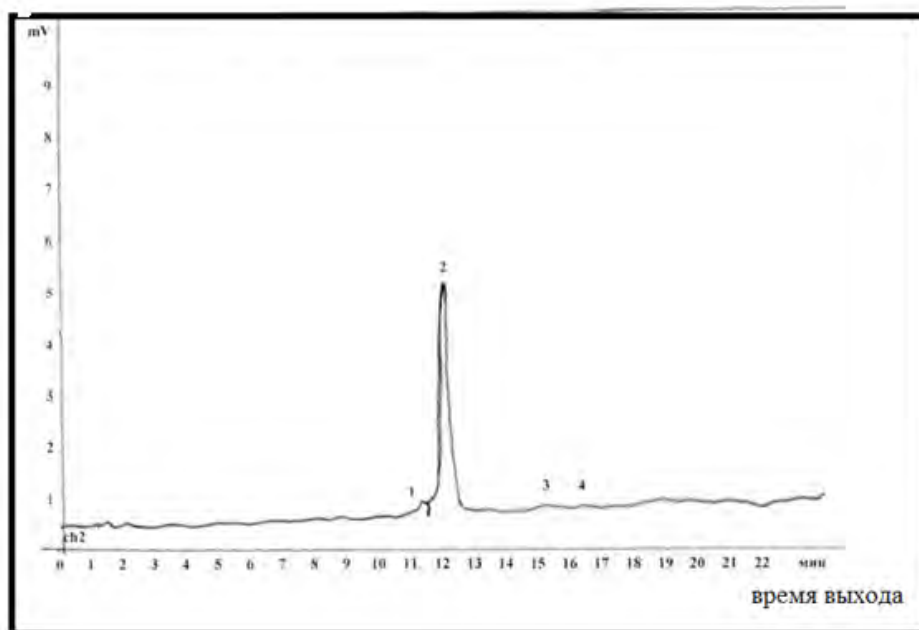


Рисунок 1 – Хроматограмма чистого образца мелиттина

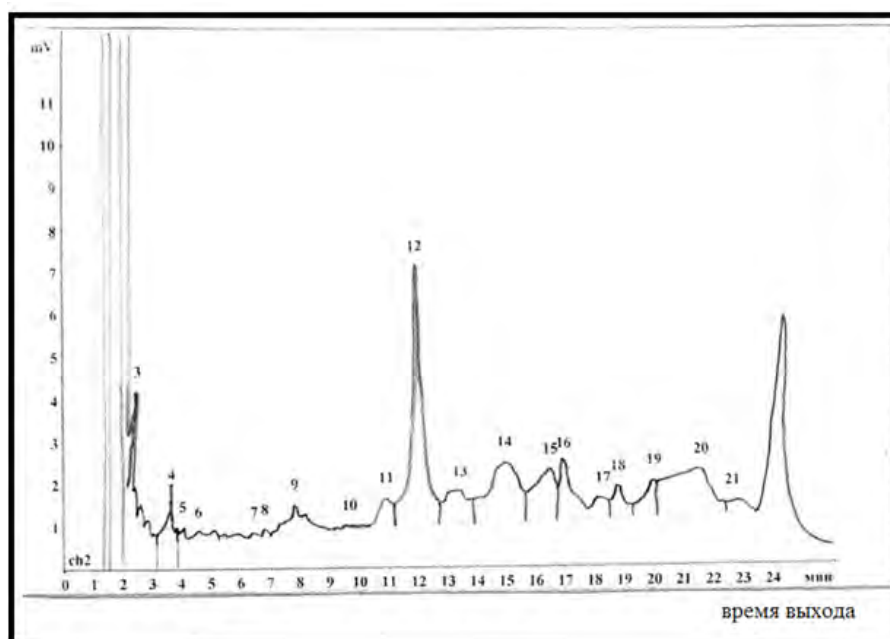


Рисунок 2 – Хроматограмма образца пчелиного яда

Как видно на рисунке 2, основным преобладающим компонентом пчелиного яда является мелиттин (пик номер 12, соответствующий времени выхода 12 минут).

Для мелиттина, как референтного образца, были установлены основные физико-химические характеристики, исследованы УФ- и ИК-спектры.

Мелиттин представляет собой белый кристаллический порошок, хорошо растворимый в воде и спирте. $T_{пл.} = 190^{\circ}\text{C}$.

ИК-спектр, $\nu_{\max}$, см^{-1} : 1506 ($\text{C}=\text{C}$ аром), 1720 ($\text{C}=\text{O}$), 4000–4200 ($\text{N}-\text{H}$). ИК-спектр мелиттина (рис. 3) мало информативен, так как в молекуле мелиттина преобладают в основном пептидные связи. Поэтому на рисунке, кроме валентных колебаний углеводородного скелета, четко видны выраженные валентные колебания карбонила – 1720 см^{-1} и валентные колебания $\text{N}-\text{H}$ связи амида в области 4000–4400 см^{-1} (широкая полоса).

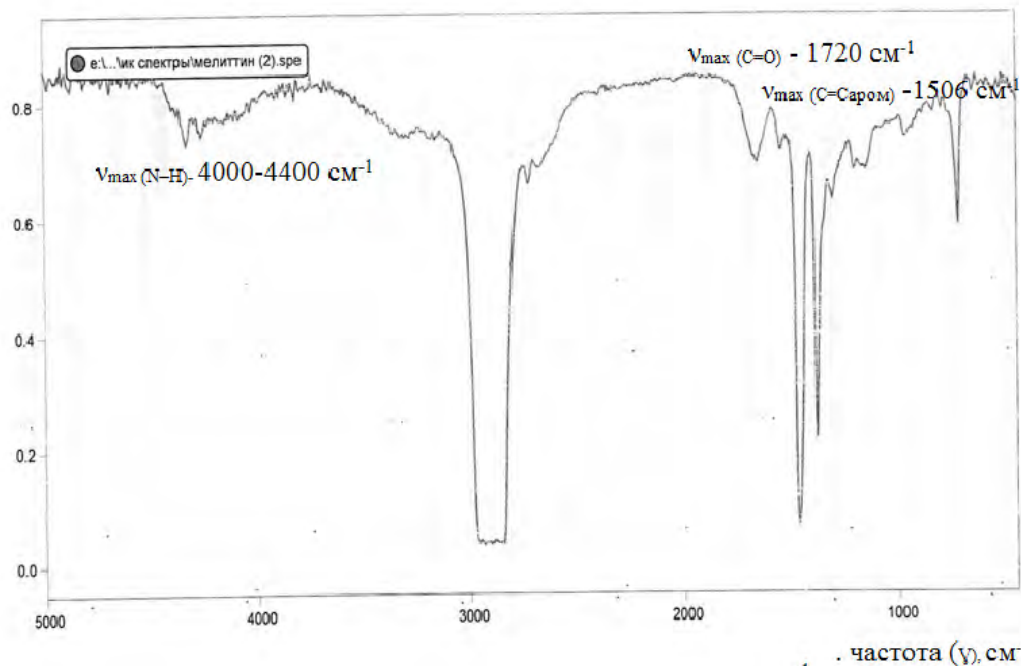


Рисунок 3 – ИК-спектр мелиттина

Единственный хромофор мелиттина представлен остатком триптофана, благодаря чему можно изучать мелиттин и продукты его содержащие, с помощью оптических методов исследования. УФ-спектр (H_2O), $\lambda_{\max}$, нм ($\lg \epsilon$): 217 (1,82), 285 (0,81). В УФ-спектре мелиттина (рис. 4) наблюдаются два

максимума поглощения при $\lambda=285$ нм и $\lambda=225$ нм. В качестве аналитической длины волны необходимо выбрать пик с $\lambda=285$ нм, так как максимум при $\lambda=225$ нм связан с поглощением света внутренним (экранированным) бензольным кольцом молекулы триптофана.

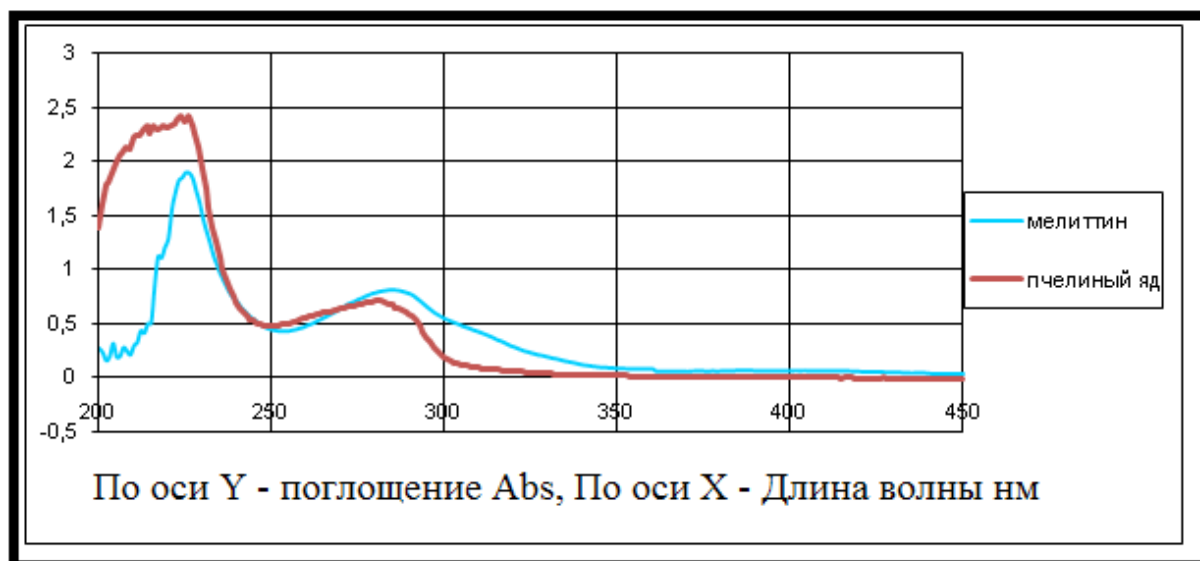


Рисунок 4 – УФ-спектры мелиттина и образцов пчелиного яда в воде

Были изучены УФ-спектры водных и спиртовых извлечений различных концентраций образцов пчелиного яда. Как видно из рисунка 4, характер кривой и положение максимумов спектра мелиттина и спектра водного извлечения пчелиного яда совпадают, что позволяет использовать мелиттин в качестве стандарта для спектрометрического количественного

определения действующих веществ в пчелином яде и препаратах на основе пчелиного яда.

Для определения мелиттина в образцах пчелиного яда был построен градуировочный график стандартного образца мелиттина в воде при длине волны 285 нм (рис. 5). Результаты исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Оптическое светопоглощение стандартных растворов мелиттина

Разведение	Массовая доля, %	Оптическое светопоглощение, А	Удельный показатель светопоглощения, А1%1см
10	0,0125	1,62	129,6
8:10	00,1	1,205	120,5
6:10	0,0075	0,947	126,3
4:10	0,005	0,675	135,0
2:10	0,0025	0,355	142,0
1:10	0,00125	0,165	132,0

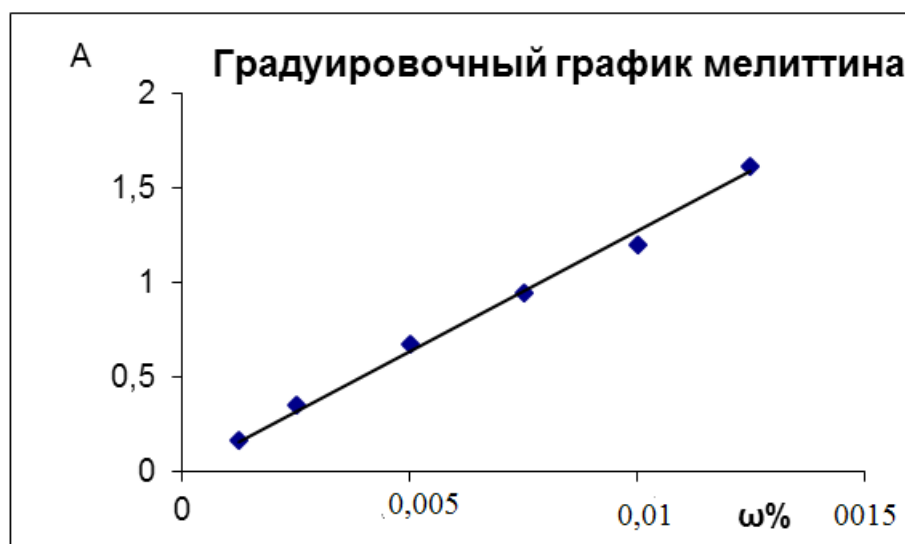


Рисунок 5 – Градуировочный график мелиттина

Как видно из градуировочного графика, подчинение закону Бугера-Ламберта-Бера для раствора мелиттина лежит в пределах 0,01 до 0,125%, что составляет аналитическую область методики. Уравнение градуировочного графика $A = (12,7 \pm 0,6) \cdot \omega$, коэффициент корреляции $r = 0,999$. Среднее значение удельного показателя светопоглощения мелиттина равно $130,8 \pm 0,6$. Другие валидационные характеристики методики рассчитывали согласно фармакопейной статьи «Валидация аналитических методик» [32].

Расчет предела обнаружения (ПО) проводили по формуле: $ПО = 3,3 \times S/b$, где S равно стандартному отклонению свободного члена «а» градуировочного графика. Имеем $ПО = 3,3 \cdot 0,033/12,7 = 0,0086\%$. Пре-

дел количественного определения, рассчитанный по формуле: $ПКО = 10 \times S/b$, составляет $10 \cdot 0,033/12,7 = 0,026\%$.

Для определения правильности методики спектрофотометрического определения мелиттина был выбран образец, в котором Аналитическим центром химического факультета Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова методом жидкостной хроматографии было установлено содержание мелиттина – $30 \pm 1,5\%$.

Далее мы определили содержание мелиттина спектрофотометрическим методом, в том же образце пчелиного яда. Результаты исследований приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты определения содержания мелиттина в образцах пчелиного яда

Пчелиный яд	Найдено, %	Метрологические характеристики
	30,8	
	30,2	
	30,1	
	30,3	
	30,6	
		$f=4$ $p=0,95$ $t=2,78$ $x_{cp} = 30,4$ $E_{отн}, \% = 1,2\%$ $S = 0,29$ $x_{cp} \pm \Delta x = 30,4 \pm 0,4$ $S_x = 0,13$ $\Delta x = 0,4$

Как видно из таблицы 3, содержание мелиттина в одном из образцов пчелиного яда соответственно равно $30,4 \pm 0,4\%$.

Совпадение результатов спектрофотометрического определения мелиттина с результатами определения методом жидкостной хроматографии в пределах погрешности эксперимента позволяет сделать вывод, что предлагаемый метод свободен от систематической погрешности и отличается правильностью. Значение t -критерия, показывающего значимость различия средних, составляет 1,5, что меньше табличного, равного 2,306. Подтверждением правильности методики также может служить статистически незначимое отличие свободного члена «а» в уравнении градуировочного графика от нуля, поскольку $a = 0,027$, а доверительный интервал для «а» составляет 0,092. Это дает

возможность считать «а» равным нулю и от уравнения вида $y = bx + a$ перейти к уравнению вида $y = bx$.

Разработанная методика была применена к фармацевтическим продуктам, содержащим пчелиный яд. Так, спектрофотометрическим методом определили содержание мелиттина в фармацевтических продуктах на основе пчелиного яда: мази «Апизартрон» и креме «Софья с пчелиным ядом».

Высвобождение действующего вещества – мелиттина из выбранных объектов проводили методом диализа по Кривчинскому [27]. В качестве диализной мембраны использовали целлофановую пленку. Средой, в которую диализировалось лекарственное вещество, была вода очищенная. Результаты спектрофотометрического определения мелиттина в продуктах на основе пчелиного яда приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты определения содержания мелиттина в мази «Апизартрон» и креме «Софья с пчелиным ядом»

Мазь «Апизартрон»	Найдено, %	Метрологические характеристики
	0,0182	
	0,0193	
	0,0189	
	0,0187	
	0,0176	
		$f=5$ $p=0,95$ $t=2,57$ $x_{cp} = 0,0185$ $E_{отн}, \% = 3,1$ $S = 0,00066$ $x_{cp} \pm \Delta x = 0,0185 \pm 0,0006$ $S_x = 0,00029$ $\Delta x = 0,00058$
Крем «Софья с пчелиным ядом»	0,0124	
	0,0121	
	0,0132	
	0,0127	
	0,0133	
		$f=5$ $p=0,95$ $t=2,57$ $x_{cp} = 0,0127$ $E_{отн}, \% = 3,5$ $S = 0,00051$ $x_{cp} \pm \Delta x = 0,0127 \pm 0,0005$ $S_x = 0,00023$ $\Delta x = 0,00045$

В результате приведенных исследований установлено, что содержание мелиттина в мази «Апизартрон» – $0,0185 \pm 0,0006\%$, а в креме «Софья» – $0,0127 \pm 0,0005\%$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Установлены физико-химические характеристики мелиттина как основного компонента пчелиного яда. В УФ-спектре 2 пика: $\lambda_{max} = 226 \pm 2$ нм и $285 \text{ нм} \pm 2$ нм, $T_{пл} = 190^\circ\text{C}$. Удельный показатель светопоглощения мелиттина равен 12,7. Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения мелиттина в пчелином яде и продуктах его переработки. Методика валидирована по показа-

телям специфичность, правильность, предел обнаружения, предел количественного определения, линейность. Содержание мелиттина в одном из образцов пчелиного яда составляет $30,4 \pm 0,4\%$. В результате приведенных исследований установлено, что содержание мелиттина в мази «Апизартрон» – $0,0185 \pm 0,0006\%$, а в креме «Софья» – $0,0127 \pm 0,0005\%$.

РЕКОМЕНДАЦИИ. Предложенную методику количественного определения мелиттина в образцах пчелиного яда можно рекомендовать для стандартизации как пчелиного яда, так и лекарственных препаратов на основе пчелиного яда.

INTRODUCTION. In the last decade there has been a growing interest in bee products [1–7]. It is apitherapy that is experiencing its second birth. The story of bees and their products is not only uncompleted, on the contrary, from a scientific point of view, it is just beginning

[8–14]. People realized that no chemistry could replace any natural material, and began to return to drugs produced on a natural basis. The experience of the past centuries and generations using bee products for medicinal purposes, is coming to life again. Therefore, nowadays,

it is vitally important to study both – the composition of apitoxin and its main components [15–29]. Besides, it is necessary to develop a modern, affordable and simple method of the analysis of apitoxin and pharmaceutical products based on it.

THE AIM OF THE STUDY is to investigate physical and chemical characteristics of melittin, the main component of apitoxin, as well as the development of methods for the quantitative determination of melittin in the samples of apitoxin and in the pharmaceutical products made on the basis of apitoxin.

MATERIALS AND METHODS. *Apitoxin.* For our research, all samples of apitoxin were provided by Serbin Yury Pavlovich, a private entrepreneur of the city of Maikop (Krasnodar Region). The presented samples were light yellow powders with a sharp characteristic smell and a bitter taste, soluble in water, acid solutions and alcoholic solutions of different concentrations. Apitoxin has an acidic reaction (pH 4.5–5.5).

Melittin. The reference sample was provided by the Analytical center of the chemistry faculty of Moscow State University n. a. M. V. Lomonosov.

“Apizartron” ointment is the ointment for external use on the basis of apitoxin produced by Esparma GmbH, Germany, series 040033, the date of manufacture was 07/03.

“Sophia. Apitoxin body Balm” cream, produced by LLC Korolevfarm, Russia, by order of scientific production association “Phara Pharm” in compliance with TR. TC 0092011, series: 011821333.

Study of physical and chemical characteristics

The UV spectra of melittin and apitoxin were registered on SF 103 spectrophotometer in quartz cuvettes with 1 cm thickness. The solvent and the comparison solution were purified water.

The IR spectra were investigated on the IR-instrument of Fourier – FSM-1201 spectrophotometer, LLC “Infraspek”.

Determination of melitin by chromatography method

The study was performed on a liquid chromatographic system of “Milligram” using a chromatographic column Pep RPC HR 5/5. The method was developed by the Academy of agrarian Sciences of Ukraine, Institute of beekeeping n. a. P. I. Prokopovich and adopted by Interstate Council for Standardization, Metrology and Certification (Record of proceedings No. 11, ICSMC, dated 23 April 1997) [31].

Methods of spectrophotometric determination of melittin in apitoxin samples

An accurately weighed quantity (1g) of apitoxin was dissolved in 30 ml of distilled water with a little heating and filtered hot. The filter with the undissolved part was again filled with distilled water with a little heating and filtered hot again (this operation was performed twice). The filtrates were combined, and after cooling the extraction was brought to the mark of 100 ml.

If the precipitate fell out upon cooling, the flask was heated before taking an aliquot. Then a volumetric flask with a capacity of 100 ml was taken, 1.0 ml of the obtained aqueous extract was placed in it, brought to the

mark and subjected to the spectrophotometric analysis at the wavelength of 285 nm.

Water was used as a comparison solution. At the same time, the optical density of the reference sample solution of melittin was measured.

Preparation of a solution of a melittin reference sample of for constructing a calibration graph

About 0.125 g (an accurately weighed quantity) of melittin was quantitatively transferred to a volumetric flask with a capacity of 100 ml, dissolved and brought to the mark with purified water. 1 ml of the resulting solution contains 0.00125 g of melittin (solution A). The further dilutions were prepared so: 1 ml, 2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml and 10 ml of solution A were placed in six volumetric flasks per 10 ml (each flask) and brought to the mark with water. The optical light absorption of the obtained solutions was determined on the spectrophotometer (SF-103) at the wavelength of 285 nm was.

Methods of quantitative determination of melittin content in “Apizartron” ointment and “Sophia with apitoxin” cream

The release of melittin from the ointment bases was carried out according to the method of Kruvchinsky [27]. The exact quantity of the investigated ointment weighing 7.0g was placed on a cellophane membrane and then in a dialyzer filled with 100 ml of distilled water. After 24 hours, a quantitative determination of melittin was carried out by spectrophotometry. An aliquot of 25 ml of dialysate was placed in a 100 ml volumetric flask, then the volume was brought to the mark with water. After 5–10 min., the optical absorption was determined on SF 103 spectrophotometer at $\lambda = 285$ nm. The weight fraction of melittin was calculated according to Formula 1:

$$\omega\% = \frac{A \cdot V \cdot 100}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot V_a \cdot m}, \text{ where} \quad (1)$$

A is the optical density of the test solution; $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ is the specific indicator of the optic absorption of melittin, equal to 127; m is the weight of the ointment taken for the analysis (d); V is the volume of the volumetric flask; V_a is an aliquot of dialysate.

The results of the experiment were processed using the Microsoft Excel software package.

RESULTS AND DISCUSSION. The molecule of melitin is a monomer peptide consisting of 26 amino acid residues: $^+\text{H}_3\text{N} - \text{Gly} - \text{Ile} - \text{Gly} - \text{Ala} - \text{Val} - \text{Leu} - \text{Lys}^+ - \text{Val} - \text{Leu} - \text{Thr} - \text{Thr} - \text{Gly} - \text{Leu} - \text{Pro} - \text{Ala} - \text{Leu} - \text{Ile} - \text{Ser} - \text{Trp} - \text{Ile} - \text{Lys}^+ - \text{Arg}^+ - \text{Lys}^+ - \text{Arg}^+ - \text{GLn} - \text{GLn} - \text{CONH}_2$ [14, 24, 28, 29, 30].

It is noteworthy that the melittin molecule does not contain cysteine, in contrast to the neurotoxins of snakes, scorpions, poisonous spiders that are heterodetox peptides and, as a rule, contain several disulfide bridges. The molecular weight of melittin is 2840 Da. There are no negatively charged groups in the melitin molecule, and the positively charged amino acid residues are mainly concentrated in the C – terminal segment, which is the hydrophilic part of the melittin molecule (residues 21–26).

The area of melittin 1–20 is formed mainly by hydrophobic amino acid residues. The only chromophore of melittin is represented by the residual tryptophan, which occupies Position 19 in polypeptide, and that can be successfully used to study melittin and the products containing it, by optical methods. The polypeptide chain of the melittin molecule in the solution assumes the conformation of the correct α -spiral (up to 80%), disturbed by the Proline residue at Position 14. At a high ionic strength of the solution or its high concentration, melittin can be associated with a tetramer formed by two symmetrically arranged pairs of antiparallel protomers [30].

To standardize apitoxin as a raw material for pharmaceuticals, there is no modern regulatory

documentation. To determine the quality of apitoxin, the following regulations are used:

1). Pharmacopoeial item (FS 42-26583-89 “apitoxin”) (expired on 25 April, 2001) [31], developed by the staff of the Department of human and animal physiology and biochemistry of Nizhny Novgorod State University n. a. N.I. Lobachevsky together with the staff of Riga Medical Institute;

2). All-Union State Standard 30426-97 [26], developed by the Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Institute of Beekeeping n. a. P.I. Prokopovich. According to the requirements of the All-Union State Standard, raw apitoxin must meet the parameters specified in Table 1.

Table 1 – Organoleptic and physico-chemical parameters of raw apitoxin [26]

Indicator name	Meaning of indicators
Appearance	Powder in the form of small grains and flakes
Colour	White with a creamy shade or yellowish
Consistency	Powdery
Organoleptic properties	Causes irritation of the mucous membrane, sneezing
Mass fraction of insoluble impurities in water, %	Not more than 5%
Mass fraction of water, %	Not more than 8%
Mass fraction of crude ash, %	Not more than 2%
Activity of phospholipase A 2 in 1 mg of apitoxin in terms of dry weight, IU	Not less than 100 IU
Activity of glucosaminoglycan hydrolase complex (GAGH) in 1 mg, in terms of dry weight, mIU	Not less than 90 mIU
Determining the time of hemolysis, sec.	Not more than 300 sec
Mass fraction of melittin, %	Not less than 50%
Mass fraction of apamine, %	Not less than 2%

As the table shows, the predominant substance of apitoxin, which can be used in pharmacy, should be melittin.

Melittin is determined by the method of column chromatography [8], which is based on the separation of components of apitoxin after their binding to the solid phase of the chromatographic column. This method requires preliminary preparation and the execution technique is quite painstaking. Therefore, at present it is urgent to develop a modern, more convenient method for quantifying melittin not only in the samples of apitoxin, but also in the products of its processing.

As a standard for the development of a quantitative determination, a reference sample of melittin, kindly

provided to us by the Analytical Center of the Chemical Faculty of Moscow State University n. a. M.V. Lomonosov, was selected. The purity of the presented sample was proved by the method of HPLC with diode-matrix detection and tandem mass spectroscopy in the Moscow State University laboratory. The results of the study are shown in Figures 1, 2.

As Figure 1 shows, in the chromatogram there is only one peak, which indicates the purity of the obtained reference sample of melittin. In the chromatograms of apitoxin and pure isolated melittin (Fig. 1, 2) it is clearly seen that the peak corresponding to melittin has the retention time of 12 minutes.

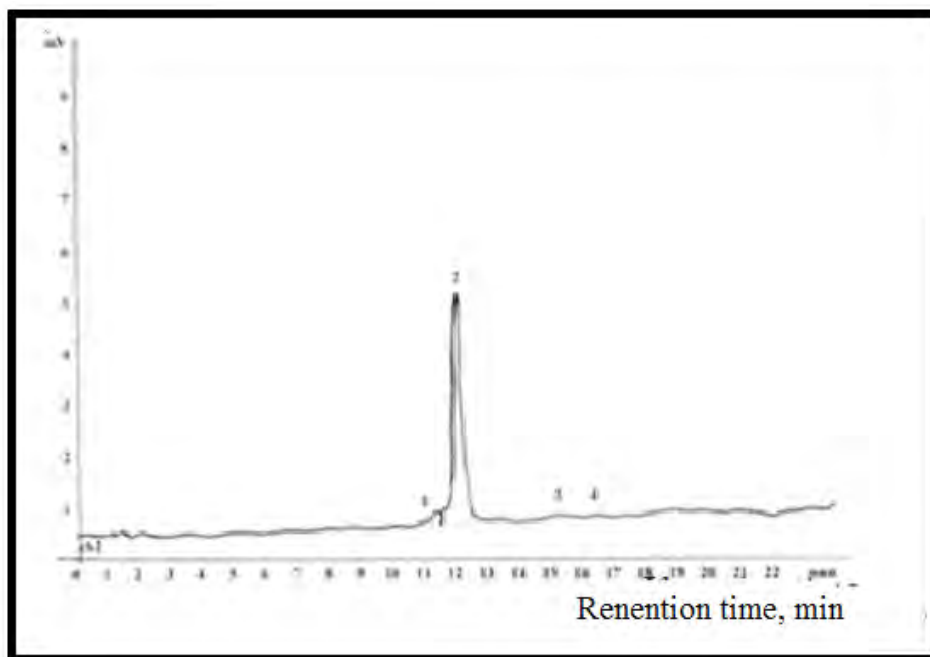


Figure 1 – Chromatogram of a pure melittin sample

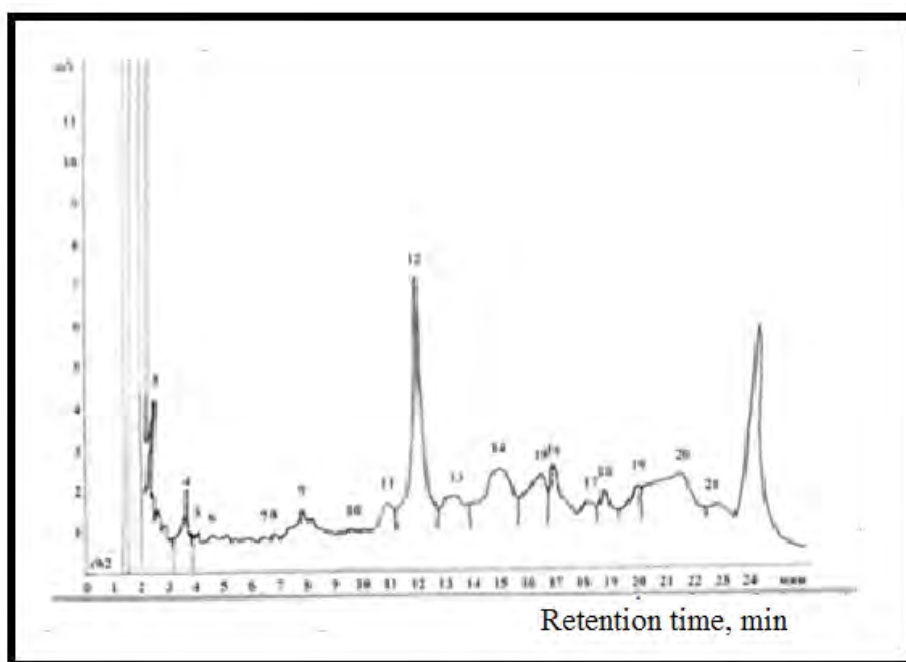


Figure 2 – Chromatogram of a apitoxin sample

As Figure 2 shows, the main predominant component of apitoxin is melittin (Peak 12, corresponding to the retention time of 12 minutes).

For melittin, as a reference sample, the basic physical and chemical characteristics have been established and UV and IR spectra have been studied.

Melittin is a white crystalline powder, highly soluble in water and alcohol. The melting temperature is 190°C.

The IR spectrum is ν_{max} , cm^{-1} : 1506 (C=C ar), 1720 (C=O), 4000–4200 (N-H). The IR spectrum of melittin (Fig. 3) is less informative, as the melittin molecule is dominated by peptide bonds. Therefore, as the figure shows, in addition to the valence vibrations of the hydrocarbon skeleton, pronounced valence vibrations of carbonyl – 1720 cm^{-1} and valence vibrations of N-H bond of amide in the area of 4000–4400 cm^{-1} (a wide band) are clearly visible.

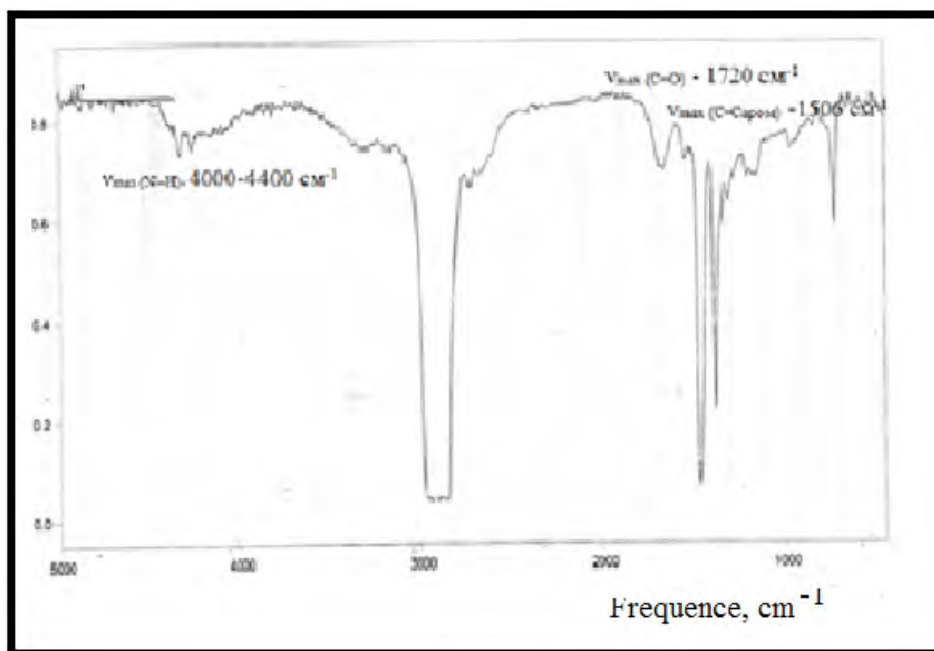


Figure 3 – The IR melittin spectrum

The only melittin chromophore is represented by tryptophan residue, which makes it possible to study melittin and products containing it, using optical research methods. UV-spectrum (H_2O) is λ_{max} , nm (lg ϵ): 217 (1.82), 285 (0.81). In the UV spectrum of melittin (Fig. 4), there

are two absorption maxima: at $\lambda = 285$ nm and $\lambda = 225$ nm. As an analytical wavelength, it is necessary to select a peak with $c\lambda = 285$ nm, since the maximum at $\lambda = 225$ nm is associated with the absorption of light by the internal (screened) benzene ring of the tryptophan molecule.

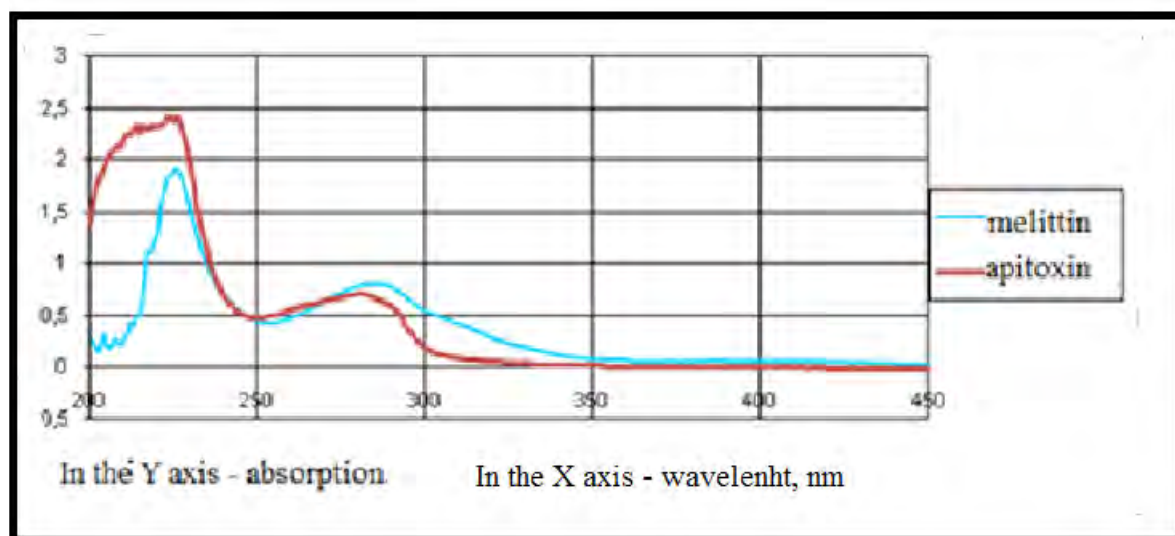


Figure 4 – UV spectra of melittin and apitoxin samples in water

UV spectra of aqueous and alcoholic extracts of various concentrations of apitoxin samples have been studied. As the Fig. 4 shows, the nature of the curve and the position of the maxima of the melittin spectrum and the spectrum of aqueous extraction of apitoxin coincide, making it possible to use melittin as a standard for the

spectrometric quantification of active substances in apitoxin and the preparations based on apitoxin.

To determine melittin in apitoxin samples, a calibration curve of a standard melittin sample in water at the wavelength of 285 nm was constructed (Fig. 5). The results of the studies are shown in Table 2.

Table 2 – Optical light absorption of standard melittin solutions

Dilutions	Weight percent, %	Optical light absorption, A	Specific optical absorbance $A_{1\text{cm}}^{1\%}$
10	0.0125	1.62	129.6
8:10	0.01	1.205	120.5
6:10	0.0075	0.947	126.3
4:10	0.005	0.675	135.0
2:10	0.0025	0.355	142.0
1:10	0.00125	0.165	132.0

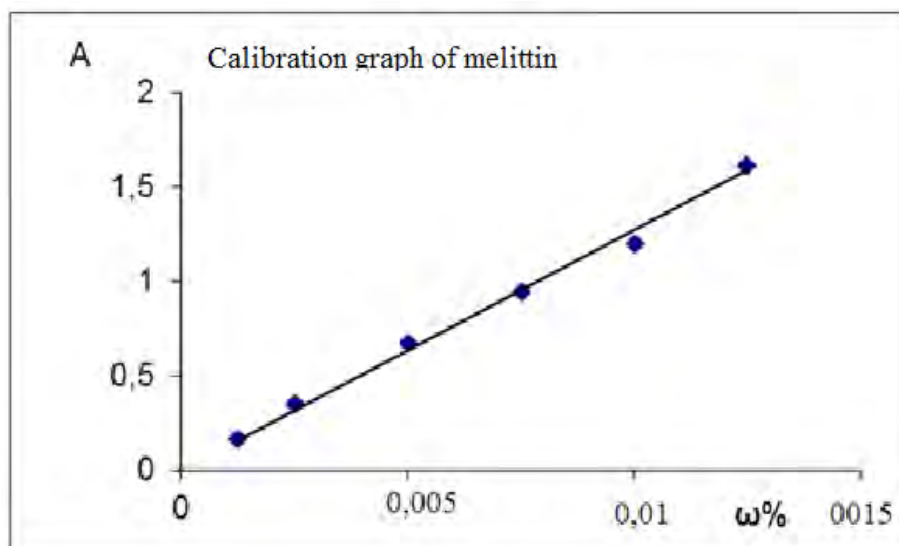


Figure 5 – Calibration graph of melittin

As the calibration graph shows, the subordination of Bouguer-Lambert-Beer law to the melittin solution lies in the range of 0.01 to 0.125%, which is the analytical area of the technique. The equation of the calibration graph is $A = (12.7 \pm 0.6) \omega$, the correlation coefficient is $r = 0.999$. The average value of the specific light absorption coefficient of melittin is 130.8 ± 0.6 . Other validation characteristics of the procedure were calculated according to the pharmacopoeial entry "Validation of analytical methods" [32].

The calculation of the detection limit (DL) was carried out according to the formula: $DL = 3.3 \times S / b$, where S is equal to the standard deviation of the free term "a" of the calibration graph. We have $DL = 3.3 \cdot 0.033 /$

$12.7 = 0.0086\%$. The Quantification Limit (QL) was calculated according to the formula: $QL = 10 \times S / b$, i. e. $10.0,033 / 12.7 = 0.026\%$.

To confirm the correctness of the methods of spectrophotometric melittin determination, a reference sample of melittin, provided to us by the Analytical Center of the Chemical Faculty of Moscow State University n. a. M.V. Lomonosov, was selected. By method of liquid chromatography the content of melittin was established: $30 \pm 1.5\%$.

Further, we determined the content of melittin in the same sample of apitoxin by spectrophotometric method. The results of the studies are shown in Table 3.

Table 3 – Results of determining the content of melittin in apitoxin samples

Apitoxin	Found out, %	Metrological characteristics
	30.8	
	30.2	
	30.1	
	30.3	
	30.6	
		$f=4$ $p=0.95$ $t=2.78$ $x_{cp} = 30.4$ $E_{отн}, \% = 1.2\%$ $S = 0.29$ $x_{cp} \pm \Delta x = 30.4 \pm 0.4$ $S_x = 0.13$ $\Delta x = 0.4$

As Table 3 shows, the content of melittin in one of the apitoxin samples corresponds to the meaning of $30.4 \pm 0.4\%$.

The coincidence of the results of the spectrophotometric determination of melittin with the results of determination by liquid chromatography within the ex-

perimental error allows us to conclude that the proposed method is free of a systematic error and correct. The value of the t-test, showing the significance of the difference in means, is 1.5, which is less than the tabulated one, equal to 2.306. The statistically insignificant difference between the free term "a" from zero in the equation of the

calibration graph can also serve as a confirmation of the correctness of the method, since $a = 0.027$, and the confidence interval for “a” is 0.092. This makes it possible to consider “a” equal to zero and pass on to the equation form “ $y = bx$ ” from the equation form “ $y = ax + a$ ”.

The developed methods was applied to pharmaceutical products containing apitoxin. Thus, the content of melittin in pharmaceutical products based on apitoxin was determined spectrophotometrically:

“Apizarthron” ointment and “Sofia with apitoxin” cream.

The release of the active substance melittin from the selected objects was carried out by dialysis according to Kravchinsky [27]. As a dialysis membrane, a cellophane film was used. The medium in which the drug was dialyzed was purified water. The results of spectrophotometric determination of melittin in products based on apitoxin are given in Table 4.

Table 4 – Results of determining the content of melittin in “Apizarthron” ointment and “Sofia with apitoxin” cream

	Found out, %	Metrological characteristics
"Apizarthron" ointment	0.0182	$f=5$ $p=0.95$ $t=2.57$
	0.0193	$x_{cp} = 0.0185$ $E_{oth}, \% = 3.1$
	0.0189	$S = 0.00066$ $x_{cp} \pm \Delta x = 0.0185 \pm 0.0006$
	0.0187	$S_x = 0.00029$
	0.0176	$\Delta x = 0.00058$
"Sofia with apitoxin" cream	0.0124	$f=5$ $p=0.95$ $t=2.57$
	0.0121	$x_{cp} = 0.0127$ $E_{oth}, \% = 3.5$
	0.0132	$S = 0.00051$ $x_{cp} \pm \Delta x = 0.0127 \pm 0.0005$
	0.0127	$S_x = 0.00023$
	0.0133	$\Delta x = 0.00045$

As a result of the conducted studies, it has been established that the content of melittin in “Apizarthron” ointment is $0.0101 \pm 0.0006\%$ and in “Sophia” cream it is $0.0127 \pm 0.0005\%$.

CONCLUSION. Physical and chemical characteristics of melittin as the main component of apitoxin have been established. In the UV spectrum 2 peaks: $\lambda_{max} = 226 \pm 2$ nm and $285 \text{ nm} \pm 2$ nm, $T_{melt} = 190^\circ\text{C}$. The specific rate of melittin light absorption is 12.7. The spectrophotometric methods of quantitative determination of melittin in apitoxin and products of its processing has been developed. The technique is validated by the specificity, accuracy, detection limit,

limit of quantitative determination, linearity. The content of melittin in one of the samples of apitoxin is $30.4 \pm 0.4\%$. As a result of these studies, the “apophysics” $-0.0185 \pm 0.0006\%$, and in the cream “Sophia” $-0.0127 \pm 0.0005\%$.

As a result of the conducted studies, it has been established that the content of melittin in “Apizarthron” ointment is $0.0101 \pm 0.0006\%$ and in “Sophia” cream it is $0.0127 \pm 0.0005\%$.

RECOMMENDATIONS. The proposed methods for the quantitative determination of melittin in apitoxin samples can be recommended the standardization of both – apitoxin and the drugs based on apitoxin.

Библиографический список

- Bradshaw J.P., Dempsey C.E., Watts A. A combined X-ray and neutron diffraction study of selectively deuterated melittin in phospholipid bilayers: effect of pH // *Mol Membr Biol.* 1994. Vol. 11. Is. 2. P. 79–86.
- Walsh E.G., Maher S., Devocelle M., O'Brien P.J., Baird A.W., Brayden D.J. High content analysis to determine cytotoxicity of the antimicrobial peptide, melittin and selected structural analogs. *Peptides.* 2011. Vol. 32. Is. 8. P. 1764–1773. DOI: 10.1016/j.peptides.2011.06.006
- Zhou J., Zhao J., Zhang S., Shen J., Qi Y., Xue X., Li Y., Wu L., Zhang J., Chen F., Chen L. Quantification of melittin and apamin in bee venom lyophilized powder from *Apis mellifera* by liquid chromatography-diode array detector-tandem mass spectrometry // *Anal Biochem.* 2010. Vol. 404. Is. 2. P. 171–178. DOI: 10.1016/j.ab.2010.05.014
- Lee W.R., Kim K.H., An H.J., Kim J.Y., Han S.M., Lee K.G., Park K.K. Protective effect of melittin against inflammation and apoptosis on *Propionibacterium acnes*-induced human THP-1 monocytic cell // *Eur J Pharmacol.* 2014. Vol. 740. P. 218–226. DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.06.058
- Stankowski S., Pawlak M., Kaisheva E., Robert C.H., Schwarz G. A combined study of aggregation, membrane affinity and pore activity of natural and modified melittin. *Biochim Biophys Acta.* 1991. Vol. 1069. P. 77–86.
- Choe J.Y., Kim S.K. Melittin inhibits osteoclast formation through the downregulation of the RANKL-RANK signaling pathway and the inhibition of interleukin-1 β in murine macrophages // *Int J Mol Med.* 2017 Feb 3. DOI: 10.3892/ijmm.2017.2876
- Gajski G., Garaj-Vrhovac V. Melittin: a lytic peptide with anticancer properties // *Environ Toxicol Pharmacol.* 2013. Vol. 36. Vol. 2. P. 697–705. DOI: 10.1016/j.etap.2013.06.009

8. Nordvall S.L., Uhlin T., Einarsson R., Johansson S.G., Ohman S. Bee keepers' IgG and IgE antibody responses to bee venom studied by means of crossed radioimmuno-electrophoresis // *Clin Allergy*. 1984. Vol. 14. Is. 4. P. 341–350.
9. Kulkarni H.M., Nagaraj R., Jagannadham M.V. Protective role of E. coli outer membrane vesicles against antibiotics // *Microbiol Res*. 2015. Vol. 181. P. 1–7. DOI:10.1016/j.micres.2015.07.008
10. Gajski G., Garaj-Vrhovac V. Melittin: a lytic peptide with anticancer properties // *Environ Toxicol Pharmacol*. 2013. Vol. 36. Is. 2. P. 697–705. DOI: 10.1016/j.etap.2013.06.009
11. Dempsey C.E. The actions of melittin on membranes // *Biochim Biophys Acta*. 1990. Vol. 1031. Is. 2. P. 143–161.
12. Choi J.H., Jang A.Y., Lin S., Lim S., Kim D., Park K., Han S.M., Yeo J.H., Seo H.S. Melittin, a honeybee venom-derived antimicrobial peptide, may target methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // *Mol Med Rep*. 2015. Vol. 12. Is. 5. P. 6483–6490. DOI: 10.3892/mmr.2015.4275
13. Demchenko A.P., Kostrzewska E.G. Melittin: structure, properties, interaction with a membrane // *Ukr Biokhim Zh* (1978). 1986. Vol. 58. Is. 5. P. 92–103.
14. Ridgway Z., Picciano A.L., Gosavi P.M., Moroz Y.S., Angevine C.E., Chavis A.E., Reiner J.E., Korendovych I.V., Caputo G.A. Functional characterization of a melittin analog containing a non-natural tryptophan analog // *Biopolymers*. 2015. Vol. 104. Is. 4. P. 384–394. DOI: 10.1002/bip.22624
15. Casado M.P., Macken A., Byrne H.J. Ecotoxicological assessment of silica and polystyrene nanoparticles assessed by a multitrophic test battery // *Environ Int*. 2013. Vol. 51. P. 97–105. DOI: 10.1016/j.envint.2012.11.001
16. Tusiimire J., Wallace J., Dufton M., Parkinson J., Clements C.J., Young L., Park J.K., Jeon J.W., Watson D.G. An LCMS method for the assay of melittin in cosmetic formulations containing bee venom // *Anal Bioanal Chem*. 2015. Vol. 407. Is. 13. P. 3627–3635. DOI: 10.1007/s00216-015-8578-5
17. Kokot Z.J., Matysiak J., Urbaniak B., Dereziński P. New CZE-DAD method for honeybee venom analysis and standardization of the product // *Anal Bioanal Chem*. 2011. Vol. 399. Is. 7. P. 2487–2494. DOI: 10.1007/s00216-010-4627-2
18. Tusiimire J., Wallace J., Dufton M., Parkinson J., Clements C.J., Young L., Park J.K., Jeon J.W., Watson D.G. An LCMS method for the assay of melittin in cosmetic formulations containing bee venom // *Anal Bioanal Chem*. 2015. Vol. 407. Is. 13. P. 3627–3635. DOI: 10.1007/s00216-015-8578-5
19. Zenon J.K., Jan M. Simultaneous determination of major constituents of honeybee venom by LC-DAD // *Chromatographia*. 2009. Vol. 69. P. 1401–1405.
20. Szokan G., Horvath J., Almas M. Liquid chromatographic analysis and separation of polypeptide components from honey bee venoms // *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol*. 1994. Vol. 17. P. 3333–3349.
21. Zhao J. Determination of melittin in bee venom by HPLC // *Chin. Mod. Instrum*. 1998. Vol. 6. P. 44–45.
22. Ziyaviddinov Z.F., Inogamov U.K., Sagdiev N.Z., Salikhov S.I. Development of a method for the complex isolation of physiologically active components from bee venom // *Chem. Nat. Compounds*. 1995. Vol. 31. P. 726–730.
23. Zhou J., Zhao J., Zhang S. Quantification of melittin and apamin in bee venom lyophilized powder from *Apis mellifera* by liquid chromatography – diode array detector – tandem mass spectrometry // *Anal. Biochem*. 2010. Vol. 404. P. 171–178.
24. Demchenko A.P., Kostrzewska E.G. Melittin: structure, properties, interaction with a membrane // *Ukr Biokhim Zh* (1978). 1986. Vol. 58. Is. 5. P. 92–103.
25. Омаров Ш.М., Атаев М.Г., Магомедова З.Ш., Омарова З.М. «Роль пчелиного яда и прополиса» // *Вестник международной академии наук (русская секция)*. 2006. Т. 1. С. 36–42.
26. ГОСТ 30426-97. Яд-сырец пчелиный. Технические условия. Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 2000.
27. Быков В.А., Демина Н.Б., Кеменова В.А. Изучение влияния различных факторов на высвобождение лекарственных веществ из матричных таблеток // *Хим.-фарм. журнал*. 2005. №5. С. 40–45.
28. Хомутов А.Е., Гинойн Р.В., Лушникова О.В., Пурсанов К.А. Апитерапия. Монография. Нижний Новгород: Изд-во ННГУ. 2014. 442 с.
29. Ахмерова Д.И., Ставрианиди А.Н., Родин И.А., Шпигун О.А. Применение метода высокоэффективной жидкостной хроматографии-тандемной масс-спектрометрии для обнаружения характеристичного пептида пчелиного яда – мелиттина. «Заводская лаборатория. Диагностика материалов» № 12. 2014. Том 80. С. 9–15.
30. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х.Я. Аминокислоты, пептиды, белки: Пер. с нем. М.: Мир, 1985. 456 с.
31. Фармакопейная статья «Яд пчелиный» ФС-42-2683-89 (утратила силу с 25 апреля 2001 года). URL: <http://docs.cntd.ru/document/902314733> (дата обращения: 14.02.2017)
32. Государственная Фармакопея, XIII издание. ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. URL: <http://pharmacopoeia.ru/ofs-1-1-0012-15-validatsiya-analiticheskikh-metodik/> (дата обращения: 14.02.2017)

References

1. Bradshaw JP, Dempsey CE, Watts A. A combined X-ray and neutron diffraction study of selectively deuterated melittin in phospholipid bilayers: effect of pH. *Mol Membr Biol*. 1994 Apr-Jun;11(2):79–86.
2. Walsh EG, Maher S, Devocelle M, O'Brien PJ, Baird AW, Brayden DJ. High content analysis to determine cytotoxicity of the antimicrobial peptide, melittin and selected structural analogs. *Peptides*. 2011 Aug;32(8):1764–73. doi:10.1016/j.peptides.2011.06.006
3. Zhou J, Zhao J, Zhang S, Shen J, Qi Y, Xue X, Li Y, Wu L, Zhang J, Chen F, Chen L. Quantification of melittin and apamin in apitoxin lyophilized powder from *Apis mellifera* by liquid chromatography-diode array detector-tandem mass spectrometry. *Anal Biochem*. 2010 Sep 15;404(2):171–8. DOI: 10.1016/j.ab.2010.05.014

4. Lee WR, Kim KH, An HJ, Kim JY, Han SM, Lee KG, Park KK. Protective effect of melittin against inflammation and apoptosis on *Propionibacterium acnes*-induced human THP-1 monocytic cell. *Eur J Pharmacol.* 2014 Oct 5;740:218–26. DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.06.058
5. Stankowski S, Pawlak M, Kaisheva E, Robert CH, Schwarz G. A combined study of aggregation, membrane affinity and pore activity of natural and modified melittin. *Biochim Biophys Acta.* 1991 Oct 14; 1069(1):77–86.
6. Choe JY, Kim SK. Melittin inhibits osteoclast formation through the downregulation of the RANKL-RANK signaling pathway and the inhibition of interleukin-1 β in murine macrophages. *Int J Mol Med.* 2017 Feb 3. DOI: 10.3892/ijmm.2017.2876
7. Gajski G, Garaj-Vrhovac V. Melittin: a lytic peptide with anticancer properties. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2013 Sep;36(2):697–705. DOI: 10.1016/j.etap.2013.06.009
8. Nordvall SL, Uhlin T, Einarsson R, Johansson SG, Ohman S. Bee keepers' IgG and IgE antibody responses to apitoxin studied by means of crossed radioimmuno-electrophoresis. *Clin Allergy.* 1984 Jul;14(4):341–50.
9. Kulkarni HM, Nagaraj R, Jagannadham MV. Protective role of *E. coli* outer membrane vesicles against antibiotics. *Microbiol Res.* 2015 Dec;181:1–7. DOI:10.1016/j.micres.2015.07.008
10. Gajski G, Garaj-Vrhovac V. Melittin: a lytic peptide with anticancer properties. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2013 Sep;36(2):697–705. DOI: 10.1016/j.etap.2013.06.009
11. Dempsey CE. The actions of melittin on membranes. *Biochim Biophys Acta.* 1990 May 7;1031(2):143–61.
12. Choi JH, Jang AY, Lin S, Lim S, Kim D, Park K, Han SM, Yeo JH, Seo HS. Melittin, a honeyapitoxin derived antimicrobial peptide, may target methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Mol Med Rep.* 2015 Nov;12(5):6483–90. DOI: 10.3892/mmr.2015.4275
13. Demchenko AP, Kostzhevskaya EG. Melittin: structure, properties, interaction with a membrane. *Ukr Biokhim Zh (1978).* 1986 Sep-Oct;58(5):92–103. Russian.
14. Ridgway Z, Picciano AL, Gosavi PM, Moroz YS, Angevine CE, Chavis AE, Reiner JE, Korendovych IV, Caputo GA. Functional characterization of a melittin analog containing a non-natural tryptophan analog. *Biopolymers.* 2015 Jul;104(4):384–394. DOI: 10.1002/bip.22624
15. Casado MP, Macken A, Byrne HJ. Ecotoxicological assessment of silica and polystyrene nanoparticles assessed by a multitrophic test battery. *Environ Int.* 2013 Jan;51:97–105. DOI: 10.1016/j.envint.2012.11.001
16. Tusiimire J, Wallace J, Dufton M, Parkinson J, Clements CJ, Young L, Park JK, Jeon JW, Watson DG. An LCMS method for the assay of melittin in cosmetic formulations containing apitoxin. *Anal Bioanal Chem.* 2015 May;407(13):3627–35. DOI: 10.1007/s00216-015-8578-5
17. Kokot ZJ, Matysiak J, Urbaniak B, Dereziński P. New CZE-DAD method for honeyapitoxin analysis and standardization of the product. *Anal Bioanal Chem.* 2011 Mar;399(7):2487–94. DOI: 10.1007/s00216-010-4627-2
18. Tusiimire J, Wallace J, Dufton M, Parkinson J, Clements CJ, Young L, Park JK, Jeon JW, Watson DG. An LCMS method for the assay of melittin in cosmetic formulations containing apitoxin. *Anal Bioanal Chem.* 2015 May;407(13):3627–35. DOI: 10.1007/s00216-015-8578-5
19. Zenon JK, Jan M. Simultaneous determination of major constituents of honeyapitoxin by LC-DAD. *Chromatographia.* 2009;69:1401–5.
20. Szokan G, Horvath J, Almas M. Liquid chromatographic analysis and separation of polypeptide components from honey apitoxins. *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.* 1994;17:3333–49.
21. Zhao J. Determination of melittin in apitoxin by HPLC. *Chin. Mod. Instrum.* 1998;6:44–5.
22. Ziyavtudinov ZF, Inogamov UK, Sagdiev NZ, Salikhov SI. Development of a method for the complex isolation of physiologically active components from apitoxin. *Chem. Nat. Compounds.* 1995;31:726–30.
23. Zhou J, Zhao J, Zhang S. Quantification of melittin and apamin in apitoxin lyophilized powder from *Apis mellifera* by liquid chromatography – diode array detector – tandem mass spectrometry. *Anal. Biochem.* 2010;404:171–8.
24. Demchenko AP, Kostzhevskaya EG. Melittin: structure, properties, interaction with a membrane. *Ukr Biokhim Zh (1978).* 1986 Sep-Oct;58(5):92–103. Review. Russian.
25. Omarov ShM, Ataev MG, Magomedova ZSh, Omarova ZM. «Rol pchelinoogo yada i propolisa» [“The role of bee venom and propolis”]. *Vestnik mejdunarodnoy akademii nauk (russkaya sektsiya).* 2006;1:36–42. Russian.
26. GOST 30426-97. YAd-syirets pchelinyiy. Tehnicheskie usloviya [Beef raw bee poison. Technical conditions.]. Minsk: Mejdgosudarstvennyiy sovet po standartizatsii, metrologii i sertifikatsii; 2000. Russian.
27. Byikov VA, Demina NB, Kemenova VA. Izucheniye vliyaniya razlichnykh faktorov na vyisvobojdeniye lekarstvennykh veshchestv iz matrichnykh tabletok [The study of the influence of various factors on the release of drugs from matrix tablets]. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal.* 2005;5:40–5. Russian.
28. Homutov AE, Ginoyan RV, Lushnikova OV, Pursanov KA. Apiterapiya [Apitherapy]. Monografiya. Nijniy Novgorod: Izd-vo NNGU; 2014. 442 p. Russian.
29. Ahmerova DI, Stavrianidi AN, Rodin IA, Shpigun OA. Primeneniye metoda vyisokoeffektivnoy jidkostnoy hromatografii-tandemnoy mass-spektrometrii dlya obnaruzeniya harakteristichnogo peptida pchelinoogo yada – melittina [The use of high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the detection of characteristic peptides of bee venom-melittin]. «Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov» N 12. 2014;80:9–15. Russian.
30. Yakubke HD, Eshkayt XYa. Aminokisloty, peptidy, belki [Amino acids, peptides, proteins]. *Per. s nem. Mockva: Mir;* 1985. 456 p. Russian.
31. Farmakopeynaya statya «YAd pchelinyiy» FS-42-2683-89 (utratila silu s 25 aprelya 2001 goda). [Internet]. [cited 2017 Feb 14]. Available from: <http://docs.cntd.ru/document/902314733> Russian.
32. Gosudarstvennaya Farmacopeia [State Pharmacopoeia]. XIII edition. OFS.1.1.0012.15 Validatsiya analiticheskikh metodik. [Internet]. [cited 2017 Feb 14]. Available from: <http://pharmacopoeia.ru/ofs-1-1-0012-15-validatsiya-analiticheskikh-metodik/> Russian.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Авторы

Бутенко Людмила Ивановна – кандидат химических наук, преподаватель кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: химия природных соединений, исследование физико-химических характеристик биологически активных соединений природного происхождения. E-mail: polechka2802@yandex.ru.

Кулешова Светлана Анатольевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: исследование фармакологической активности биологически активных соединений природного происхождения.

Подгорная Жанна Валериевна – кандидат фармацевтических наук, Представительство BRACCO Group в России, Региональный директор. Область научных интересов: химия природных соединений. E-mail: podgornaya_janna@mail.ru.

Мыкоц Лилия Петровна – кандидат фармацевтических наук, доцент, кафедра общей, неорганической и физической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: физико-химические исследования биологически активных веществ.

Дмитриев Александр Борисович – кандидат химических наук, доцент, кафедра аналитической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: физико-химические исследования биологически активных веществ. E-mail: abdmtr2006@yandex.ru.

Authors:

Butenko Lyudmila Ivanovna – PhD (Chemistry), Lecturer of the Department of Organic Chemistry Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: chemistry of natural compounds, study of physical and chemical characteristics of biologically active compounds of natural origin. E-mail: polechka2802@yandex.ru

Kuleshova Svetlana Anatolevna – PhD (Pharmacy), docent of the Department of Pharmacology with the course of Clinical Pharmacology, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: study of pharmacological activity of biologically active compounds of natural origin.

Podgornaya Janna Valerievna – PhD (Pharmacy), Representative establishment of BRACCO Group in Russia. Research interests: chemistry of natural compounds. E-mail: podgornaya_janna@mail.ru

Myikots Liliya Petrovna – PhD (Pharmacy), docent of the Department of general, inorganic and physical chemistry Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: study of physical and chemical characteristics of biologically active compounds.

Dmitriev Aleksandr Borisovich – PhD (Chemistry), docent of the Department of Analytical Chemistry Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: study of physical and chemical characteristics of biologically active compounds. E-mail: abdmtr2006@yandex.ru.

Поступила в редакцию: 19.04.2018
Отправлена на доработку: 11.07.2018
Принята к печати: 01.08.2018

Received: 19.04.2018
Sent back for revision: 11.07.2018
Accepted for publication: 01.08.2018

УДК 615.243.4: 616.33: 547.785.51



ПРОТИВОЯЗВЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ДИНИТРАТА 2-ФЕНИЛ-9-ДИЭТИЛАМИНОЭТИЛИМИДАЗО[1,2-А]БЕНЗИМИДАЗОЛА ПРИ ГЕЛИКОБАКТЕРОПОДОБНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА

М.В. Черников, М.А. Оганова, А.С. Герасименко, Е.А. Артемьев

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России,
357500, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11

Поиск новых лекарственных средств, обеспечивающих эффективную и безопасную терапию кислото-зависимых заболеваний желудочно-кишечного тракта, продолжает оставаться актуальной проблемой современной фармакотерапии. Одним из наиболее значимых патогенетических механизмов развития данных заболеваний является, ассоциированное с *Helicobacter pylori*, повреждение слизистой оболочки желудка. **Целью** данного исследования явилось экспериментальное изучение противоязвенной активности субстанции 2-фенил-9-диэтиламиноэтилимидазо [1,2-а] бензимидазола (далее субстанция, производное бензимидазола) на модели геликобактероподобного повреждения слизистой желудка в сочетании с иммобилизационным стрессом. **Материалы и методы.** Для моделирования повреждения слизистой оболочки экспериментальным животным (белые крысы-самцы линии Wistar) вводили 120 ммоль/л раствора аммиака после 24-часового иммобилизационного стресса. В качестве препаратов сравнения были выбраны официальные противоязвенные средства, широко применяемые в клинической практике: ранитидин (30 мг/кг, 10 мг/кг и 3 мг/кг) и омепразол (3 мг/кг, 1 мг/кг и 0,3 мг/кг). Изучаемое соединение использовалось в дозах 30 мг/кг, 10 мг/кг и 3 мг/кг. Максимальные дозы препаратов сравнения рассчитывались исходя из максимальной суточной дозы для человека с учетом межвидового коэффициента пересчета. Максимальная доза исследуемого вещества была подобрана экспериментально. Для удобства дальнейших расчетов значения ED_{50} был использован логарифмический диапазон доз. Все исследуемые объекты вводились внутрижелудочно с помощью атравматичного зонда. **Результаты и обсуждение.** Установлено, что изучаемая субстанция достоверно относительно контрольных значений снижала площадь повреждения слизистой оболочки при моделировании геликобактероподобного повреждения, спровоцированного введением раствора аммиака на фоне ишемии слизистой желудка после 24-часовой иммобилизации. При этом, в группах животных, получавших производное бензимидазола в дозе 30 мг/кг, ингибирование образования эрозий достигло 78%, в то время как в группах, получавших ранитидин и омепразол 66% и 50% соответственно. Расчетные значения ED_{50} для изучаемой субстанции составили 16,03 мг/кг, а для ранитидина – 15,99 мг/кг. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что изучаемое производное бензимидазола превосходит аналоги по способности подавлять изъязвление слизистой желудка, спровоцированное геликобактероподобным воздействием, что подтверждает актуальность дальнейшего исследования противоязвенной активности и разработки готовой лекарственной формы на его основе.

Ключевые слова: 2-фенил-9-диэтиламиноэтилимидазо[1,2-а] бензимидазол, противоязвенное действие, геликобактероподобная язва

Для цитирования:

Черников М.В., Оганова М.А., Герасименко А.С., Артемьев Е.А.
ПРОТИВОЯЗВЕННАЯ АКТИВНОСТЬ
ДИНИТРАТА 2-ФЕНИЛ-9-ДИЭТИЛАМИНО-
ЭТИЛИМИДАЗО[1,2-А]БЕНЗИМИДАЗОЛА ПРИ
ГЕЛИКОБАКТЕРОПОДОБНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ
СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА.
Фармация и фармакология. 2018;6(4):367-379.
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-367-379
© Черников М.В., Оганова М.А., Герасименко А.С.,
Артемьев Е.А., 2018

For citation:

Chernikov M.V., Oganova M.A., Gerasimenko A.S.,
Artemyev E.A.
ANTIULCER ACTIVITY OF DINITRATE
2-PHENYL-9-DIETHYLAMINOETHYL-
AMINE[1,2-A]BENZIMIDAZOLE WITH
HELICOBACTER PYLORI-LIKE DAMAGE
OF GASTRIC MUCOSA.
Pharmacy & Pharmacology. 2018;6(4):367-379. (In Russ.)
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-367-379

ANTIULCER ACTIVITY OF DINITRATE 2-PHENYL-9-DIETHYLAMINOETHYLAMINE[1,2-A]BENZIMIDAZOLE WITH HELICOBACTER PYLORI-LIKE DAMAGE OF GASTRIC MUCOSA

M.V. Chernikov, M.A. Oganova, A.S. Gerasimenko, E.A. Artemyev

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

The search for new drugs providing effective and safe therapy of acid-dependent diseases of the gastrointestinal tract, continues to be an actual problem of modern pharmacotherapy. One of the most significant pathogenetic mechanisms of these diseases is associated with *Helicobacter pylori* damage to the gastric mucosa. **The aim** of this study is the experimental investigation of the antiulcer effect of 2-phenyl-9-diethylaminoethylamine [1,2-a] benzimidazole substance (hereinafter a Benzimidazole derivative substance) on the model of *Helicobacter pylori*-like gastric mucosal injury in combination with immobilization stress (a restraint). **Materials and methods.** For modeling a mucous membrane damage to experimental animals (white Wistar male rats), they were injected 120 mmol/l ammonia solution after a 24-hour immobilization stress (restraint). As reference drugs, the following officinal anti-ulcer drugs widely used in clinical practice, had been chosen: Rranitidine (30 mg/kg, 10 mg/kg and 3 mg/kg) and Omeprazole (3 mg/kg, 1 mg/kg and 0.3 mg/kg). The study substance was used in the doses of 30 mg/kg, 10 mg/kg and 3 mg/kg. The maximum doses of the reference drugs were calculated on the basis of maximum daily doses for humans, taking into consideration the interspecies conversion factor. The maximum dose of the substance under study was selected experimentally. The logarithmic dose range was used for the convenience of further calculations of the ED_{50} value. All the studied objects were introduced intragastrically through a non-traumatic tube. **Results and discussion.** It has been established that the studied substance significantly reduced the area of mucosal damage relative to the control values in modeling *Helicobacter pylori*-like gastric mucosal injury provoked by the administration of ammonia solution against the background of gastric mucosal ischemia after a 24-hour restraint. At the same time, the inhibition of ulceration reached 78%, while in the groups receiving Ranitidine and Omeprazole, it reached 66% and 50%, respectively. The calculated ED_{50} values were the following: for the substance under study – 16.03 mg/kg, and for Ranitidine – 15.99 mg/kg. **Conclusion.** The gained results indicate that the studied Benzimidazole derivative is superior to analogs in its ability to suppress gastric mucosal ulceration provoked by *Helicobacter pylori*-like gastric mucosal injury, which confirms the relevance of further study of anti-ulcer activity and the development of the pharmaceutical dosage form based on it.

Keywords: 2-phenyl-9-diethylaminoethylamine[1,2-a] benzimidazole, antiulcer effect, *Helicobacter pylori*-like ulcer

ВВЕДЕНИЕ. Изостерность бензимидазольного ядра с пуриновыми основаниями ДНК, а также его присутствие в структуре витамина B_{12} , обуславливает ему роль привилегированной структуры с точки зрения разработки молекул с терапевтическим свойствами [1, 2]. Спектр биологической активности производных бензимидазолов включает противовирусную [3], противогрибковую [4, 5], антимикробную [6], противораковую [7, 8], антигельминтную [9], анальгетическую и жаропонижающую [10, 11], антидиабетическую [12], антипротозойную [13], антиоксидантную [14], противоконвульсивную [5, 15], антипсихотическую [16], противоязвенную [17], противотуберкулезную [18], анестезирующую [19] и др. виды активности.

Как известно, одной из наиболее частых причин возникновения эрозивно-язвенных дефектов слизистой оболочки является грамотрицательная анаэробная палочка *Helicobacter pylori* [20]. Эта бактерия обладает уреазной активностью. Уреаза превращает мочевины в аммиак, который нейтрализует соляную кислоту, вызывая местное защелачивание, способствующее пенетрации бактерии вглубь слизистой оболочки сквозь защитный слизистый барьер. Амми-

ак, в свою очередь, раздражает G-клетки, вырабатывающие гастрин, стимулирующий выработку соляной кислоты. Часть бактерий проникает в слизистую, разрушая межэпителиальные контакты, вызывая дистрофию и атрофию клеток за счет своей фосфолипазной активности. Разрушение защитных белковых компонентов и муцина способствует проникновению бактерий вглубь слизистой желудка, формируя язвенные дефекты. Аммиак вызывает повреждение D-клеток, вырабатывающих соматостатин. При этом выброс гастрина, регулируемый соматостатином, перестает контролироваться, что, в итоге, еще больше усиливает выработку соляной кислоты [21].

На фоне воздействия *Helicobacter pylori* в подслизистом слое формируется воспалительный инфильтрат, происходит некроз эпителия с образованием язвенного дефекта, а гастрин-опосредованная гиперсекреция соляной кислоты обеспечивает его прогрессию [22].

Одной из наиболее распространенных методик моделирования геликобактероподобных язвенных повреждений является монохлорамин-индуцированная язва, так как монохлорамин быстро распадается до аммиака, воздействие которого на

слизистую оболочку желудка служит основным патогенетическим звеном *Helicobacter pylori*, ассоциированного язвообразования. Так как *Helicobacter pylori*, как правило, вызывает развитие язвенных дефектов на фоне снижения протекторного действия слизисто-бикарбонатного барьера, наиболее часто опосредованного ишемическими состояниями, одной из методик геликобактероподобной язвы было моделирование дефектов слизистой при введении аммиака на фоне острой ишемии, вызванной снижением системного объема циркулирующей крови за счет кровопускания из сонной артерии. Данная методика позволяет достичь высокой воспроизводимости, однако сопряжена с хирургическими манипуляциями, что увеличивает трудоемкость и риск гибели животных [23, 24]. В связи с этим была предложена модификация методики моделирования геликобактероподобной язвы с использованием иммобилизационного стресса в качестве провоцирующего ишемического фактора.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Экспериментальное исследование противоязвенной активности субстанции 2-фенил-9-диэтиламиноэтилимидазо [1,2-а] бензимидазола на модели геликобактероподобного повреждения слизистой желудка в сочетании с иммобилизационным стрессом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Животные. Исследование фармакологической активности было выполнено на аутбредных крысах-самцах *Wistar* (возраст 10–12 недель) весом 180,0–250,0 г. Разброс по исходной массе животных в группе не превышал 10% [25].

Условия содержания животных соответствовали требованиям постановления Главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 №51 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».

Манипуляции с экспериментальными животными выполнялись в соответствии с общепринятыми этическими нормами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (1986) и с учетом Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997) [26, 27].

Дизайн исследования. Оценка противоязвенного действия изучаемой субстанции проводилась в дозах 3 мг/кг, 10 мг/кг и 30 мг/кг. В качестве объектов сравнения были использованы субстанции омепразола 0,3 мг/кг, 1 мг/кг и 3 мг/кг (*Sigma Aldrich*, США), субстанция ранитидина 3 мг/кг, 10 мг/кг и 30 мг/кг (*Sigma Aldrich*, США).

Максимальный объем для внутрижелудочного введения крысам не превышал 3 мл для животных массой до 200 г, 5 мл для животных от 200 до 240 г и 6 мл для животных массой более 240 г.

С целью снижения активности защитного слизисто-бикарбонатного барьера был использован иммобилизационный стресс (24 часа) с принудительным введением воды. Через 24 часа иммобилизации животным вводили раствор аммиака в концентрации 120 ммоль/л.

В ходе экспериментального исследования животные были разделены на 4 группы по 10 особей в каждой. Контрольная группа получала раствор аммиака (120 ммоль/л) из расчета 1 мл на 100 г внутрижелудочно однократно. Изучаемое производное бензимидазола и препараты сравнения вводились за 1 час до введения раствора аммиака в опытных группах. Эвтаназию животных проводили через 2 часа после введения раствора аммиака.

Определяемые показатели. Для оценки тяжести повреждения при исследовании противоязвенного действия при моделировании всех патологических состояний применяли систему баллов [28].

В каждой группе подсчитывают сумму баллов, из которой выводили среднюю арифметическую величину, характеризующую среднюю степень изъязвления в группе.

Кроме того, в группе рассчитывают индекс изъязвления (ИИ). В индексе изъязвления отражены как процент частоты животных с язвами, так и степень дистрофических нарушений в желудке.

Статистическая обработка. Полученные экспериментальные данные анализировались с использованием метода вариационной статистики. В итоговых таблицах представлены средние значения по группе (M) и стандартная ошибка среднего значения (m). Межгрупповые различия анализировались с помощью непараметрического критерия – U -критерий Манна–Уитни. Различия определялись при 0,05 уровне значимости. Для статистической обработки результатов использовали пакет программ «StatPlus 2009».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. С целью оценки эффективности сочетания иммобилизационного стресса и воздействия раствора аммиака при моделировании эрозивно-язвенных дефектов слизистой, предварительно были проведены эксперименты по изучению влияния 24-часового иммобилизационного стресса (без воздействия раствора аммиака) и воздействия раствора аммиака без предварительной иммобилизации как независимых ulcerогенных факторов. Полученные результаты показали, что в слизистой желудка некоторых животных (20–30%) наблюдались незначительные повреждения, которыми, в целом, можно было пренебречь, как не влияющим на статистические расчеты при оценке комбинированного химического и стрессогенного воздействия.

Сочетание иммобилизационного стресса с введением раствора аммиака способствовало развитию эрозивных повреждений слизистой, площадь которых колебалась от 20 до 170 мм²/животное (рис. 1). Воспроизводимость метода составила 90–100%.

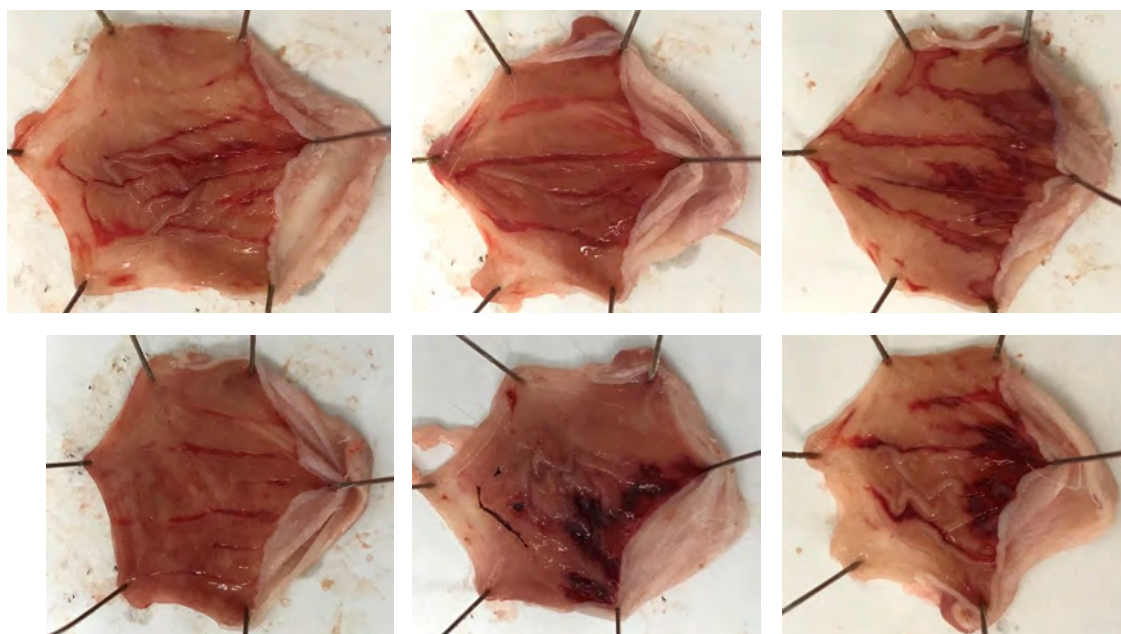


Рисунок 1 – Макрофотографии контрольной группы животных, получавших раствор аммиака 120 мл/100 г в сочетании с иммобилизационным стрессом (масштаб 1:1)

Профилактическое введение изучаемой субстанции, ранитидина и омепразола в указанных дозах способствовало снижению количества и площади образующихся эрозивных дефектов достоверно относительно контроля. Изучаемая субстанция, ранитидин и омепразол проявили дозозависимый противоязвенный эффект на данной модели патологии.

Использование даже минимальных доз изучаемой

субстанции, ранитидина и омепразола способствовало снижению площадей повреждения слизистой почти в 3 раза. Введение субстанции производного бензимидазола в дозах 10 мг/кг и 30 мг/кг, субстанции ранитидина в дозах 1 мг/кг и омепразола в дозе 3 мг/кг омепразола способствовало снижению зон слизистой оболочки с эрозивными дефектами в 5–10 раз относительно контрольных значений (табл. 1, рис. 2).

Таблица 1 – Макроскопический анализ влияния субстанции производного бензимидазола на слизистую оболочку желудка при введении раствора аммиака в сочетании с иммобилизационным стрессом (крысы-самцы), n=10, M±m

Вещество	Доза	Площадь эрозивного повреждения (мм ² /животное)	Процент животных с эрозивными повреждениями в группе	Степень изъязвления	Индекс изъязвления	Процент снижения индекса изъязвления (%) относительно контроля
Контрольная группа животных	Раствор аммиака 120 ммоль/л	100,3±23,5	100%	3,88±0,13	3,80	—
Производное бензимидазола	3 мг/кг	38,0±7,3*	100%	3,20±0,29*	3,20	16
Производное бензимидазола	10 мг/кг	19,95±7,6*	80%	2,60±0,50*	2,08	45
Производное бензимидазола	30 мг/кг/	15,85±6,19*	60%	1,40±0,45*	0,84	78
Ранитидин	3 мг/кг	30,3±5,9*	100%	3,00±0,33	3,00	21
Ранитидин	10 мг/кг	15,9±6,4*	80%	2,10±0,41*	1,68	56
Ранитидин	30 мг/кг	8,6±2,1*	80%	1,60±0,34*	1,28	66
Омепразол	0,3 мг/кг	44,4±10,1*	100%	3,30±0,30	3,30	13
Омепразол	1 мг/кг	25,7±8,9*	90%	2,20±0,44*	1,98	48
Омепразол	3 мг/кг	13,5±4,8*	90%	2,10±0,48*	1,89	50

Примечание: * – достоверность относительно контроля $P < 0,05$

При этом достоверных отличий между эффектами изучаемой субстанции производного бензимидазола и препаратов сравнения по показателю абсолютных значений средних площадей поражения не зафиксировано. Однако при оценке противоязвенной активности изучаемых соединений, наряду с показателями площадей эрозивного повреждения, важную роль играет частота формирования эрозий в группе животных, подвергшихся воздействию ulcerогенного фактора. Так, в груп-

пе животных, получавших производное бензимидазола в дозе 30 мг/кг, частота проявления эрозивных дефектов была на 20% ниже, чем в группах, получавших ранитидин в дозе 30 мг/кг и омепразол в дозе 3 мг/кг. В связи с этим процент снижения индекса изъязвления в группе, получавшей производное бензимидазола в дозе 30 мг/кг, составил 78%, в то время как в группах, получавших ранитидин и омепразол, ИИ был снижен на 66% и 50%, соответственно (табл. 1, рис. 2).

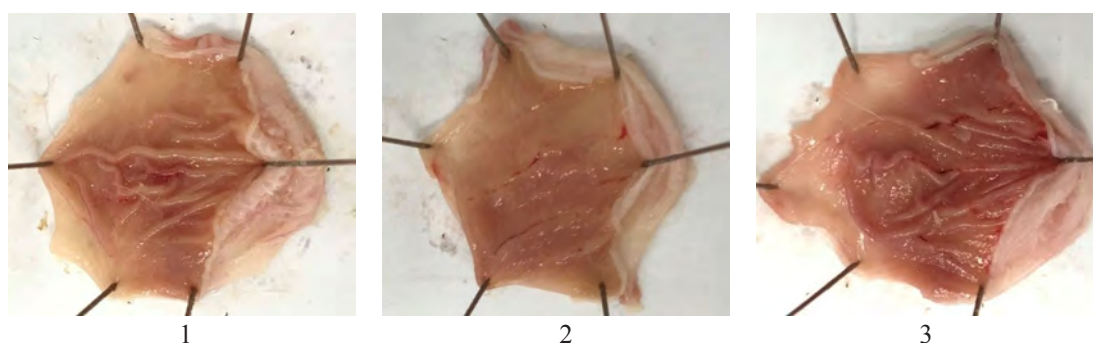


Рисунок 2 – Макрофотографии желудков крыс опытных групп при моделировании эрозий, вызванной введением раствора аммиака (120 ммоль/л) в сочетании с иммобилизационным стрессом (масштаб 1:1):
1 – Производное бензимидазола 30 мг/кг, 2 – Ранитидин 30 мг/кг, 3 – Омепразол 3 мг/кг

Основываясь на зависимости процента снижения индекса изъязвления от дозы, были произведены расчеты значений ED_{50} для производного бензимидазола и ранитидина, так как они использовались в одинаковых дозах и являются аналогами по предполагаемому

механизму действия, связанному с блокадой H_2 -гистаминовых рецепторов.

Расчетные значения ED_{50} для производного бензимидазола составили 16,03 мг/кг, а для ранитидина – 15,99 мг/кг (диаграмма 1, 2).

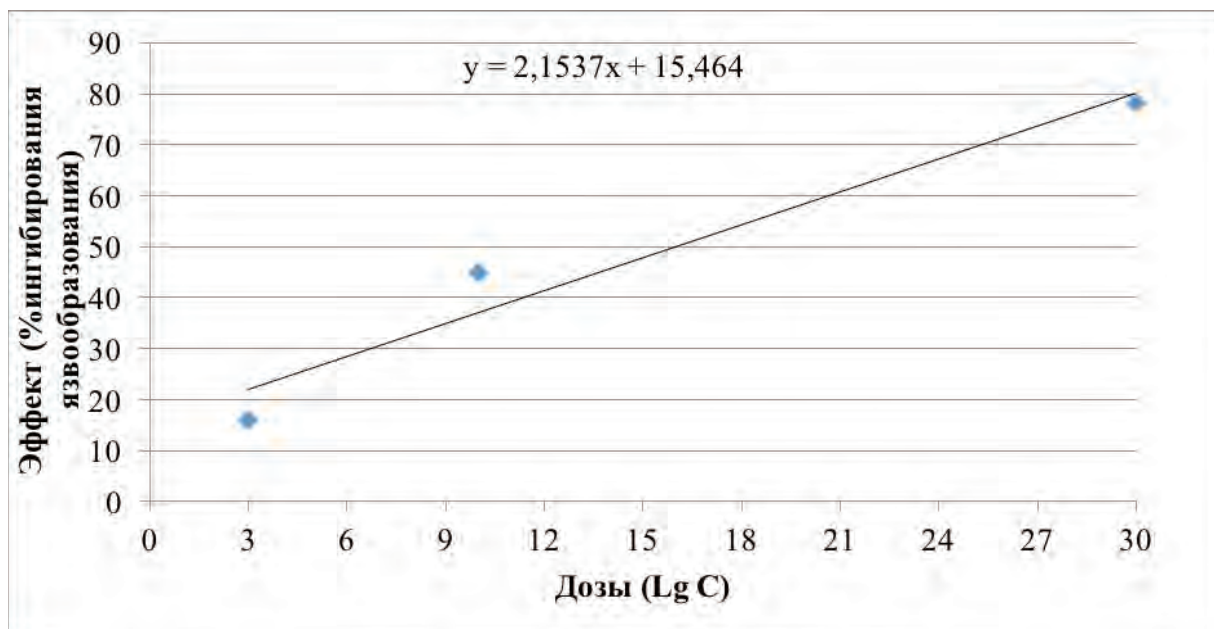


Диаграмма 1 – Расчет ED_{50} для субстанции производного бензимидазола

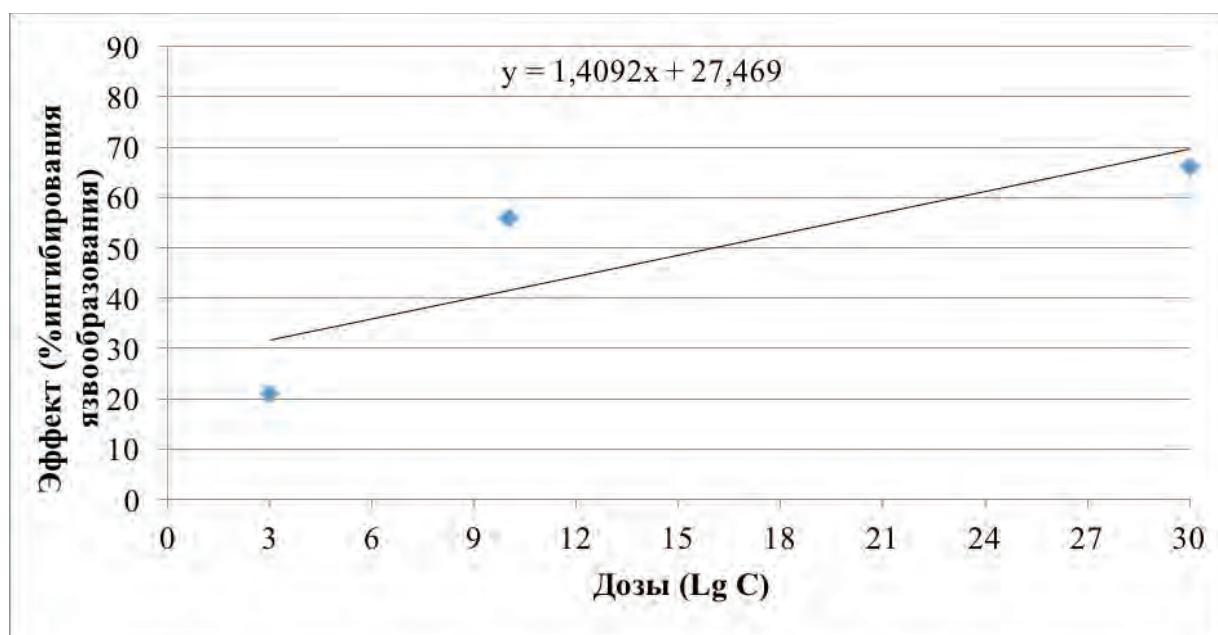


Диаграмма 2 – Расчет ED_{50} для ранитидина

Примечание: X – доза вещества, используемая в эксперименте

Y – эффект снижения индекса изъязвления (процент снижения индекса изъязвления)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Статистический анализ показал, что изучаемое производное бензимидазола способствовало достоверному относительно контроля и сходному со стандартными препаратами снижению абсолютного значения площади повреждения слизистой оболочки на геликобактероподобной модели повреждения. Однако, в группе, получавшей производное бензимидазола в дозе 30 мг/кг, частота проявления эрозивных дефектов составила 60% по сравнению с 80% и 90% в группах, получавших ранитидин и омепразол в максимальных дозах. В свя-

зи с этим процент подавления образования эрозий в группе, получавшей производное бензимидазола в дозе 30 мг/кг, составил 78%, а в группах, получавших ранитидин и омепразол 66% и 50%, соответственно.

Полученные результаты позволяют сделать заключение о высокой степени противоязвенной активности нового производного бензимидазола, превосходящей антиульцерогенное действие аналогов, и перспективности дальнейшего изучения фармакологических эффектов данного соединения.

INTRODUCTION. The isosteric nature of the benzimidazole nucleus with purine DNA bases, as well as its presence in the structure of vitamin B12, determines its role as a privileged structure in terms of the development of molecules with therapeutic properties [1, 2]. The spectrum of biological activity of Benzimidazole derivatives includes antiviral [3], antifungal [4, 5], antimicrobial [6], anticancer [7, 8], anthelmintic [9], analgesic and antipyretic [10, 11], antidiabetic [12], antiprotozoic [13], antioxidant [14], anticonvulsive [5, 15], antipsychotic [16], antiulcer [17], anti-tuberculosis [18], anesthetic [19] and other types of activity.

It is known that one of the most common causes for erosive and ulcerative defects of the mucous membrane is a gram-negative anaerobic bacillus *Helicobacter pylori* [20]. This bacterium has an urease activity. Urease converts urea into ammonia, which neutralizes hydrochloric acid, causing local alkalizing, contributing to the penetration of bacteria into the interior of the mucous membrane through the protective mucous barrier. Ammonia, in its turn, irritates G-cells that produce gastrin, which stimulates the production of hydrochloric acid. Some of the bacteria penetrate the mucosa, destroying

intercellular contacts, causing degeneration and atrophy of the cells due to their phospholipase activity. The destruction of the protective protein components and mucin promotes the penetration of bacteria into the mucosa of the stomach, forming ulcers. Ammonia causes damage to D-cells which produce somatostatin. At the same time, the release of gastrin regulated by somatostatin, ceases to be controlled, which, as a result, further enhances the production of hydrochloric acid [21].

Against the background of *Helicobacter pylori* intervention, an inflammatory infiltrate is formed in the submucosal layer, epithelial necrosis occurs with the formation of an ulcer defect, and gastrin-mediated hypersecretion of hydrochloric acid ensures its progression [22].

One of the most common techniques for modeling *Helicobacter pylori*-like ulcers is a monochloramine-induced ulcer, as monochloramine rapidly decomposes to ammonia, the effect of which on the gastric mucosa is the main pathogenetic part of *Helicobacter pylori* associated ulceration. Since *Helicobacter pylori*, as a rule, causes the development of ulcerative defects against the background of reducing the protective effect of the mu-

cous-bicarbonate barrier, most often mediated by ischemic conditions, one of the techniques of Helicobacter pylori-like ulcer was modeling of mucosal defects by the administration of ammonia solution against the background of acute ischemia caused by a decrease of the systemic volume of circulating blood due to bleeding from the carotid artery. This technique allows to achieve high reproducibility, but is associated with surgical procedures. That increases the complexity and risk of animal death [23, 24]. In this regard, a modification of the method of modeling Helicobacter-like damage of the gastric mucosa using immobilization stress as a provoking ischemic factor was proposed.

THE AIM of the study is the experimental research of the antiulcer activity of 2-phenyl-9-diethylaminoethylamine [1,2-a] benzimidazole on the model of Helicobacter-like damage of the gastric mucosa with immobilization stress (a restraint).

MATERIALS AND METHODS

Animals

The study of pharmacological activity was performed on outbred white Wistar male rats (aged 10–12 weeks) weighing 180.0–250.0 g. Variation in the initial weight of the animals in the group did not exceed 10% [27].

The conditions of keeping the animals met the requirements of the Decree of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated 29.08.2014 №51 “On approval of SP 2.2.1.3218-14” Sanitary and epidemiological requirements for the device, equipment and maintenance of experimental biological clinics (vivaria)”.

Manipulations with experimental animals were performed in accordance with the generally accepted ethical standards adopted by the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1986) and taking into account the International recommendations of the European Convention for the protection of vertebrate animals used in experimental studies (1997) [25, 26].

Study design

Evaluation of the antiulcer action of the studied substances was carried out at the doses of 3 mg/kg, 10 mg/kg and 30 mg/kg. As the reference substances, the following substances were used: Omeprazole – 0.3 mg/kg, 1 mg/kg and 3 mg/kg (Sigma Aldrich, USA), and Ranitidine – 3 mg/kg, 10 mg/kg and 30 mg/kg (Sigma Aldrich, USA).

The maximum volume for intragastric administration to rats did not exceed 3.0 ml for the animals weighing up to 200 g, 5.0 ml for the animals from 200g to 240 g and 6.0 ml for the animals weighing more than 240 g.

In order to reduce the activity of the protective mucous-bicarbonate barrier, a 24-hour immobilization stress (restraint) with a forced administration of water was used. After a 24-hour restraint, the animals were injected ammonia solution at the concentration of 120 mmol/l.

During the experimental study, the animals were divided into 4 groups of 10 individuals in each. The control group received ammonia solution (120 mmol/l) at the rate of 1 ml/100g intragastrically given as a single dose. The studied benzimidazole derivative and reference drugs were administered 1 hour before the administration of ammonia solution in the experimental groups. Euthanasia of animals was performed 2 hours after the administration of ammonia solution.

Defined indicators. To assess the severity of injury in the study of anti-ulcer effects in modeling all pathological conditions, a score system was used [28].

In each group, the sum of scores was calculated, from which the arithmetic mean value characterizing the average degree of ulceration in the group was derived.

Besides, the ulcer index for each group was calculated. The ulcer index reflects both the percentage of the frequency of animals with ulcers and the degree of dystrophic disorders in their stomachs.

Statistical processing. The obtained experimental data were analyzed using the method of variation statistics. The summary tables show the group averages (M) and the standard error of the mean (m). Intergroup differences were analyzed using the nonparametric Mann – Whitney U-test. Differences were determined at 0.05 significance point. For statistical processing of the results the software package “Status 2009” was used.

RESULTS AND DISCUSSION. In order to assess the effectiveness of the combination of immobilization stress and the effects of ammonia solution in modeling erosive and ulcerative defects of the mucosa, the experiments were previously conducted to study the effect of 24-hour immobilization stress (without ammonia solution) and the effects of ammonia solution without prior immobilization as independent ulcerogenic factors. The obtained results showed that in the gastric mucosa of some animals (20–30%) a minor damage was observed, which in general could be neglected as not affecting the statistical calculations in the evaluation of the combined chemical and stressful effects. The combination of immobilization stress with the administration of ammonia solution contributed to the development of erosive mucosal damage, the area of which ranged from 20 mm² to 170 mm² / animal (Fig. 1). The within-test reproducibility was 90–100%.

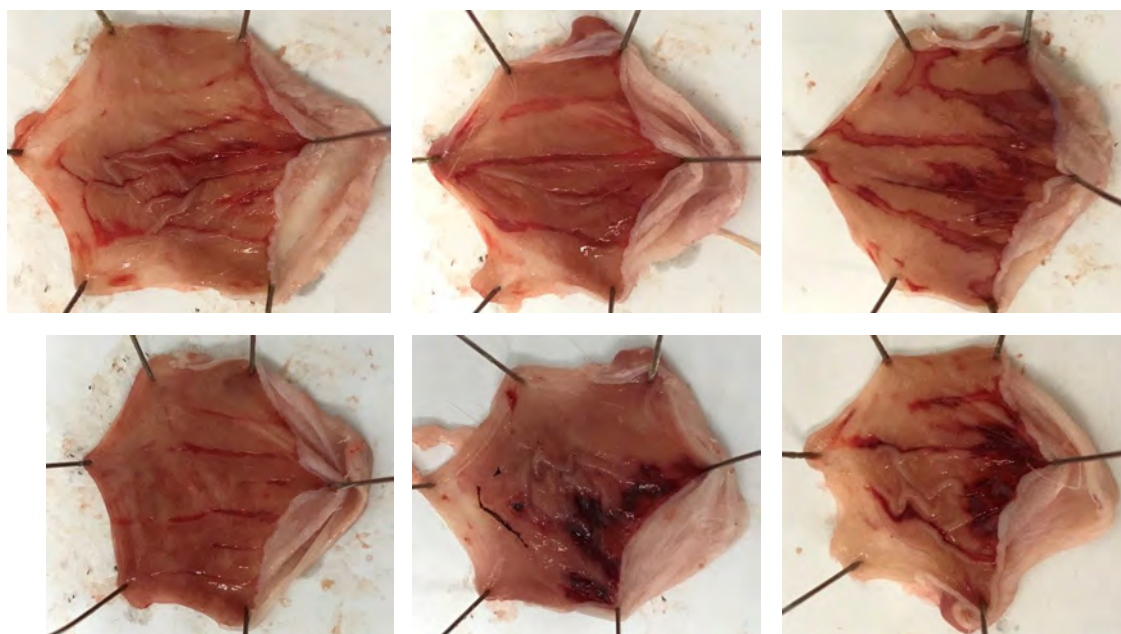


Figure 1 – Macrophotography of the control group of animals (ammonia solution 120 ml/100 g) in combination with immobilization stress (Scale 1: 1)

Prophylactic administration of the studied substance, Ranitidine and Omeprazole, in these doses contributed to the decrease in a number and area of erosive defects formed reliably relative to control. The studied substance, Ranitidine and Omeprazole, showed a dose-dependent antiulcer effect on this pathology model. The use of even minimal doses of the studied substance, Ranitidine and Omeprazole, con-

tributed to the reduction of mucosal damage areas almost 3 times.

The administration of Benzimidazole derivative at the doses of 10 mg / kg and 30 mg / kg, Ranitidine at the doses of 1 mg / kg and Omeprazole at the dose of 3 mg / kg contributed to the reduction of mucosal zones with erosive defects by 5–10 times relative to the control values (Table 1, Fig. 2).

Table 1 – Macroscopic analysis of the effect of the Benzimidazole derivative substance on the gastric mucosa with the administration of ammonia solution in combination with immobilization stress (male rats), n=10, m±m

Substance	Dose	Area of erosive damage (mm ² /animal)	Percentage of animals with erosive damage per group	Degree of ulceration	Ulcer index	Percentage of reduction of ulcer index (%) relative to the control
Control group of animals	Ammonia solution 120 mmol / l	100.3±23.5	100%	3.88±0.13	3.80	—
Benzimidazole derivative	3 mg/kg	38.0±7.3*	100%	3.20±0.29*	3.20	16
Benzimidazole derivative	10 mg/kg	19.95±7.6*	80%	2.60±0.50*	2.08	45
Benzimidazole derivative	30 mg/kg /	15.85±6.19*	60%	1.40±0.45*	0.84	78
Ranitidine	3 mg/kg	30.3±5.9*	100%	3.00±0.33	3.00	21
Ranitidine	10 mg/kg	15.9±6.4*	80%	2.10±0.41*	1.68	56
Ranitidine	30 mg/kg	8.6±2.1*	80%	1.60±0.34*	1.28	66
Omeprazole	0.3 mg/kg	44.4±10.1*	100%	3.30±0.30	3.30	13
Omeprazole	1 mg/kg	25.7±8.9*	90%	2.20±0.44*	1.98	48
Omeprazole	3 mg/kg	13.5±4.8*	90%	2.10±0.48*	1.89	50

Note: * – statistically valid differences compared to control values $p < 0.05$

At the same time, there were no statistically valid differences between the effects of the studied substance of the Benzimidazole derivative and the reference drugs in terms of the absolute values of the average lesion areas obtained. However, the frequency of formation of erosions in the group of animals exposed to ulcerogenic factor, plays an important role in assessing the antiulcer activity of the studied compounds, along with indicators of the areas of the erosive damage. Thus, in the group

of the animals treated with benzimidazole derivative at the dose of 30 mg/kg, the frequency of erosive defects was 20% lower than in the groups treated with ranitidine at the dose of 30 mg/kg and omeprazole at the dose of 3 mg/kg. In this regard, the percentage of the ulcer index reduction in the group receiving a benzimidazole derivative at the dose of 30 mg/kg was 78%, while in the groups receiving ranitidine and omeprazole, the ulcer index was reduced by 66% and 50%, respectively (Table 1, Fig. 2).

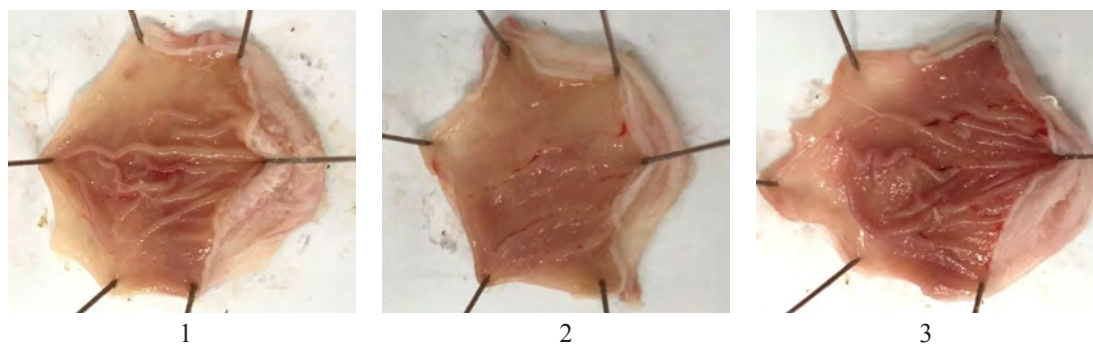


Figure 2 – Macrophotography of rats' stomachs of experimental groups with modeled ulcers caused by ammonia solution administration (120 mmol/l) in combination with immobilization stress (Scale 1: 1):

1 – 30 mg/kg of Benzimidazole derivative, 2 – 30 mg/kg of Ranitidine,

3 – 3 mg / kg of Omeprazole

The calculations of ED_{50} values for Benzimidazole derivatives and Ranitidine were made on the basis of the dependence of the reduction percentage of the ulcer index on the doses, since in the experiment they were used in the same doses and being analogs in respect of

the proposed mechanism of the action associated with the blockade of H_2 – histamine receptors.

The calculated ED_{50} values were: for the Benzimidazole derivative – 16.03 mg/kg, and for Ranitidine – 15.99 mg/kg (Fig. 1.2).

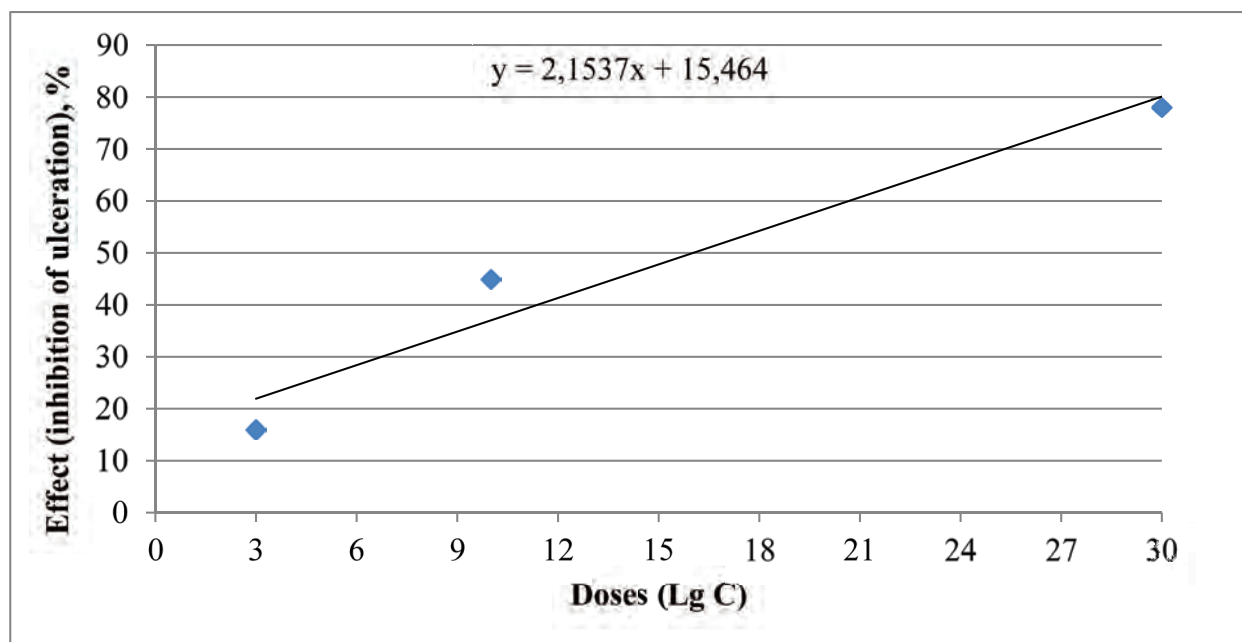


Fig. 1 – Calculation of ED_{50} for Benzimidazole derivative

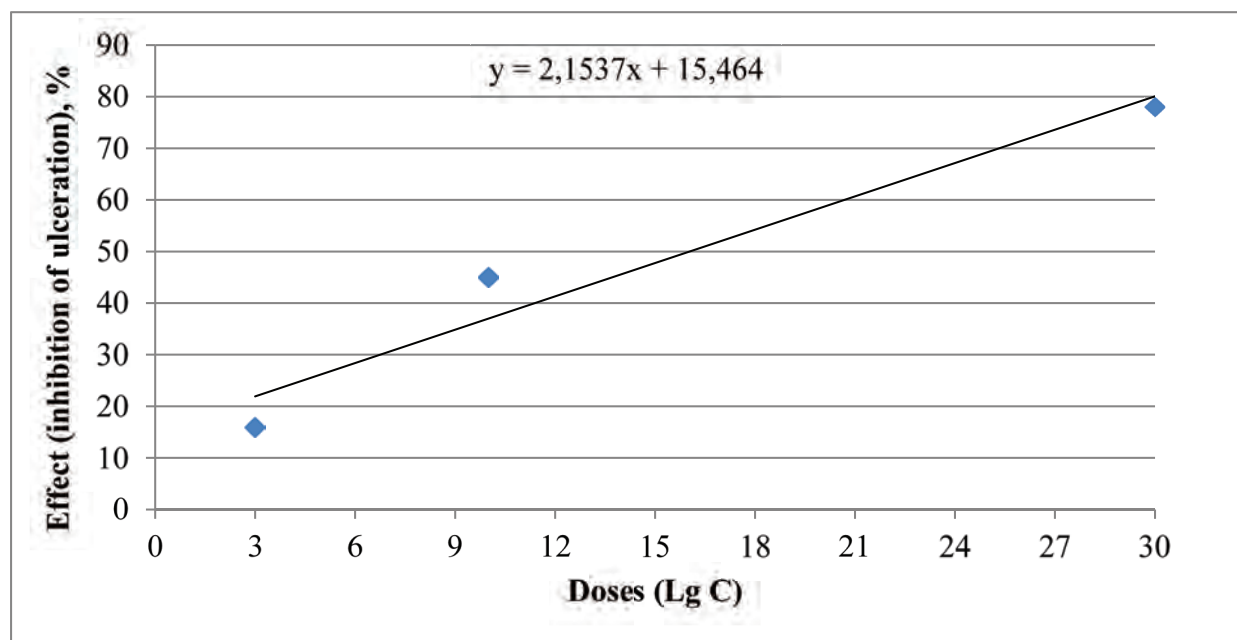


Fig. 2 – Calculation OF ED_{50} for Ranitidine

Note: X – dose of the substance used in the experiment

Y – the effect of inhibition of ulceration (percentage decrease of ulcer index)

CONCLUSION. The statistical analysis showed that the studied Benzimidazole derivative contributed to the reductions of the absolute value of the mucosal damage area on the Helicobacter-like damage model statistically significantly compared to the control group of rats and similar with to the reference drugs.

However, in the group receiving a Benzimidazole derivative at the dose of 30 mg/kg, the frequency of formation of erosive defects was 60%, compared to 80% and 90% in the groups receiving Ranitidine and Omeprazole at the maximum doses. In this regard, the

percentage of inhibiting the formation of erosions in the group receiving a Benzimidazole derivative at the dose of 30 mg/kg was 78%, and in the groups receiving Ranitidine and Omeprazole it was 66% and 50%, respectively.

The obtained results make it possible to arrive at the conclusion about a high degree of antiulcer activity of a new Benzimidazole derivative, superior to the antiulcerogenic effect of the analogs, and the evidence of the prospects for further study of the pharmacological effects of this compound.

Работа выполнена в рамках федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу». Тема работ: «Доклинические исследования H2-гистаминоблокирующего лекарственного средства, снижающего геликобактероподобные повреждения, на основе производного бензимидазола», государственный контракт №14.N08.11.1042 от 14.11.2017.

The study was carried out in accordance with the Federal target program “Development of the pharmaceutical and medical industry of the Russian Federation for the period up to 2020 and beyond”. The topic of work: “Preclinical studies of H2-histamine-blocking drug that reduces Helicobacter-like damage based on benzimidazole derivative”, state contract № 14.N08.11.1042 from 14.11.2017.

Библиографический список

1. Krishna Prasad P.M., Avdhut K. Potent biological agent benzimidazole—a review // Int. J. of Pharmacy and Pharm. Sciences. 2016. Vol. 8. Is. 12. P. 22–33.
2. Shah K., Chhabra S., Shrivastava S.K., Mishra P. Benzimidazole: A promising pharmacophore // Med. Chem. Research. 2013. Vol. 22. Is. 11. P. 5077–5104.
3. Abu-Bakr S.M., Bassyouni F.A., Rehim M.A. Pharmacological evaluation of benzimidazole derivatives with potential antiviral and antitumor activity // Research on Chemical Intermediates. 2012. Vol. 38. Is. 9. P. 2523–2545.
4. Lutz P. Benzimidazole and its derivatives – from fungicides to designer drugs. A new occupational and environmental hazards // Medycyna pracy. 2012. Vol. 63. Is. 4. P. 505–513.
5. Keri R.S., Rajappa C.K., Patil S.A., Nagaraja B.M. Benzimidazole-core as an antimycobacterial agent // Pharmacological Reports. 2016. Vol. 68. Is. 6. P. 1254–1265.
6. Singh N., Pandurangan A., Ranaet K. Benzimidazole: A short review of their antimicrobial activities // Int. Current Pharm. J. 2012. Vol. 1. Is. 5. P.119–127.

7. Yadav S., Narasimhan B., Kaur H. Perspectives of Benzimidazole derivatives as anticancer agents in the new era // *Anti-Cancer Agents in Med. Chem.* 2016. Vol. 16. No. 11. P. 1403–1425.
8. Shrivastava N., Naim M.J., Alam Md.J. Benzimidazole Scaffold as Anticancer Agent: Synthetic Approaches and Structure–Activity Relationship // *Archiv der Pharmazie.* 2017. Vol. 350. Is. 6. P. 1–80. DOI: 10.1002/ardp.201700040
9. Furtado L.F.V., de Paiva Bello A.C.P., Rabelo É.M.L. Benzimidazole resistance in helminths: From problem to diagnosis // *Acta Tropica.* 2016. No. 162. P. 95–102.
10. Achar K.C.S., Hosamani K.M. In-vivo analgesic and anti-inflammatory activities of newly synthesized benzimidazole derivatives // *Eur. J. Med. Chem.* 2010. No. 45. P. 2048–2054.
11. Gaba M., Singh S., Mohan C. Benzimidazole: an emerging scaffold for analgesic and anti-inflammatory agents // *Eur. J. Med. Chem.* 2014. No. 76. P. 494–505.
12. Kim R.M., Chang J., Lins A.R. Discovery of potent, orally active benzimidazole glucagon receptor antagonists // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008. No. 18. P. 3701.
13. Perez-Villanueva J., Hernandez-Campos A., Yopez-Mulia L. Synthesis and antiprotozoal activity of novel 2-{{2-(1H-imidazol-1-yl)ethyl}sulfanyl}-1H-benzimidazole derivatives // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013. Vol. 23. Is. 14. P. 4221–4224.
14. Ates-Alagoz Z. Antioxidant activities of retinoidal benzimidazole or indole derivatives in In vitro model systems // *Current Med. Chem.* 2013. Vol. 20. Is. 36. P. 4633–4639.
15. Vasil'ev P.M., Kalitin K.Yu., Spasov A.A. Prediction and study of anticonvulsant properties of benzimidazole derivatives // *Pharm. Chem. J.* 2017. Vol. 50. Is. 12. P. 775–780.
16. Jain Z.J., Kankate R.S., Chaudhari B.N., Kakad R.D. Action of benzimidazolo-piperazinyl derivatives on dopamine receptors // *Med. Chem. Research.* 2013. Vol. 22. Is. 2. P. 520–530.
17. Patil A., Ganguly S., Surana S. A systematic review of benzimidazole derivatives as an antiulcer agent // *Rasayan J. Chem.* 2008. Vol. 1. Is. 3. P. 447–460.
18. Sharma K., Dudhe A. A review on various heterocyclic moieties and their antitubercular activity // *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 2011. Vol. 65. Is. 4. P. 244–251.
19. Галенко-Ярошевский П.А., Галенко-Ярошевский А.П., Анисимова В.А., Чемоданова П.С. Производные бензимидазола: местноанестезирующие свойства, механизмы действия, перспективы использования в офтальмологии // Монография. Краснодар: Просвещение_ЮГ. 2015. 781 с.
20. *Microb Pathog.* 2018 Jun 21. pii: S0882-4010(17)31766-7.
21. Патологическая физиология: учебник: в 2 т. / ред. В.В. Новицкого, Е.Д. Гольдберга, О.И. Уразовой. 4-е изд., перераб. и доп. ГЭОТАР-Медиа, 2009. Т. 1. 848 с.
22. Маев И.В., Самсонов А.А., Голубев Н.Н. Хеликобактер-ассоциированная форма язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки: проблемы терапии // *Фарматека.* 2011. № 2. С. 10–17.
23. Спасов А.А. Пат. Лекарственная субстанция для подавления геликобактероподобных эрозивно-язвенных повреждений слизистой оболочки желудка / RU 2395282; № 2008136173/15; заявл. 09.09.2008; опубл. 10.04.10. URL: http://www1.fips.ru/fips_serv1/fips_servlet
24. Spasov A.A., Chernikov M.V., Speranskaya A.S., Zaichenko S.I. Effects of Misoprostol and Taurine on Monochloramine Ulcerogenesis in Rats // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2006. Vol. 141. No. 3.
25. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / ред. А.Н. Миронов, Н.Д. Бунарян, А.Н. Васильев / М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
26. ГОСТ Р 33044-2014. Принципы надлежащей лабораторной практики (OECD Guide 1:1998, IDT). М.: Стандартинформ, 2015. 11 с.
27. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г. N 199н "Об утверждении «Правил надлежащей лабораторной практики» (Зарегистрировано в Минюсте РФ 15 августа 2016 г. N 43232) / Бюллетень нормативных актов федеральных органов исполнительной власти. N 37, 12.09.16
28. Adinortey M.B., Ansah C., Galyon I., Nyarko A. In vivo models used for evaluation of potential antigastroduodenal ulcer // *Ulcers.* 2013. Vol. 2013. P. 1–12. DOI: 10.1155/2013/796405

References

1. Krishna Prasad PM, Avdhut K. Potent biological agent benzimidazole—a review. *Int. J. of Pharmacy and Pharm. Sciences.* 2016;8(12):22–33.
2. Shah K, Chhabra S, Shrivastava SK, Mishra P. Benzimidazole: A promising pharmacophore. *Med. Chem. Research.* 2013;22(11):5077–104.
3. Abu-Bakr SM, Bassyouni FA, Rehim MA. Pharmacological evaluation of benzimidazole derivatives with potential antiviral and antitumor activity. *Research on Chemical Intermediates.* 2012;38(9):2523–45.
4. Lutz P. Benzimidazole and its derivatives – from fungicides to designer drugs. A new occupational and environmental hazards. *Medycyna pracy.* 2012;63(4):505–13.
5. Keri RS, Rajappa CK, Patil SA, Nagaraja BM. Benzimidazole-core as an antimycobacterial agent. *Pharmacological Reports.* 2016;68(6):1254–65.
6. Singh N, Pandurangan A, Ranaet K. Benzimidazole: A short review of their antimicrobial activities. *Int. Current Pharm. J.* 2012;1(5):119–27.
7. Yadav S, Narasimhan B, Kaur H. Perspectives of Benzimidazole derivatives as anticancer agents in the new era. *Anti-Cancer Agents in Med. Chem.* 2016;16(11):1403–25.

8. Shrivastava N, Naim MJ, Alam MdJ. Benzimidazole Scaffold as Anticancer Agent: Synthetic Approaches and Structure–Activity Relationship. *Archiv der Pharmazie*. 2017;350(6):1–80. DOI: 10.1002/ardp.201700040
9. Furtado LFV, de Paiva Bello ACP, Rabelo ÉML. Benzimidazole resistance in helminths: From problem to diagnosis. *Acta Tropica*. 2016;162:95–102.
10. Achar KCS, Hosamani KM. In-vivo analgesic and anti-inflammatory activities of newly synthesized benzimidazole derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 2010;45:2048–54.
11. Gaba M, Singh S, Mohan C. Benzimidazole: an emerging scaffold for analgesic and anti-inflammatory agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2014;76:494–505.
12. Kim RM, Chang J, Lins AR. Discovery of potent, orally active benzimidazole glucagon receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008;18:3701.
13. Perez-Villanueva J, Hernandez-Campos A, Yepez-Mulia L. Synthesis and antiprotozoal activity of novel 2-{{[2-(1H-imidazol-1-yl)ethyl]sulfanyl}-1H-benzimidazole derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013;23(14):4221–4.
14. Ates-Alagoz Z. Antioxidant activities of retinoidal benzimidazole or indole derivatives in In vitro model systems. *Current Med. Chem.* 2013;20(36):4633–9.
15. Vasil'ev PM, Kalitin KYu, Spasov AA. Prediction and study of anticonvulsant properties of benzimidazole derivatives. *Pharm. Chem. J.* 2017;50(12):775–80.
16. Jain ZJ, Kankate RS, Chaudhari BN, Kakad RD. Action of benzimidazolo-piperazinyl derivatives on dopamine receptors. *Med. Chem. Research*. 2013;22(2):520–30.
17. Patil A, Ganguly S, Surana S. A systematic review of benzimidazole derivatives as an antiulcer agent. *Rasayan J. Chem.* 2008;1(3):447–60.
18. Sharma K, Dudhe A. A review on various heterocyclic moieties and their antitubercular activity. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2011;65(4):244–51.
19. Galenko-Yaroshevsky PA, Galenko-Yaroshevsky AP, Anisimov VA, Chemodanova PS. Proizvodnye benzimidazola: mestnoanesteziruyushchie svoystva, mekhanizmy dejstviya, perspektivy ispol'zovaniya v oftal'mologii [Derivatives of benzimidazole: local anesthetic properties, mechanisms of action, prospects for use in ophthalmology]. Monograph. Krasnodar: Prosveshchenie;2015. 781 p. Russian.
20. Microb Pathog. 2018 Jun 21. pii: S0882-4010(17)31766-7.
21. Patofiziologiya [Pathophysiology]: textbook: in 2 Vol. Novitskogo VV, Goldberg ED, Urazova OI, editors. 4th ed. I DOP. GEOTAR-Media, 2009;1:848. Russian.
22. Mayev IV, Samsonov AA, Golubev NN. Helikobakter-assotsirovannaya forma yazvennoj bolezni zheludka i dvenadcatiperstnoj kishki: problemy terapii [Helicobacter-associated form of gastric ulcer and duodenal ulcer: problems of therapy]. *Pharmateca*. 2011;2:10-7. Russian.
23. Spasov AA. Pat. Lekarstvennaya substanciya dlya podavleniya gelikobakteropodobnyh erozivno-yazvennyh povrezhdenij slizistoj obolochki zheludka The drug substance for suppressing gelikobakterioza erosive-ulcerative lesions of the gastric mucosa. RU 2395282; No. 2008136173/15; Appl. 09.09.2008; publ. 10.04.10. Available from: http://www1.fips.ru/fips_servl/fips_servlet Russian.
24. Spasov AA, Chernikov MV, Speranskaya AS, Zaichenko SI. Effects of Misoprostol and Taurine on Monochloramine Ulcerogenesis in Rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2006;141(3).
25. Principy nadležhashchej laboratornoj praktiki [Russian government technical requirements R 33044-2014]. The principles of good laboratory practice. (OECD Guide 1:1998, IDT). Moscow: STANDARTINFORM, 2015. 11 p. Russian.
26. Prikaz Ministerstva zdavoohraneniya RF ot 1 aprelya 2016 g. N 199n "Ob utverzhdenii «Pravil nadležhashchej laboratornoj praktiki» [Order of the Ministry of health of the Russian Federation of April 1, 2016 N 199n "About the approval Of rules of good laboratory practice"] (Registered in the Ministry of justice of the Russian Federation on August 15, 2016 N 43232). *Bulletin of regulations of Federal Executive authorities*. N 37. 12.09.16 Russian.
27. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv [Guidelines for preclinical studies of drugs]. Part I. Mironov AN, Bunatyan ND, Vasil'ev AN, editors. Moskva: Vulture and K, 2012. 944 p. Russian.
28. Adinortey MB, Ansah C, Galyuon I, Nyarko A. In vivo models used for evaluation of potential antigastroduodenal ulcer. *Ulcers*. 2013;2013:1–12. DOI: 10.1155/2013/796405

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Авторы

Черников Максим Валентинович – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой биологии и физиологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фармакология, клиническая фармакология. E-mail: pharmax@list.ru

Оганова Марина Альбертовна – кандидат фар-

Authors

Chernikov Maxim Valentinovich –PhD (Medicine), Head of the Department of Biology of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: pharmacology, clinical pharmacology. E-mail: pharmax@list.ru

Oganova Marina Albertovna – PhD (Pharmacy), Associate Professor of the Department of Biology of Py-

мацевтических наук, доцент кафедры биологии и физиологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фармакология, клиническая фармакология. E-mail: marina-oganova81@mail.ru

Герасименко Анна Сергеевна – преподаватель кафедры патологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фармакология, клиническая фармакология. E-mail: ger_ann5@ro.ru

Артемьев Евгений Альбертович – аспирант кафедры биологии и физиологии, патологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фармакология, клиническая фармакология. E-mail: johni1001@rambler.ru

atigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: pharmacology, clinical pharmacology. E-mail: marina-oganova81@mail.ru

Gerasimenko Anna Sergeevna – lecturer of the Department of pathology of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: pharmacology, clinical pharmacology. E-mail: ger_ann5@ro.ru

Artemyev Evgeny Albertovich – post-graduate student of the Department of biology and physiology of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University. Research interests: pharmacology, clinical pharmacology. E-mail: johni1001@rambler.ru

Поступила в редакцию: 11.07.2018
Отправлена на доработку: 03.08.2018
Принята к печати: 27.08.2018

Received: 11.07.2018
Sent back for revision: 03.08.2018
Accepted for publication: 27.08.2018

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕМИНЕРАЛИЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАЧАЛЬНОГО КАРИЕСА ЭМАЛИ

А.Л. Голованенко¹, Е.В. Третьякова¹, Е.С. Патлусова²,
И.В. Алексеева¹, Е.С. Березина¹, Р.Г. Першина³

¹Кафедра фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации», 614990, Пермь, Полевая, 2

²Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Пермского края,
«Краевая детская клиническая больница», 614066, г. Пермь, ул. Баумана, 22

³Кафедра стоматологии факультета ДПО ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера,
614990, Пермь, Петропавловская, 30
E-mail: annagolovanenko@yandex.ru

Одним из перспективных направлений профилактики кариеса зубов является реминерализующая терапия, направленная на нормализацию минерального состава зубной эмали. В результате комплекса, проведенных научно – экспериментальных и клинических исследований, разработаны гель и пленки лекарственные для лечения кариеса эмали. **Цель работы** – исследование реминерализующей активности лекарственных форм для лечения начального кариеса эмали. **Материалы и методы.** В качестве активных фармацевтических субстанций в лекарственных формах использовали – кальция хлорид (ФС 42-0006-5675-04 Р.003964.01), калия фосфат двузамещенный (ФС 42-1297-79), натрия фторид (ФС.2.2.0013.15), вспомогательные вещества – гелеобразователь натрий-карбоксиметилцеллюлозу (натрий-КМЦ) С75 (ТУ 6-55-39-90), пластификатор глицерин (ФС.2.2.0006.15), воду очищенную (ФС.2.2.0020.15). Исследование реминерализующей активности проводили методом определения кальция и фосфора в золе эмали *in vitro*. Количественное определение кальция проводили методом обратного комплексонометрического титрования, фосфора – методом фотоэлектроколориметрии. Также проведено электрометрическое исследование *in vivo* путем определения электропроводности эмали с помощью аппарата «Дентэст» (Геософт). **Результаты и обсуждение.** Метод определения кальция и фосфора в золе эмали *in vitro* основан на озолении зуба и последующим определением в нем кальция и фосфора химическими и инструментальными методами. На основании полученных результатов установлено, что гель и пленки лекарственные для лечения кариеса эмали, достоверно повышают содержание кальция и фосфора в эмали зуба. Проведенное электрометрическое исследование подтвердило повышение твердости структуры эмали после применения пленок лекарственных, вследствие ее реминерализации. **Заключение.** В результате проведенных исследований *in vivo* и *in vitro* установлено, что разработанные лекарственные формы оказывают реминерализующий эффект и могут быть рекомендованы для повышения эффективности профилактики и лечения начального кариеса эмали.

Ключевые слова: кариес, эмаль, гель, пленки лекарственные, реминерализация

Для цитирования:

Голованенко А.Л., Третьякова Е.В., Патлусова Е.С., Алексеева И.В., Березина Е.С., Першина Р.Г. ИССЛЕДОВАНИЕ РЕМИНЕРАЛИЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАЧАЛЬНОГО КАРИЕСА ЭМАЛИ. Фармация и фармакология. 2018;6(4):380-388.

DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-380-388

© Голованенко А.Л., Третьякова Е.В., Патлусова Е.С., Алексеева И.В., Березина Е.С., Першина Р.Г., 2018

For citation:

A.L. Golovanenko, E.V. Tretyakova, E.S. Patlusova, I.V. Alekseeva, E.S. Berezina, R.G. Pershina.

STUDY OF REMINERALIZING ACTIVITY OF DOSAGE FORMS FOR TREATMENT OF INITIAL ENAMEL CARIES.

Pharmacy & Pharmacology. 2018;6(4):380-388. (In Russ).

DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-380-388 (In Russ.)

STUDY OF REMINERALIZING ACTIVITY OF DOSAGE FORMS FOR TREATMENT OF INITIAL ENAMEL CARIES

**A.L. Golovanenko¹, E.V. Tretyakova¹, E.S. Patlusova², I.V. Alekseeva¹,
E.S. Berezina¹, R.G. Pershina³**

¹Department of Pharmaceutical Technology of Perm State Pharmaceutical Academy,
2, Polevaya Str., Perm, 614990

²Regional Children's Clinical Hospital,
22, Bauman Str., Perm, 614066

³Department of dentistry, faculty of FVE (further vocational education),
30, Petropavlovskaya Str., Perm, 614990
E-mail: annagolovanenko@yandex.ru

One of the most promising areas of dental caries prophylaxis is remineralizing therapy aimed at normalizing the mineral composition of tooth enamel. As a result of a set of scientific, experimental and clinical studies, gels and drug films for the treatment of enamel caries have been developed. **The aim** of this work is to study remineralizing activity of dosage forms for the treatment of initial enamel caries. **Materials and methods.** As active pharmaceutical substances in dosage forms, calcium chloride (FS 42-0006-5675-04 P.003964.01), potassium phosphate disubstituted (FS 42-1297-79), sodium fluoride (PS.2.2.0013.15), auxiliary substances – gelling agent sodium-carboxymethylcellulose (sodium-CMC) C75 (TU 6-55-39-90), plasticizer glycerin (PS.2.2.0006.15), purified water (PS.2.2.0020.15) – have been used. Remineralizing activity was studied by the method of determination of calcium and phosphorus in the enamel ash *in vitro*. The study of remineralizing activity was carried out by the method of determination of calcium and phosphorus in the enamel ash *in vitro*. Quantitative determination of calcium was carried out by reverse complexometric titration, and the one of phosphorus was carried out by photoelectrocolorimetry. The electro-metric study of the enamel electrical conductivity was also carried out *in vivo* with the help of the Dentest device (Geosoft). **Results and discussion.** The method of determination of calcium and phosphorus in the enamel ash *in vitro* is based on tooth ashing and the subsequent determination of calcium and phosphorus in it by chemical and instrumental methods. Basing on the results obtained, it has been established that gel and drug films used for enamel caries treatment significantly increase the content of calcium and phosphorus in tooth enamel. The conducted electrometric study confirmed the increase in the hardness of the enamel structure due to its remineralization after the use of drug films. **Conclusion.** As a result of the studies conducted *in vivo* and *in vitro*, it has been established that the developed dosage forms have a remineralizing effect and can be recommended for increasing the effectiveness of prevention and treatment of the initial enamel caries.

Keywords: caries, enamel, gel, drug films, remineralization

ВВЕДЕНИЕ. Проблема кариеса зубов на сегодняшний день представляет серьезную медицинскую и социальную проблему. В структуре стоматологических заболеваний кариес и его осложнения занимают 95,5%. Прогрессирующее поражение твердых тканей зуба, осложняющееся воспалением пульпы и околоверхушечных тканей, становится причиной острых болей, нередко приводит к утрате зубов и может явиться источником заболеваний опорно-двигательного аппарата и внутренних органов [1, 2]. Одним из перспективных направлений профилактики кариеса зубов является remineralizing терапия, направленная на нормализацию минерального состава зубной эмали и заключающаяся в профессиональной обработке зубов специальными препаратами. С помощью remineralizing терапии можно насытить эмаль ионами кальция, фосфора, фторида и др., устранить деминерализованные участки зубной эмали, вызванные процессом деминерализации, а также воздействием профилактических средств, предотвратить поражение эмали, обусловленное вымыванием минеральных элементов из твердых тканей зубов

[3–6]. В результате комплекса, проведенных научно – экспериментальных исследований на кафедре фармацевтической технологии ПГФА, разработаны гель и пленки лекарственные для лечения кариеса эмали [7–12].

ЦЕЛЬЮ настоящей работы являлось исследование remineralizing активности лекарственных форм для лечения начального кариеса эмали.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Для создания аппликационных лекарственных форм (ЛФ) в качестве активных фармацевтических субстанций использовали – кальция хлорид (ФС 42-0006-5675-04 P.003964.01), калия фосфат двузамещенный (ФС 42-1297-79), натрия фторид (ФС.2.2.0013.15), вспомогательные вещества – гелеобразователь натрий-карбоксиметилцеллюлозу (натрий-КМЦ) C75 (ТУ 6-55-39-90), пластификатор глицерин (ФС.2.2.0006.15), воду очищенную (ФС.2.2.0020.15).

Исследование remineralizing активности проводили методом определения кальция и фосфора в золе эмали *in vitro* со статистической обработкой полученных результатов согласно ОФС.1.1.0013.15

с использованием критического значения критерия Стьюдента и методом электрометрического исследования путем определения электропроводности эмали *in vivo*.

Проведение данных исследований соответствовало этическим стандартам ответственного комитета по экспериментам человека (институциональным и национальным) и Хельсинской декларации 1975 г., пересмотренной в 2000 году. Исследования одобрены Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера Минздрава России.

На основе информированного добровольного согласия в исследование по определению кальция и фосфора в золе эмали *in vitro* включены визуально интактные зубы (моляры и премоляры нижней челюсти), удаленные по ортодонтическим и ортопедическим показаниям у лиц 20–35 лет. Удаленные зубы хранили в термостате при температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ в растворе искусственной слюны [13]. Для проведения исследований опытные образцы были разделены на 2 группы (по 10 опытных образцов в каждой группе): 1 – гель для лечения кариеса эмали, 2 – пленки лекарственные для лечения кариеса эмали.

Каждый зуб предварительно очищали с использованием щетки и пасты, не содержащей фтора, и изготавливали полушлифы с помощью специального оборудования, одна половина зуба служила контролем и не поддавалась лечению, вторая половина зуба подвергалась полному курсу лечения. Ежедневно в течение 14 дней один раз в день проводили 15 минутные аппликации путем нанесения геля или фиксации пленок лекарственных на поверхность зубной эмали опытных образцов, при постоянной температуре $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$, в перерывах между лечением зубы находились в термостате в растворе искусственной слюны.

Метод определения кальция и фосфора в золе эмали *in vitro* основан на озолении зуба и последующим определением в нем кальция и фосфора химическими и инструментальными методами [14]. Исследуемые образцы озолляли отдельно друг о друга при температуре $450\text{--}500^\circ\text{C}$ в муфельной печи. Полученную золу использовали для определения кальция и фосфора. Количественное определение кальция проводили методом обратного комплексонометрического титрования [15, 16].

Методика: около 10,00 мг (точная навеска) золы растворяют в 0,5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, после полного растворения золы добавляют 10 мл воды очищенной и 5 мл 0,05 М раствора натрия эдетата, перемешивают и добавляют аммиачный буферный раствор при перемешивании до $\text{pH}=12,5$, для исключения определения сопутствующих ионов магния. Индикатором служил кислотно-хромовый темно-синий. Избыток 0,05 М раствора натрия эдетата оттитровывают 0,1 М раствором магния сульфата. Параллельно проводят контрольный опыт. Аналитическим сигналом являлся переход окраски от синей до красно-фиолетовой. Расчет процентного содержания кальция вели по формуле:

$$C = \frac{T \cdot (V_1 - V_2) \cdot K \cdot 100}{a}, \text{ где}$$

C – количество кальция в % на 10 мг золы;

T – титр кальция по натрия эдетату, г/мл;

V_1/V_2 – количество мл титрованного раствора, пошедшего на титрование контрольной/опытной пробы, мл;

K – коэффициент поправки к молярности титрованного раствора;

100 – фактор пересчета в %;

a – исследуемая навеска золы, г.

Количественное определение фосфора проводили методом фотоэлектроколориметрии, для получения окрашенного раствора использовали реакцию молибденовой сини (сернокислый раствор молибдата натрия в водном растворе гидразина сульфата) [14].

Методика: около 10,00 мг (точная навеска) золы растворяют в 0,5 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и количественно разводят в мерной колбе вместимостью 250 мл. К 1 мл раствора золы добавляют смесь натрия молибдата в серной кислоте раствора 0,25% и гидразина сульфата водного раствора 0,15% в соотношении 2,5:1, перемешивают и выдерживают на кипящей водяной бане в течении 10 минут и определяют оптическую плотность при длине волны 650 нм против холостого контроля. Аналогично проводят исследование с 0,001% стандартным раствором фосфора. Расчет процентного содержания фосфора ведут по формуле:

$$C = \frac{A \cdot 0,01 \cdot 250 \cdot 100}{A_{\text{ст}} \cdot 10}, \text{ где}$$

A – оптическая плотность исследуемого раствора;

$A_{\text{ст}}$ – оптическая плотность стандартного раствора;

0,01 – содержание фосфора в мг в 1 мл стандарта;

10 – количество мг золы в исследуемой навеске;

250 – объем, в котором растворена навеска;

100 – фактор пересчета в %;

C – количество фосфора в % на 100 г золы.

Электрометрическое исследование пленок лекарственных. На основе добровольного информированного согласия в исследовании принимали участие 45 пациентов с установленным диагнозом кариес эмали, из которых 30 пациентов находилось в возрасте 18–25 лет и 15 в возрасте от 7 до 16 лет. В целом, лечению подверглось 78 зубов фронтальной группы. Оценка клинических данных проводилась на основании индексной оценки состояния гигиены полости рта, интенсивности кариеса (КПУ), электропроводности эмали и витального окрашивания эмали 2% раствором метиленового синего (интенсивность окрашивания очагов деминерализации эмали определяли по контрольной градационной десятипольной полутоновой шкале) [17].

Уровень гигиены полости рта всех пациентов при первичном обследовании соответствовал критериям «хороший» и «удовлетворительный». Пациенты предъявляли жалобы на наличие белого пятна (косметический дефект) и чувство оскомины, также отмечалась повышенная проницаемость эмали при ее витальном окрашивании.

По итогам исходного осмотра всем пациентам проведена процедура профессиональной гигиены полости рта, также пациенты прошли обучение правилам гигиенического ухода за полостью рта и методике самостоятельного использования пленок лекарственных в амбулаторных условиях. Рекомендовались аппликации пленок лекарственных на вестибулярную поверхность зубов в области очага деминерализации (кратность применения – 1 раз в день, на ночь). Курс реминерализующей терапии с использованием аппликаций пленок лекарственных составлял 1 месяц и более в зависимости от выра-

женности клинических проявлений. Все пациенты находились на диспансерном наблюдении до 1 года. Контроль электропроводности эмали (ЭПЭ) осуществляли с помощью аппарата «Дентэст» (Гео-софт).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Исследование реминерализующей активности проводили методом определения кальция и фосфора в золе эмали со статистической обработкой полученных результатов согласно ГФ РФ XIII издания [18]. Результаты исследования реминерализующей активности методом *in vitro* представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание кальция и фосфора (%) в золе эмали до и после лечения гелем и пленками лекарственными для лечения кариеса эмали

Препарат	Содержание кальция в золе, %		Содержание фосфора в золе, %	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Гель	37,39±2,17	38,21±2,72	23,88±0,78	24,70±0,45
	36,57±1,32	40,67±3,14	25,92±0,96	27,25±0,62
	32,81±1,54	36,08±1,11	24,77±0,64	26,90±1,37
	34,42±1,53	37,25±2,07	26,05±0,89	27,48±0,96
	36,17±2,23	39,02±2,52	25,59±0,37	27,13±1,05
Пленки лекарственные	36,57±0,98	39,03±1,56	29,12±1,06	29,45±0,39
	38,21±2,30	39,03±2,98	23,28±0,18	25,15±0,98
	31,16±1,62	39,6±2,45	26,38±0,71	26,68±0,59
	35,12±1,44	38,06±1,17	25,68±0,67	26,72±0,41
	37,39±2,01	38,21±2,27	23,88±0,65	24,70±0,54

На основании данных, представленных в таблице 1, установлено, что разработанные лекарственные формы для лечения кариеса эмали достоверно повышают содержание кальция и фосфора в эмали зуба. Гель и пленки лекарственные проявляют сопоставимую друг с другом реминерализующую активность, достоверно превышающую контрольные показатели, и могут быть взаимозаменяемы при применении по усмотрению лечащего врача.

Электрометрическое исследование. Предварительный осмотр пациентов выявил наличие на вестибулярной поверхности зубов фронтальной группы очаговую деминерализацию эмали (ОДЭ) с различной интенсивностью поражения. При зондировании установлено, что эмаль в области очагов деминерализации имела матовую и шероховатую поверхность. В 41,1% наблюдений очаги деминерализации эмали составили от 1,5 до 2 мм, средняя степень окрашивания от 4 до 5 баллов и средняя величина окрашивания – $4,6 \pm 0,21$ мм. В 58,9% случаях выявлены более крупные очаги деминерализации эмали размером от 3 до 4 мм (3 пациента имели ОДЭ более 4,5 мм). В этих случаях отмечена и более высокая степень окрашивания от 6 до 10 баллов со средней величиной окрашивания $7,9 \pm 0,18$ мм. Жалобы на повышенную чувствительность зубов в области ОДЭ на химические и температурные раздражители предъявляли 5 пациентов.

В результате курсового применения пленок лекарственных в течение 30 дней у всех пациентов отмечена тенденция к уменьшению интенсивности

поражения поверхностного слоя эмали. В 26,7% наблюдений (12 пациентов) окрашивание эмали отсутствовало, в 44,4% наблюдений (20 пациентов) выявлена низкая степень окрашивания, в 28,9% случаях (13 пациентов) отмечена средняя степень окрашивания. Значительно сократились размеры ОДЭ с 4,5 мм до 2,5–3 мм. Очаги деминерализации со степенью окрашивания 6 баллов и более не обнаружены. После прохождения курса лечения пациенты не предъявляли жалоб на повышенную чувствительность, также чувствительность эмали отсутствовала при зондировании очага деминерализации, что является важным критерием проявления реминерализующей активности пленок лекарственных. При дальнейшем применении пленок лекарственных наблюдалось уменьшение размеров очагов деминерализации и их полное исчезновение. Также у части пациентов исчезла матовость и шероховатость поверхности эмали в области очаговой деминерализации, поверхность стала гладкой и блестящей.

Электрометрические исследования свидетельствуют о том, что применение пленок лекарственных способствовало снижению электропроводности эмали и повысило степень минерализации эмали в 1,5–2 раза. При исходном обследовании области ОДЭ ЭПЭ составляла от 3,6 мкА до 2,5 мкА, а спустя 30 дней после лечения ЭПЭ снизилась до 1,7–1,5 мкА. При более продолжительном лечении очаговой деминерализации эмали ЭПЭ уменьшилась до 1,15–0,2 мкА.

Исходя из выше представленных результатов

проведенного электрометрического исследования, можно сделать заключение о благоприятном воздействии пленок лекарственных на эмаль зуба. В частности, реминерализующая эффективность пленок лекарственных подтвердилась повышением твердости структуры эмали, уменьшением интенсивности окрашивания пятен ОДЭ, снижением чувствительности зубов к раздражителям различной природы до ее полного исчезновения. Таким образом, разработанные пленки лекарственные можно рекомендовать к

использованию в качестве лечебно-профилактического средства, способствующего улучшению состояния твердых тканей зуба.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В результате проведенных исследований *in vivo* и *in vitro* установлено, что разработанные ЛФ оказывают реминерализующий эффект – насыщают зубную эмаль ионами кальция и фосфора, что позволяет рекомендовать гели и пленки лекарственные для повышения эффективности профилактики и лечения начального кариеса эмали.

INTRODUCTION. Nowadays, the problem of dental caries is a serious medical and social problem. In the structure of dental diseases, caries and its complications occupy 95.5%. Progressive lesion of hard tooth tissues, complicated by inflammation of the pulp and periapical tissues, causes acute pains, often leads to loss of teeth and can be a source of diseases of the musculoskeletal system and internal organs [1, 2]. One of the most promising areas of dental caries prophylaxis is remineralizing therapy aimed at normalizing the mineral composition of tooth enamel which consists of professional dentistry with special preparations. With the help of remineralizing therapy, it is possible to saturate enamel with ions of calcium and phosphorus, fluoride, etc., remove demineralized areas of tooth enamel caused by the process of demineralization, and also by the influence of preventive measures, prevent enamel damage caused by wash-out of mineral elements from hard tooth tissues [3–6]. As a result of the complex of scientific and experimental research carried out at the Department of Pharmaceutical Technology of Perm State Pharmaceutical Academy (PSPA), gel and drug films for the treatment of enamel caries have been developed [7–12].

THE AIM of this work is to study remineralizing activity of dosage forms for the treatment of initial enamel caries.

MATERIALS AND METHODS. As active pharmaceutical substances in dosage forms, calcium chloride (FS 42-0006-5675-04 P.003964.01), potassium phosphate disubstituted (FS 42-1297-79), sodium fluoride (PS.2.2.0013.15), auxiliary substances – gelling agent sodium-carboxymethylcellulose (sodium-CMC) C75 (TU 6-55-39-90), plasticizer glycerin (PS.2.2.0006.15), purified water (PS.2.2.0020.15) – have been used. Remineralizing activity was studied by the method of determination of calcium and phosphorus in the enamel ash *in vitro*. The statistical processing of the obtained results was performed according to GPA 1.1.0013.15 using the critical value of Student's t-test and the electrometric method, by determining the electrical conductivity of the tooth enamel *in vivo*.

These studies were carried out in accordance with the ethical standards of the committee responsible for human experiments (institutional and national) and the 1975 Helsinki Declaration, revised in 2000. The studies were approved by the Local Ethical Committee of FSAEI HE "Perm State Medical University" n.a. E.A. Vagner (the Ministry of Health of the Russian Federation").

On the basis of the informed voluntary consent, visually intact teeth (molars and premolars of the lower jaw), removed on orthodontic and orthopedic grounds in individuals aged 20–35, were included in the study of determination of calcium and phosphorus in the enamel ash *in vitro*. The removed teeth were stored in the thermostat at the temperature of $37 \pm 2^\circ\text{C}$ in the solution of artificial saliva [13]. For the study, the prototypes were divided into 2 groups (10 test samples in each group): 1 – drug gel for the treatment of enamel caries, 2 – drug films for the treatment of enamel caries.

Each tooth was pre-cleaned by brush and fluoride-free paste and half-sliced with the use of special equipment. One half of the tooth served as a test sample and was not subjected to treatment, the second half of the tooth was subjected to a full course of treatment. For 14 days, once every day, 15-minute applications were made by applying drug gel or fixing drug films to the surface of the enamel of the test samples at the constant temperature of $37 \pm 2^\circ\text{C}$. In the intervals, the teeth were in the thermostat in the solution of artificial saliva.

The method of determination of calcium and phosphorus in the enamel ash in vitro is based on tooth ashing and the subsequent determination of calcium and phosphorus in it by chemical and instrumental methods [14]. The test samples were ashed separately at $450\text{--}500^\circ\text{C}$ in the muffle furnace. The resulting ash was used to determine calcium and phosphorus in it.

Quantitative determination of calcium was carried out by reverse complexometric titration [15, 16].

Methods: about 10.00 mg (accurately weighed quantity) of ash is dissolved in 0.5 ml of concentrated hydrochloric acid; after complete dissolution of the ash, 10 ml of purified water and 5 ml of 0.05 M sodium edetate solution are added and mixed up, then the ammonia buffer solution is added while stirring up to $\text{pH} = 12.5$ to exclude the determination of concomitant magnesium ions. The indicator is an acid-chrome-tanned dark blue colour. The excess 0.05 M sodium edetate solution is titrated with 0.1 M magnesium sulfate solution.

At the same time, a control experiment is conducted. An analytical signal is a color transition from blue to red-violet. The calculation of the percentage of calcium is carried out according to the formula:

$$C = \frac{T \cdot (V_1 - V_2) \cdot K \cdot 100}{a}, \text{ where}$$

C – the quantity of calcium per 10 mg of ash, %;

T – the titer of calcium for sodium edetate, g / ml;

V_1 / V_2 – the number of ml of the titrated solution used for the titration of the control / test sample, ml;

K – a correction coefficient to the molarity of the titrated solution;

100 – a conversion factor, %;

a – a weighed quantity of ash, g.

Quantitative determination of phosphorus was carried out by photoelectrocolorimetry. To obtain a colored solution, a molybdenum blue reaction (sodium molybdate sulphate solution in hydrazine sulfate aqueous solution) was used [14].

Methods: about 10.00 mg (accurately weighed quantity) of ash is dissolved in 0.5 ml of concentrated hydrochloric acid and quantitatively diluted in a volumetric flask with a capacity of 250 ml. A mixture of sodium molybdate in 0.25% sulfuric acid solution and hydrazine – 0.15% sulphate aqueous solution – in the ratio of 2.5:1 is added to 1 ml of the ash solution; the ingredients are mixed up and kept in a boiling water bath for 10 minutes. The optical density is determined at the wavelength of 650 nm against blank monitoring. Similarly, a study is carried out with 1 mg of a standard phosphorus solution. The percentage of phosphorus is calculated according to the formula:

Similarly, a study is carried out with 0.001% standard phosphorus solution.

$$C = \frac{A * 0.01 * 250 * 100}{A_{st} * 10}, \text{ where}$$

A – the optical density of the test solution;

A_{st} – the optical density of the standard solution;

0.01 – the quantity of phosphorus in 1 ml of the standard, mg;

10 – the quantity of ash in the test sample, mg;

250 – the volume in which the sample is dissolved;

100 – a conversion factor, %;

C – the quantity of phosphorus per 100 g of ash, %.

Electrometric study of drug films. On the basis of the informed voluntary consent, 45 patients with the estab-

lished caries enamel diagnosis participated in the study, hereby 30 patients were aged 18–25 and 15 patients were aged from 7 to 16. In total, 78 teeth of the frontal group were treated. The clinical data were evaluated on the basis of the index assessment of the oral hygiene state, def caries index, the electrical enamel conductivity of and vital staining of enamel with a 2% solution of methylene blue (the intensity of staining of the enamel demineralization foci was determined on the basis of the control gradation tenfold grayscale scale) [17].

In the primary examination the level of oral hygiene of all the patients met the criteria of “good” and “satisfactory”. The patients complained about the presence of a white spot as a cosmetic defect and a sense of numbness, and there was also an increased permeability of the enamel in response to its vital staining.

Based on the results of the initial examination, all the patients were subjected to the professional oral hygiene procedure, and the patients were trained in hygienic care of the oral cavity and the methods of the self-use use of drug films in outpatient settings. Drug films were recommended to apply to the vestibular surface of the teeth in the area of the demineralization focus (the frequency of application was once a day, before going to bed). The course of remineralizing therapy with the use of drug films applications was 1 month or longer, depending on the severity of clinical manifestations. All the patients were on dispensary supervision for up to a year. The enamel electrical conductivity of the enamel (EEC) was monitored with the help of the Dentest device (Geosoft).

RESULTS AND DISCUSSION. The study of remineralizing activity was carried out by the method of determination of calcium and phosphorus in the ash of enamel with statistical processing of the results obtained according to the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII-th edition [18]. The results of the study of remineralizing activity by the *in vitro* method are presented in Table 1.

Table 1 – Calcium and phosphorus content (%) in the enamel ash before and after the treatment of enamel caries with gel and drug films

Study medication	Calcium content in the enamel ash, %		Phosphorus content in the enamel ash, %	
	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
Gel	37.39±2.17	38.21±2.72	23.88±0.78	24.70±0.45
	36.57±1.32	40.67±3.14	25.92±0.96	27.25±0.62
	32.81±1.54	36.08±1.11	24.77±0.64	26.90±1.37
	34.42±1.53	37.25±2.07	26.05±0.89	27.48±0.96
	36.17±2.23	39.02±2.52	25.59±0.37	27.13±1.05
Drug films	36.57±0.98	39.03±1.56	29.12±1.06	29.45±0.39
	38.21±2.30	39.03±2.98	23.28±0.18	25.15±0.98
	31.16±1.62	39.6±2.45	26.38±0.71	26.68±0.59
	35.12±1.44	38.06±1.17	25.68±0.67	26.72±0.41
	37.39±2.01	38.21±2.27	23.88±0.65	24.70±0.54

Basing on the data presented in Table 1, it has been established that the developed dosage forms for the treatment of enamel caries significantly increase the content

of calcium and phosphorus in the tooth enamel. The gel and drug films show the remineralizing activity comparable to each other that significantly exceed the control

indices and can be used interchangeably when applied at the discretion of the attending physician.

Electrometric study. A preliminary examination of the patients revealed the presence of focal enamel demineralization with different intensity of lesion on the vestibular surface of the teeth of the frontal group. While probing it was established that the enamel in the area of the foci of demineralization had a matte and rough surface. In 41.1% of cases, the enamel demineralization foci were from 1.5 to 2 mm, the average degree of staining was from 4 to 5 points, and the average staining value was 4.6 ± 0.21 mm. In 58.9% of cases, larger enamel demineralization foci with the size from 3 to 4 mm were detected (3 patients had the area of focal enamel demineralization larger than 4.5 mm).

As a result of the course use of drug films for 30 days, all the patients showed a tendency to reduce the intensity of the lesion of the surface enamel layer. In 26.7% of cases (12 patients), enamel staining was absent, 44.4% of observations (20 patients) showed a low degree of staining, in 28.9% of cases (13 patients), an average degree of staining was noted. The sizes of the focal enamel demineralization significantly reduced from 4.5 mm to 2.5–3 mm. The foci of demineralization with a degree of staining of 6 points or more were not found out. After the course of treatment, the patients did not complain of the increased sensitivity, and the sensitivity of the enamel was absent when probing the focus of demineralization, being an important criterion for demonstrating the remineralizing activity of drug films. With further application of the drug films, a decrease in the dimensions of the demineralization foci and their complete disappearance

was observed. Besides, a number of patients stopped suffering from dullness and roughness of the enamel surface in the area of focal demineralization; the surface has become smooth and shiny.

Electrometric studies indicate that the use of drug films contributed to the decrease in the electrical conductivity of enamel and increased the degree of enamel mineralization by the factor of 1.5–2. At the initial survey of the focal enamel demineralization, the electrical enamel conductivity (EEC) was from 3.6 μ A to 2.5 μ A, and 30 days after treatment the EEC decreased to 1.7–1.5 μ A. With a more prolonged treatment of the enamel focal demineralization, the EEC decreased to 1.15–0.2 μ A.

Basing on the results of the electrometric study presented above, it is possible to draw a conclusion about the favorable effect of drug films on tooth enamel. In particular, the remineralizing efficiency of the drug films was confirmed by the increase in the hardness of the enamel structure, a decrease in the staining intensity of the focal enamel demineralization spots, a decrease in the sensitivity of the teeth to stimuli of various nature, until its complete disappearance. Thus, the developed drug films can be recommended to be used as a therapeutic and prophylactic agent that contributes to the improvement of the condition of hard tooth tissues.

CONCLUSION. As a result of the studies conducted in vivo and in vitro, it has been established that saturating the tooth enamel with calcium and phosphorus ions, the developed dosage forms have a remineralizing effect and, therefore, can be recommended for increasing the effectiveness of prevention and treatment of the initial enamel caries.

Библиографический список

1. Зайцев А.Н. Распространенность кариеса зубов // Сибирский медицинский журнал. 2004. №6. С. 86–88.
2. Cochrane N.J., Cai F., Hug N.L., Burrow M.F., Reynolds E.C. New Approaches to Enhanced Remineralization of Tooth Enamel // Journal of Dental Research. 2010. Vol. 89 (11). P. 1187–1197.
3. Барковский Е.В., Бувиловский А.В., Кармалькова И.С. Химические основы деминерализации и реминерализации эмали зубов // Вестник ВГМУ. 2011. №1 (10). С. 143.
4. Федоров Ю.А., Дрожжина В.А., Матело С.К., Туманова С.А. Клинические возможности применения современных реминерализующих составов у взрослых // Клиническая стоматология. 2008. №3 (47). С. 32–34.
5. Eric C. Reynolds Calcium phosphate-based remineralization systems: Scientific evidence? // Australian Dental Journal. 2008. Vol. 53. Is. 268. P. 73. URL: https://www.researchgate.net/publication/23248073_Calcium_phosphate-based_remineralization_systems_Scientific_evidence (дата обращения: 01.10.2017)
6. Fontana M., Walsh L.J., Amaechi B.T., Ngo H.C. Aids to remineralization. In Graham J. Mount, Wyatt R. Hume, Hien C. Ngo and Mark S. Wolff (Ed.), Preservation and restoration of tooth structure Third edition ed. Chichester, West Sussex, United Kingdom: John Wiley & Sons. 2016. P. 67–80.
7. Голованенко А.Л., Березина Е.С., Третьякова Е.В., Першина Р.Г. Стандартизация пленок для лечения кариеса эмали // Фундаментальные исследования. 2014. № 9 (5). С. 1038–1041.
8. Рюмина Т.Е., Голованенко А.Л., Третьякова Е.В., Березина Е.С. Биофармацевтические исследования геля и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 4. URL: <http://www.science-education.ru/127-20690> (дата обращения: 22.07.2015).
9. Голованенко А.Л., Березина Е.С., Третьякова Е.В., Алексеева И.В. Стандартизация геля для реминерализации эмали // Химико-фармацевтический журнал. 2015. № 12 (49). С. 47–50.
10. Третьякова Е.В., Березина Е.С., Голованенко А.Л., Алексеева И.В. Валидация методик количественного определения компонентов в пленках лекарственных для лечения кариеса эмали // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 1. URL: <http://www.science-education.ru/121-19155> (дата обращения: 19.05.2015).
11. Голованенко А.Л., Третьякова Е.В., Березина Е.С., Алексеева И.В. Современный подход к разработке лекарственных форм для проведения реминерализующей терапии // Медицинский альманах. 2017. № 2 (47). С. 141–145.

12. Третьякова Е.В., Махмудов Р.Р., Голованенко А.Л. Исследование острой токсичности гелей и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали и дентина // Биофармацевтический журнал. 2017. № 2 (9). С. 59–61.
13. Булкина Н.В., Пудовкина Е.А., Захаревич А.М. Ультрамикроскопическое исследование процессов деминерализации и реминерализации эмали // Стоматология. 2012. № 3. С. 11–14.
14. Леонтьев В.К., Петрович Ю.А. Биохимические методы исследования в клинической и экспериментальной стоматологии. Омск, 1976. 89 с.
15. Боровский Е.В., Максимовская Л.Н. Содержание кальция, фосфора и фтора в поверхностном слое эмали при кариесе и сходных с ним поражениях зубов // Стоматология. 1982. № 3. С. 32–34.
16. Петрухина О.М. Аналитическая химия. Химические методы анализа. М.: Химия, 1992. 400 с.
17. Леонтьев В.К., Иванова Г.Г., Жорова Т.Н. Электрометрическая диагностика поражений твердых тканей зубов // Стоматология. 1990. №5. С. 19–24.
18. Государственная Фармакопея РФ, XIII издание. 2015. Том 1. 1470 с.

References

1. Zaytsev AN. Rasprostranennost kariesa zubov [Prevalence of dental caries]. Siberian Medical Journal. 2004;6:86–8. Russian.
2. Cochrane NJ, Cai F, Hug NL, Burrow MF, Reynolds EC. New Approaches to Enhanced Remineralization of Tooth Enamel. Journal of Dental Research. 2010;89(11):1187–97.
3. Barkovskiy EV, Buvilovskiy AV, Karmalkova IS. Himicheskie osnovy demineralizatsii i remineralizatsii email zubov [Chemical basis of demineralization and remineralization of tooth enamel]. Vestnik VGMU 2011;1(10):143. Russian.
4. Fedorov YUA, Drojjina VA, Matelo SK, Tumanova SA. Klinicheskie vozmojnosti primeneniya sovremennykh remineralizuyushchih sostavov u vzroslykh [Clinical possibilities of application of modern remineralizing compositions in adults]. Clinical stomatology. 2008;3(47):32–4. Russian.
5. Eric C Reynolds. Calcium phosphate-based remineralization systems: Scientific evidence? Australian Dental Journal. [Internet] 2008 [cited 2017 Nov 01]. 53(3):268–73. Available from: https://www.researchgate.net/publication/23248073_Calcium_phosphate-based_remineralization_systems_Scientific_evidence.
6. Fontana M, Walsh LJ, Amaechi BT, Ngo HC. Aids to remineralization. In Graham J. Mount, Wyatt R. Hume, Hien C. Ngo, Mark S. Wolff, editors. Preservation and restoration of tooth structure Third edition ed. 2016:67–80. Chichester, West Sussex, United Kingdom: John Wiley & Sons.
7. Golovanenko AL, Berezina ES, Tretyakova EV, Pershina RG. Standartizatsiya plenok dlya lecheniya kariesa email [Standardization of films for the treatment of enamel caries]. Fundamental research. 2014;9(5):1038–41. Russian.
8. Ryumina TE, Golovanenko AL, Tretyakova EV, Berezina ES. Biofarmatsevticheskie issledovaniya gelya i plenok lekarstvennykh dlya lecheniya kariesa email [Biopharmaceutical studies of gel and drug films for the treatment of enamel caries]. Modern problems of science and education. [Internet]. 2015;4. [cited 2015 Jul 22]. Available from: <http://www.science-education.ru/127-20690> Russian.
9. Golovanenko AL, Berezina ES, Tretyakova EV, Alekseeva IV. Standartizatsiya gelya dlya remineralizatsii emali [Standardization of gel for remineralization of enamel]. Chemical and Pharmaceutical Journal. 2015;12(49):47–50. Russian.
10. Tretyakova EV, Berezina ES, Golovanenko AL, Alekseeva IV. Validatsiya metodik kolichestvennogo opredeleniya komponentov v plenakh lekarstvennykh dlya lecheniya kariesa email [Validation of the methods of quantitative determination of components in drug films for the treatment of enamel caries]. Modern problems of science and education. [Internet]. 2015;1. [cited 2015 May 19]. Available from: <http://www.science-education.ru/121-19155> Russian.
11. Golovanenko AL, Tretyakova EV, Berezina ES, Alekseeva IV. Sovremennyy podhod k razrabotke lekarstvennykh form dlya provedeniya remineralizuyushchey terapii [Modern approach to the development of medicinal forms for remineralizing therapy]. Medical Almanac. 2017;2(47):141–5. Russian.
12. Tretyakova EV, Mahmudov RR, Golovanenko AL. Issledovanie ostroy toksichnosti geley i plenok lekarstvennykh dlya lecheniya kariesa emali i dentina [A study of the acute toxicity of gels and drug films for the treatment of enamel and dentin caries]. Biopharmaceutical Journal. 2017;2(9):59–61. Russian.
13. Bulkina NV, Pudovkina EA, Zaharevich AM. Ultramikroskopicheskoe issledovanie protsessov demineralizatsii i remineralizatsii email [Ultramicroscopic study of the processes of demineralization and remineralization of enamel]. Stomatologiya. 2012;3:11–4. Russian.
14. Leontev VK, Petrovich YUA. Biohimicheskie metody i issledovaniya v klinicheskoy i eksperimentalnoy stomatologii [Biochemical methods of research in clinical and experimental dentistry]. Omsk;1976. 89 p.
15. Borovskiy EV, Maksimovskaya LN. Soderzhaniekaltsiya, fosfora i flora v poverhnostnom sloe email pri kariесе i shodnykh s nim porazheniyah zubov [The content of calcium, phosphorus and fluorine in the surface layer of the enamel in caries and similar dental lesions]. Stomatologiya. 1982;3:32–4. Russian.
16. Analiticheskaya himiya. Himicheskie metody i analiza [Analytical chemistry. Chemical methods of analysis]. Petruhin OM, editor. Moscow: Himiya;1992. 400 p. Russian.
17. Leontev VK, Ivanova GG, Jorova TN. Elektrometricheskaya diagnostika porazheniy tverdykh tkaney zubov [Electrometric diagnostics of lesions of hard tissues of teeth]. Stomatologiya. 1990;5:19–24. Russian.
18. Gosudarstvennaya Farmakopeya RF [State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. XIII edition. 2015;1:1470. Russian.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Авторы

Голованенко Анна Леонидовна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Пермской государственной фармацевтической академии» МЗ РФ. Область научных интересов: теоретическое и экспериментальное обоснование создания лекарственных препаратов реминерализующего действия для профилактики и лечения кариеса. E-mail: annagolovanenko@yandex.ru.

Третьякова Екатерина Владимировна – ассистент кафедры фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Пермской государственной фармацевтической академии» МЗ. Область научных интересов: разработка составов, технологии и стандартизация лекарственных форм для лечения кариеса эмали. РФ. E-mail: tiloket@mail.ru.

Патлусова Елена Сергеевна – заведующая патологоанатомического отделения государственного бюджетного учреждения здравоохранения Пермского края «Краевой детской клинической больницы». Область научных интересов: проведение гистологических и морфометрических исследований лекарственных препаратов многофакторного действия, применяющихся в стоматологии. E-mail: info@permkdkb.ru

Алексеева Ирина Владимировна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Пермской государственной фармацевтической академии» МЗ РФ. Область научных интересов: комплексные исследования по созданию лекарственных форм для лечения раневых и воспалительных процессов на основе местноанестезирующего средства – анилокаина. E-mail: alekseeva@pfa.ru.

Березина Елена Станиславовна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО, ФГБОУ ВО «Пермской государственной фармацевтической академии» МЗ РФ. Область научных интересов: разработка, модификация и апробация методик испытания на подлинность и количественного определения лекарственных средств в лекарственных препаратах для профилактики и лечения кариеса. E-mail: berezina@pfa.ru.

Першина Роза Галимзяновна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры стоматологии факультета ДПО ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет» им. академика Е.А. Вагнера. Область научных интересов: клинико-лабораторные исследования реминерализующей эффективности лекарственных препаратов для профилактики и лечения кариеса. E-mail: stomatpsma@gmail.com

Authors

Golovanenko Anna Leonidovna – PhD (Pharmacy), docent of the Department of Pharmaceutical Technology of FSAEI HE “Perm State Pharmaceutical Academy”. Research interests: theoretical and experimental justification for the creation of remineralizing drugs for the prevention and treatment of caries. E-mail: annagolovanenko@yandex.ru

Tret'yakova Ekaterina Vladimirovna – assistant student of the Department of Pharmaceutical Technology of FSAEI HE “Perm State Pharmaceutical Academy”. Research interests: formulation, technology and standardization of dosage forms for the treatment of enamel caries. E-mail: tiloket@mail.ru.

Patlusova Elena Sergeevna – Head of the Department of Morbid Anatomy, State budgetary health care institution of the Perm region “Regional Children’s Clinical Hospital”. Research interests: carrying out histological and morphometric studies of multifactorial drugs used in dentistry. E-mail: info@permkdkb.ru

Alekseeva Irina Vladimirovna – PhD (Pharmacy), Professor of the Department of Pharmaceutical Technology of FSAEI HE “Perm State Pharmaceutical Academy”. Research interests: comprehensive research on the development of medicinal forms for the treatment of wound and inflammatory processes based on local anesthetics – anilocaine. E-mail: alekseeva@pfa.ru.

Berezina Elena Stanislavovna – PhD (Pharmacy), docent of the Department of Pharmaceutical Chemistry (faculty of Additional Professional Education and Industrial Training), FSAEI HE “Perm State Pharmaceutical Academy”. Research interests: development, modification and approbation of test methods for authenticity and quantitative determination of medicinal products in medicinal preparations for prevention and treatment of caries. E-mail: berezina@pfa.ru.

Pershina Roza Galimzyanovna – PhD (Medicine), docent of the Department of Dentistry, faculty of FVE (further vocational education) of FSAEI HE “Perm State Medical University” n.a. E.A. Vagner. Research interests: clinical and laboratory studies of the remineralizing effectiveness of drugs for the prevention and treatment of caries. E-mail: stomatpsma@gmail.com

Поступила в редакцию: 21.05.2018
Отправлена на доработку: 21.06.2018
Принята к печати: 16.07.2018

Received: 21.05.2018
Sent back for revision: 21.06.2018
Accepted for publication: 16.07.2018

УДК 615.11 (09)



ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВ И «ГАЛЕНОВЫХ» ПРЕПАРАТОВ НА ПРИМЕРЕ РЕЦЕПТУРНЫХ ПРОПИСЕЙ «АНТИДОТАРИЯ» НИКОЛАЯ ИЗ САЛЕРНО

Ф.Д. Воронов, И.Н. Ружинская

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Петрозаводский государственный университет» (ПетрГУ),
185910, Россия, Республика Карелия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33

Цель. В исследовании рассматривается проблема схожести принципов и подходов технологий лекарств в средневековом манускрипте «Антидотарий» Николая из Салерно с современными аптечными фармацевтическими технологиями. Данная статья посвящена текстологическому исследованию прописей «Антидотария», детальному изучению содержания рукописи, рецептуры и технологий изготовления лекарств. **Материалы и методы.** Для достижения поставленной цели были выделены, систематизированы и проанализированы восемьдесят пять рецептов «Антидотария» в документальном переводе со средневекового французского языка. С помощью факторного анализа исторического источника и современной научной литературы осуществляется междисциплинарное изучение содержания рукописи. **Результаты и обсуждение.** Описав содержание и аспекты рецептурных формул «Антидотария», авторы отмечают подобие технологий лекарств и «галеновых» препаратов с современной фармацевтической технологией, в частности с аптечной технологией лекарств. Указывается, что препараты, созданные на основе лекарственного растительного сырья, могут быть средствами терапии второго ряда для завершения лечения после применения основных фармакологических препаратов. **Заключение.** Результаты данной работы раскрывают потенциал применения лекарственных препаратов растительного происхождения в условиях современной доказательной медицины, в частности, в системе организации длительного лечения и вторичной профилактики хронических заболеваний у больных, которым необходимо сохранить трудоспособность и обеспечить достаточно высокий уровень качества жизни. Подробный перевод полного текста манускрипта, анализ содержания в соответствии с требованиями рациональной фармакотерапии и фитотерапии способствует дальнейшему выявлению перспективы создания новых лекарственных препаратов, многокомпонентных по своему химическому составу, обладающих широчайшим спектром терапевтических эффектов.

Ключевые слова: Антидотарий, Dorveaux, технология лекарств, галеновые препараты

TECHNOLOGY OF MEDICINES AND GALENICAL PREPARATIONS: THE CASE OF PRESCRIPTION FORMULAS FROM “ANTIDOTARIUM” NICOLAI BY NICHOLAS OF SALERNO

F.D. Voronov, I.N. Ruzhinskaya

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education “Petrozavodsk State University” (PetrSU),
33, Lenin Str., Petrozavodsk, Republic of Karelia, Russia, 185910

Introduction. This study deals with the problem of similarity of the principles and approaches of drug technologies in the medieval manuscript “Antidotarium Nicolai” by Nicholas of Salerno with modern pharmaceutical technologies. **The aim** of study is a textual investigation of “Antidotarium Nicolai”, a detailed research of the content of the manuscript, recipes and technologies for making medicines. **Materials and methods.** In order to

Для цитирования:

Воронов Ф.Д., Ружинская И.Н.
ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВ И «ГАЛЕНОВЫХ»
ПРЕПАРАТОВ НА ПРИМЕРЕ РЕЦЕПТУРНЫХ
ПРОПИСЕЙ «АНТИДОТАРИЯ»
НИКОЛАЯ ИЗ САЛЕРНО.
Фармация и фармакология. 2018;6(4):389-397.
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-389-397
© Воронов Ф.Д., Ружинская И.Н., 2018

For citation:

Voronov F.D., Ruzhinskaya I.N.
TECHNOLOGY OF MEDICINES AND GALENICAL
PREPARATIONS: THE CASE OF PRESCRIPTION
FORMULAS FROM “ANTIDOTARIUM NICOLAI”
BY NICHOLAS OF SALERNO.
Pharmacy & Pharmacology. 2018;6(4):389-397. (In Russ).
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-4-389-397

achieve this goal, eighty-five recipes of "Antidotarium Nicolai" have been identified, systematized and analyzed in a documentary translation from medieval French. An interdisciplinary study of the content of the manuscript was carried out with the help of factor analysis of the historical source and modern scientific literature. **Results and discussion.** Having described the content and aspects of the prescriptions of "Antidotarium Nicolai", the authors note the similarity of the technologies of drugs and galenical preparations with modern pharmaceutical technology, in particular, with the technology of pharmacy production. In "Antidotarium Nicolai" it is stated that preparations based on herbal medicinal raw materials may be second-line therapy agents for completing treatment after the application of basic pharmacological preparations. **Conclusion.** The results of this work reveal the potential for the use of herbal medicines in the conditions of modern evidence-based medicine, in particular, in the organization of long-term treatment and secondary prevention of chronic diseases in patients who need to maintain their ability to work, and provide them with a sufficiently high level of quality of life. A detailed translation of the full text of the manuscript, the analysis of its content in accordance with the requirements of rational pharmacotherapy and phytotherapy, further favors to identify the prospects for the development of new drugs, multi-component in their chemical composition with a wide range of therapeutic effects.

Keywords: "Antidotarium Nicolai", Paul Dorveaux, technology of medicines / drugs, galenical preparations, unified pharmaceutical system of units of measurement

ВВЕДЕНИЕ. Технология лекарств, как базовая часть фармацевтической науки, оказывает фундаментальное влияние на медицину и здравоохранение в целом. Ведя свою историю с древних времен, она видоизменялась под влиянием эволюционных факторов и региональных особенностей медицинских школ. Ярким примером этого являлась Средневековая Европа, где произошло своеобразное слияние медицинских знаний, накопленных Западом и Востоком. Свидетельством такого взаимопроникновения стала рукопись «Антидотарий» за авторством мастера Николая из Салерно. Данный манускрипт был главной фармакопеей всего Средневекового мира [1]. Актуальность данной работы в наше время заключается в исследовании технологий изготовления лекарств «Антидотария» по рецептам, переведенных на русский язык, а также исследование их практического потенциала для современного здравоохранения. Таким образом, через изучение состава прописей манускрипта ставится ЦЕЛЬ сравнить средневековую технологию изготовления лекарств и «галеновых» препаратов с современными принципами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Для достижения поставленной цели были выделены, систематизированы и проанализированы восемьдесят пять рецептов «Антидотария» Николая из Салерно в документальном переводе со средневекового французского языка. Сравнение источникового корпуса с историографическим материалом по технологии лекарств дало возможность междисциплинарного изучения прописей «Антидотария». Это позволяет выделить доминанту изучаемой проблемы. Гипотезой исследования является тезис о подобности принципов и подходов к изготовлению лекарств в рецептурных формулах «Антидотария» мастера Николая из Салерно с современными фармацевтическими технологиями.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Для рассмотрения средневековой технологии изготовления лекарств и «галеновых» препаратов был осуществлен перевод «Антидотария» Николая из Салерно, также известного как «Малый Антидотарий». Данный труд был разработан в Медицинской Школе Салерно на основе «Великого

Антидотария» мастером Николаем. Согласно многолетним работам доктора фармацевтических наук, профессора Владимира Федоровича Семенченко, «Антидотарий» был составлен в 1140 г. действующим ректором Салернской медицинской школы, Николаем [2]. Карл Зудгоф, немецкий врач и историк медицины, в своей работе соотносил упоминания о рукописи с 1100 г [3]. Таким образом, «Антидотарий» Николая из Салерно относится к греко-арабскому периоду развития Салернской медицинской школы.

Сама рукопись чрезвычайно масштабна: в ней собраны и систематизированы древнегреческие, римские, восточные знания первоисточников. Со временем она пополнилась уникальными прописями, уточнениями и определениями [3]. «Антидотарий» оказал столь огромное влияние на развитие фармации и медицины в целом, что использовался вплоть до XVII в., когда повсеместно стали появляться официальные региональные фармакопеи.

Несмотря на большое количество переизданий, наиболее важными являются переводы «Антидотария» на средневековый английский, средневековый французский и голландский языки. На сегодняшний день основной интерес представляет перевод манускрипта на средневековый французский язык. В научном сообществе принято считать, что французский язык наиболее близок к латыни, но не к «классической», а скорее «деревенской» – *lingua romana rustica*, обозначающий романский (французский) язык [4, 5]. Ввиду того, что оригинал был написан на средневековой латыни, данная лингвистическая форма ближе к первоначальному языку рукописи. Таким образом, за основу была взята работа Paul Dorveaux (1851–1938 гг.). Издание, вышедшее в 1896 г., называлось «*L'antidotaire Nicolas. Deux traductions françaises de l'antidotarium Nicolai. L'une du XIV^e siècle suivie de quelques recettes de la même époque et d'un glossaire. L'autre du XV^e siècle incomplète. Publiées d'après les manuscrits français 25327 et 14827 de la Bibliothèque nationale*». Автор, являясь французским историком и врачом, восстановил 85 прописей на средневековом французском языке. Для сравнения, в наиболее ран-

ней копии «Антидотария» Николая, датируемой второй половиной XII в. и хранящейся на сегодняшний день в Национальной Библиотеке Великобритании, описано 119 рецептурных формул [6]. Данное различие связано с тем, что перевод *Paul Dorveaux* базировался на иной редакции «Антидотария» Николая из Салерно, вероятнее XIV в.

Все представленные в средневековом французском варианте прописи «Антидотария» имеют идентичную структуру. В начале дается определение лекарственного средства, далее приводятся примеры его медицинского применения, часто сопровождающиеся универсальным словосочетанием «Оно подходит для...». Например, седьмая пропись «*Antidotum Emagogum*» определяет, что лекарство «очищает матку, и дается против множества проблем у женщин после родов». Или сорок третья пропись, «*Metridatum*», «мать всех антидотов, подходящий при боли в голове, в ушах, в зубах и небе, постепенно начинающей и растущей». Такое определение в некоторой степени характеризовало фармакодинамические свойства указанных лекарств, помогая подбирать «мастеру» необходимое средство в каждом конкретном случае.

Далее, в рецептах содержится «*Designatio materialium*» (или «*Originatio*») – это перечисление всех веществ, из которых следовало готовить лекарственный препарат. Данная часть рецепта являлась чрезвычайно важной, так как от нее зависел состав, и, как следствие, действие лекарственного препарата. Начинаясь со слова «*Pren.*», означающего на средневековом французском «Возьмите» (аналог современного «*Recipe*»), в рецептах «Антидотария» перечислялись все входящие в лекарственное средство ингредиенты. Необходимо отметить, что данная составная часть рецепта могла насчитывать совсем незначительное число компонентов. Так, например, в пятьдесят седьмом рецепте «*Quadrumeron*», применяющемся «при астме, при катаре, молчании, при ознобе живота и слабости почек», использовалось всего четыре ингредиента: Девясил высокий, Фенхель флорентийский, Перец, Кумин. Однако некоторые прописи, как двадцать девятый рецепт «*Esdra*», подходящий «при меланхолии, боязни и плохом аппетите», содержал девятнадцать ингредиентов, необходимый для изготовления лекарства. Вероятно, данный феномен был связан с особыми показаниями к применению лекарственного препарата, предназначенного для лечения психических расстройств и расстройств поведения.

Не менее важной особенностью «Антидотария» был факт того, что все лекарственные вещества, перечисляемые в прописях рукописи, указывались без сокращений, но в обычной последовательности. В современной фармацевтической технологии при перечислении ингредиентов, как известно, принято писать каждое вещество отдельной строкой с прописной буквой. Заглавной буквой в «Антидотарии» отмечалось только начало нового рецепта. Данный фактор интересен тем, что обычно лекарственные

вещества прописываются в порядке их важности. Вначале указывают основное лекарственное средство (*basis*), и затем прописывают вспомогательные вещества (*adjuvans*). Выделить основное действующее вещество в рецептах «Антидотария» достаточно затруднительно по целому ряду обстоятельств, в том числе, ввиду многовариативности используемых соединений. Часть веществ выполняли роль наполнителя, придававшего определенную форму (*constituens*), иные – корригента вкуса и запаха (*corrigenes*). Интерес вызывает и тот факт, что тридцать два рецепта лекарственных средств в исследуемой рукописи завершаются добавлением мёда. Мёд выполнял функцию консерванта, сохраняя приготовленное лекарство от появления неприятного вкуса, запаха, заплесневения и образования токсинов микробного происхождения. Во вступлении рукописи этому важному свойству мёда Николай из Салерно выделил специальное место: «Чтобы сохранить их должно держать в мёде чистом, и иметь его достаточно для сохранения пряностей и лекарств; мёд может быть приготовлен вместе со специями, и для очищения его, и для удаления горечи».

После перечисления группы лекарственных веществ приводилось их количество, с точным указанием весовых единиц. Необходимо отметить, что именно в «Антидотарии» Николая из Салерно были унифицированы аптекарские единицы измерения, а также даны четкие характеристики и определения грану, драхмы, унции, фунту. Позднее, Салернские аптекарские меры веса получили распространение во всем мире и стали более известны как Нюрнбергские разновесы [7]. Основой системы мер в «Антидотарии» являлся «драхм», весовая единица в алхимии и фармацевтике, соответствующая приблизительно 3 граммам и 82 сантиграммам. Второй весовой единицей по частности использования являлась «унция». Ее первое упоминание встречается в пятой прописи «*Alcancalon*», используемой «против острой лихорадки». Одна «унция» приблизительно соответствовала 30 граммам. Один «фунт», упоминающийся в рукописи, равнялся 12 «унциям». Позже, уже в Париже, он стал равняться 14 «унциям». Взяв за расчет соответствие «унции» 30 граммам, можно определить, что один «фунт» равнялся 360 граммам (приблизительно 94 «драхмам»). Самый небольшой вес имел «гран», эквивалентный 53 миллиграммам (1/72 «драхмы»). В «Антидотарии» есть упоминания о необычных мерах весов, такие как «Солида» (от лат. *solidus* – твердый, прочный, массивный). «Солида» – это римская золотая монета, выпущенная в 309 году н. э. императором Константином. Одна такая монета весила 1/72 римского «фунта», то есть 4,55 грамма, и ее вес использовался для определения количества субстанций при приготовлении некоторых мягких лекарственных форм. Представленная система единиц измерения, унифицированная Николаем из Салерно, позволила «Антидотарию» стать наиболее четким и ясным практическим пособием по изготовлению ле-

карственных средств. Определяя конкретные дозы фармацевтических субстанций, Николай стремился минимизировать небрежность при приготовлении лекарств и при их приеме.

Интересной особенностью прописей «Антидотария» является «предписание», или, так называемая «подпись» («*Praescriptio*» или «*Subscriptio*»). В данной части рецепта указывалось и то, как следовало готовить необходимую лекарственную форму, и то, какие технологические операции необходимо было совершить в процессе создания препарата. Для описания всего комплекса лекарственных форм, указанных в «Антидотарии», наиболее удобна, на наш взгляд, классификация по агрегатному состоянию, предложенная русским фармацевтом и фармакологом Юлием Карловичем Траппом (1814–1908 гг.). Согласно ей, все формы лекарств можно поделить на четыре группы [8]. Соотнесение «Антидотария» с предложенной классификацией позволяет выявить следующие группы лекарственных форм:

- твердые лекарственные формы (пастилки, гранулы);
- жидкие лекарственные формы (растворы, суспензии, настои и отвары, сиропы, микстуры, медицинские масла, ароматные воды);
- мягкие лекарственные формы (электуарии, мази, пластыри, пилули).

Описания технологий приготовления представленных лекарственных форм присутствовали не в каждой прописи. Часто они начинались со словосочетания «Оно готовится так...». Технологии сопровождалась подробной инструкцией с указанием этапов приготовления изготавливаемого лекарства. В частности, были четко расписаны следующие стадии:

- подготовки и измельчения сырья;
- порядка добавления и смешивания ингредиентов;
- настаивания и кипячения при определенных температурах;
- перемешивания, фильтрования через сито и отжима сырья;
- растворения лекарственных веществ;
- определения готовности, путем помещения капли раствора на мрамор, и дальнейшего определения клейкости;
- времени и места хранения приготовленного средства.

Указанные, таким образом, технологии изготовления были чрезвычайно подробны и проработаны. В сочетании с применением четкой системы единиц измерения исключалась возможность ошибки или неверного толкования при приготовлении даже самых сложных лекарственных средств суммарного состава. На сегодняшний день, такая технология изготовления лекарств считается одной из относительно простых [8].

Завершающей частью рецептурной прописи «Антидотария» являлась сигнатура (*Signatura*). Известно, что содержание данного фрагмента, зача-

стую, предназначается для самого больного, так как именно в этой части указывается схема приема лекарственного средства. Сигнатура всегда расписывается максимально подробно, с указанием дозы, частоты и времени приема лекарства. Интересно, что в двадцати шести рецептурных прописях «Антидотария», лекарство рекомендовалось принимать с вином (с теплым, белым, сладким, с шалфеем). Например, двенадцатую пропись «*Diamargariton*», которую назначали «при болях сердечной и желудочной, при пороках дыхания», должно было принимать «летом с водой, а зимой с вином». Пятьдесят первая пропись «*Pigra Galieni*», «подходящая при ознобе головы, расстройстве желудка и живота, рвоте», принималась в ванне вместе с теплым вином. Часть лекарств рекомендовалось использовать только совместно с горячими травяными чаями, с отварами трав, с холодной или теплой водой, с сиропами или засахаренным имбирём. От выбора жидкости для приема, согласно «Антидотарию», зависело и превращение лекарства в организме (фармакокинетика) и механизм действия лекарства на организм (фармакодинамика).

Заслуживает внимания и тот факт, что одной из наиболее часто упоминаемых в тексте дозировок приема лекарственного средства является «в количестве/в массе одного плода Каштана». Но вес плода каштана может варьироваться от 10 до 25 грамм в зависимости от разновидности, что является крайне большим диапазоном при дозировании лекарственных средств, особенно такого сложного состава. Тем не менее, такие весовые единицы были чрезвычайно точнее, чем простое дозирование лекарств «на глаз». Помимо «плодов Каштана», лекарственные формы дозировались совершенно разнообразно. Некоторые лекарственные средства давались в строгом количестве драхм, некоторые по определенному количеству пилуль, другие – по количеству ложек на один прием, или даже подвергались ингаляции. Для мягких лекарственных форм, таких как мази, указывалась даже необходимость применения в особых условиях – на солнечном свете или в тепле.

Нельзя не отметить упоминания в «Антидотарии» еще целого комплекса способов применения лекарств. Николай из Салерно уточнял, что отдельные лекарства следовало принимать после еды, а некоторые «натошак». Приём осуществлялся в точно отведенное время (утром и/или вечером, а иногда и ночью) и, как правило, на точно указанный срок. Так, например, двадцать четвертая пропись «*Diacastoreum*», что «подходит при боли в голове и немощи», принималась только утром в течение трех дней. Четкое указание по приему лекарственных средств делало «Антидотарий» чрезвычайно востребованным как в медицинской практике, так и при подготовке специалистов того времени. Не случайно «*Antidotarium Nicholai*» был широко востребован во многих средневековых университетах, включая Оксфорд и Кембридж, и был частью обязательного чтения для получения степени в области медицины [9].

В сигнатурах некоторых прописей «Антидотария» учитывалась возможность добавления дополнительных субстанций в рецептуру. Часть из них была необходима для расширения области применения приготовленного средства, возможно для устранения или минимизации побочных эффектов. Так, добавление двух драхм смолы Вьюнка смолоносного (лат. *Convolvulus scammonia*) к лекарственному средству «от различных страданий головы, ушей, живота и печени» («*Yerapigra*»), оказывало сильное слабительное действие. Но в указанных дополнениях к сигнатурам четкость дозировки компонентов, как правило, уже не соблюдалась. Можно предположить, что данные замечания не принадлежали руке самого Николая, а были добавлены редакторами и комментаторами рукописи позднее [3].

ОБСУЖДЕНИЕ. Описав содержание и технологические аспекты рецептурных формул «Антидотария» Николая из Салерно, можно отметить принципы и подходы к изготовлению лекарств, схожие с современной фармацевтической технологией, в частности с аптечной технологией лекарств. Это направление фармацевтической технологии в Англии, Франции, Голландии носит название «галеновой фармации» или «рецептурного искусства» [8]. Основа данной дисциплины, как и в Средневековье, базируется на работе с «официальными» прописями, готовящимися по стандартизированной и утвержденной рецептуре. Современный формат рецепта сохранился практически без изменений, включив сходные с «Антидотарием» разделы, такие как указанные на латинском языке обращения, перечисления лекарственных веществ, дозирования, предписания. Дополнительно введенные разделы посвящены юридическому значению рецепта, в частности наименованию лечебно-профилактического учреждения, имени лечащего врача, принимающего на себя ответственность за правильность назначения, и имени пациента.

Однако технология лекарств, в частности «галеновых» препаратов, претерпела определенные изменения, которые сформировали современную подгруппу «новогаленовых» препаратов. Данная субгруппа представляет собой аналогичные извлечения из лекарственного растительного сырья, но максимально освобожденные от «балластных» веществ [8]. Такие вещества являются для данного типа препаратов излишними, негативно влияющими на эффективность применения лекарства и, как следствие, на успех терапии. Подобная очистка производится максимально бережно, без применения сильных химических реа-

гентов или высокотермических процессов, позволяя сохранять действующим веществам свое исходное, природное состояние.

Таким образом, «галеновые» препараты сегодня находят свое логическое продолжение в виде «новогаленовых» препаратов. Схожие по сложности входящих в состав комплексов действующих веществ, данные группы средств имеют определенные преимущества перед синтетическими химическими препаратами [10]. Использование препаратов, созданных на основе лекарственного растительного сырья, нередко безопаснее для лечения, чем применение синтетических препаратов. Так, во многих странах отмечается возрастающий интерес к лекарственным препаратам природного происхождения, обусловленный как особенностями химического состава препаратов природного происхождения, компоненты которых по структуре близки к метаболитам человеческого организма, так и относительной безопасностью их применения. Данный фактор позволяет рекомендовать эти препараты гораздо чаще, чем синтетические, для симптоматического, профилактического лечения или безрецептурного применения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Экстемпоральное изготовление со Средних веков по настоящее время остается востребованной фармацевтической услугой. Производственные аптеки являются социально значимым показателем качества лекарственного обеспечения и лекарственной помощи для широких категорий граждан. На сегодняшний день, в большинстве современных производственных аптек изготавливают лекарственные формы, широко представленные в прописях «Антидотария» Николая из Салерно. Несмотря на многокомпонентность состава, влияющего на терапевтический эффект и стоимость изготавливаемого препарата, часть рецептурных прописей имеет доступную технологию изготовления, которую возможно воспроизвести в условиях современных производственных аптек. Что касается терапевтического аспекта, необходимо указать, что «галеновые препараты» могут быть средствами терапии второго ряда для завершения лечения после применения основных лекарств. Это особенно важно при длительном лечении и при вторичной профилактике хронических заболеваний. Таким образом, в «Антидотарии» Николая из Салерно заключен определенный потенциал, заслуживающий подробного перевода и анализа в соответствии с реалиями рациональной фармакотерапии и фитотерапии.

INTRODUCTION. The technology of medicines, as a basic part of pharmaceutical science, has a fundamental impact on medicine and public health in general. Tracing its history from the ancient times, it has been modified under the influence of evolutionary factors and regional characteristics of medical schools. A vivid example of that was Medieval Europe, where a kind of fusion of medical knowledge, accumulated by the West and the East, occurred. The evidence of this interpenetration

was the manuscript “Antidotarium Nicolai” by master Nicholas of Salerno, also known as Nicolaus Salernitanus. This manuscript was the main pharmacopeia of the entire medieval world [1]. Nowadays, the relevance of this work lies in studying the technologies of manufacturing drugs according to “Antidotarium Nicolai” recipes, based on the prescriptions translated into Russian, as well as the study of their practical potential for modern health care. Thus, by means of studying the prescriptions

of the manuscript, our AIM is to compare the medieval technology of manufacturing medicines and galenical preparations with modern principles of pharmaceutical technology.

MATERIALS AND METHODS. To achieve this goal, eighty-five recipes from “Antidotarium Nicolai” by Nicholas of Salerno were identified, systematized and analyzed in a documentary translation from medieval French. The comparison of the source corpus with the historiographical material on the technology of medicines, made it possible to create an inter disciplinary study of “Antidotarium Nicolai”. It gave us the opportunity to highlight the dominant idea of the problem under study. The hypothesis of the study is the thesis of the similarity of the principles and approaches to the production of medicines according to the prescription formulas of “Antidotarium Nicolai”, created by master Nicholas of Salerno, with modern pharmaceutical technologies.

RESULTS. To consider the medieval technology of making medicines and galenical preparations, a translation of “Antidotarium Nicolai”, also known as “Small Antidotarium”, was carried out. This manuscript was based on “Great Antidotarium” and was developed in Salerno Medical School by Master Nicholas. According to long-term works of Professor Vladimir Fedorovich Semenchenko, Doctor of Pharmaceutical Sciences, “Antidotarium Nicolai” was compiled by Nicholas, the rector of Salerno Medical School, in 1140 [2]. Karl Sudhoff, a German physician and scholar in the field of medicine history, brought the mention of the manuscript into correlation with 1100-th year in his work [3]. Thus, “Antidotarium Nicolai” refers to the Greek-Arabic period of the development of Salerno Medical School.

The manuscript is extremely large-scale: ancient Greek, Roman, Eastern knowledge is collected and systematized in it [3]. “Antidotarium Nicolai” had such a great impact on the development of pharmacy and medicine in general, that it was used until the XVII century, when official regional pharmacopoeia began to appear everywhere.

Despite a large number of republications, the most important are translations into medieval English, medieval French and Dutch. Nowadays, the translation of the manuscript into medieval French is of primary concern. In the scientific community, the French language is considered closest to Latin, though not to the “classic”, but rather “rural” – *lingua romana rustica*, denoting the Romance (French) language [4, 5]. In view of the fact that the original was written in Medieval Latin, this linguistic form is closer to the original language of the manuscript. Thus, the work published in 1896 by Paul Dorveaux (1851-1938), known as “*L’antidotaire Nicolas. Deux traductions françaises de l’Antidotarium Nicolai. L’une du XIV^e siècle suivie de quelques recettes de la même époque et d’un glossaire. L’autre du XV^e siècle incomplète. Publiées d’après les manuscrits français 25327 et 14827 de la Bibliothèque nationale*”, was taken as a basis.

The author, being a French historian and physician, restored 85 prescriptions in medieval French. For

comparison, the earliest copy of “Antidotarium Nicolai” describes 119 prescription formulas. That copy is dated to the second half of the XII-th century and nowadays it is stored in the National Library of Great Britain [6]. This difference is due to the fact, that the translation by Paul Dorveaux was based on the different edition of “Antidotarium Nicolai”, more likely published in the XIV-th century. All the prescription formulas presented in “Antidotarium Nicolai”, have an identical structure. At the beginning, a definition of a medicinal preparation is given, followed then by examples of its medical application, often accompanied by a universal phrase “It is suitable for...”. For example, the seventh prescription, “Antidotum Emagogum”, determines that the medicine “cleanses the uterus, and is given against many problems in women after childbirth”. Alternatively, the forty-third prescription is defined as “Metridatum – the mother of all antidotes, suitable for pain in the head, in the ears, in the teeth and in the palate, that gradually beginning and grow”. Such definitions of the pharmacodynamics properties of medicines helped a “master” to select the necessary tool to treat each specific case.

Further, the recipes contain “Designatio materialium” (also known as “Orginatio”), the enumeration of all the substances that are necessary to prepare a medicinal preparation. This part of the recipe is extremely important, since the composition of the drug depends on it, and, as a consequence, the effects of the drug. After the word “Pren.”, which is a medieval French analogue of the modern “Recipe”, all the ingredients that are included in the drug are listed. It should be noted, that this part of the recipe could have a very small number of components. For example, in the fifty-seventh recipe “Quadrumeron” that was used “for asthma, silence, with fever and weakness of the kidneys”, only four ingredients were used: *Inula helenium*, *Foeniculum officinale*, Pepper, *Cuminum cyminum*. However, some of the prescriptions, like the twenty-ninth recipe for “Esdra”, suitable “for melancholy, fear and poor appetite”, contain ninety-one ingredients, necessary for the preparation of the medicine. Probably, this phenomenon was associated with special indications for the use of a drug, intended for the treatment of mental and behavioral disorders.

The fact that all the medicinal substances listed in the manuscript of “Antidotarium Nicolai” entries were indicated without abbreviations, but in the usual sequence, was of no less importance. In modern pharmaceutical technology, when listing ingredients, it is generally accepted to write each substance in a separate line with a capital letter. The capital letter in “Antidotarium Nicolai” marked only the beginning of a new recipe. This factor is interesting because usually substances are prescribed in order of their importance. First, the main substance is indicated, and then the auxiliary substances (known as adjuvans) are prescribed. It is quite difficult to distinguish the main active substance in the recipes of “Antidotarium Nicolai” for a number of reasons, such as, e.g., the variability of the substances used. Some of the substances acted as fillers that gave medicinal substances definite

forms (constituents), other substances corrected flavor and smell (corrigens). It is worth mentioning that in the manuscript, thirty-two recipes of medicinal preparations were completed with the addition of honey. Honey served as a preservative for the prepared medicines, saving them from the appearance of unpleasant taste, smell, mold and the formation of toxins of microbial origin. In the introduction of the manuscript, Nicholas of Salerno high lighted a special place for honey: "To save them is to keep them in the clean honey, and have enough of it for preservation of spices and drugs; the honey can be cooked together with spices, to purify it, and to remove the bitterness".

After the listed groups of medicinal substances, a precise indication in the weight units was given, or in other words, a dosage. It is necessary to notify, that it was in "Antidotarium Nicolai", that the pharmaceutical units of measurement were unified, and clear characteristics and definitions of the grain, drachma, ounces, and pound were given. Later on, these Salern pharmaceutical measures of weights spread worldwide and became known as Nuremberg weights [7]. The basis of the system of measures in "Antidotarium Nicolai" is a "drachma" – the weight unit in alchemy and pharmacy, corresponding to approximately 3 grams and 82 centigrams. The second weight unit by frequency of use was "ounce". Its first mention was found in the fifth recipe "Alcancalon", used "against acute fever". One "ounce" approximately corresponded to 30 grams. One "pound", mentioned in the manuscript, was equal to 12 "ounces". Later, in Paris, "pound" became equal to 14 "ounces". Taking into account the correspondence of "ounce" to 30 grams, it can be determined that one "pound" was equal to 360 grams (approximately 94 "drachmas"). A "grain had the smallest weight", that was equal to 53 milligrams (1/72 "drachma"). In "Antidotarium Nicolai" there are references to unusual measures of weights, such as "Solid" (from the Latin word "solidus" – solid, strong, massive). "Solid" is a Roman gold coin, issued in 309 AD by Emperor Constantine. One coin weighed 1/72 of the Roman "pound", or 4.55 grams, and was used to determine the amount of substances in the preparation of certain soft dosage forms. The presented system of units of measurement, unified by Nicholas of Salerno, allowed "Antidotarium Nicolai" to become a more precise and practical tool for the production of medicines. Defining specific doses of pharmaceutical substances, Nicholas sought to minimize negligence in the preparation of drugs and their admission.

An interesting feature of "Antidotarium Nicolai" is the section called "prescription", or "signature" ("Praescriptio", or "Subscriptio"). In this part of the recipe it was indicated how to prepare the necessary dosage and what technological operations were necessary to be done in the process of creating a drug. In order to describe the entire complex of medicinal forms of "Antidotarium Nicolai", the authors suggested using of the classification by the aggregate state, proposed by Julius Karlovich Trapp (1814–1908), the Russian pharmacist and pharma-

cologist, as the most convenient classification. According to this classification, all forms of drugs can be divided into four groups [8]. The correlation of "Antidotarium Nicolai" with the proposed classification allows identifying the following groups of drug forms:

- solid dosage forms (lozenges, granules);
- liquid dosage forms (solutions, suspensions, infusions and decoctions, syrups, mixtures, medical oils, aromatic waters);
- soft medicinal forms (electuaries, ointments, patches, pills).

The descriptions of the technologies were not present in every prescription. They often began with the phrase "It is prepared as...". The technologies were accompanied by detailed instructions that indicated the stages of preparation. In particular, the following stages were clearly described:

- preparation and grinding of raw materials;
- the order of adding and mixing the ingredients;
- infusion and boiling under certain conditions;
- mixing, filtering through a sieve and pressing raw materials;
- dissolution of medicinal substances;
- determination of readiness, by placing a drop of solution on the marble, and further identifying the stickiness;
- time and place to storage the prepared means.

Thus, the indicated manufacturing technologies were extremely detailed and elaborated. In combination with the use of a clear system of units of measurement, the possibility of error or misinterpretation was eliminated in the preparation of even the most complex medicines. Nowadays, this technology of making medicines is considered relatively simple [8].

The final part of a prescription in "Antidotarium Nicolai" was a signature ("Signatura"). As it is known, the content of this fragment was often intended for a patient himself, since it had a scheme of drug administration. A signature was always as detailed as possible, and the dosage, frequency and time for taking the medicine were indicated. It is interesting that in the twenty-sixth prescription of "Antidotarium Nicolai" it was recommended to take medicines with wine: such as warm wine, white wine, sweet wine, or wine with sage. For example, in the twelfth prescription "Diamargariton", which was prescribed "for pain of the heart and stomach", the drug was supposed to be taken "in the summer with water, and in winter with wine". The fifty-first prescription, "Pigra Galieni", that "suitable for chills in the head, stomach pain and stomach upsets and vomiting", and was intended to be taken in the bathtubs, along with warm wine. Some of the medicines were recommended to be used only along with hot herbal teas, or with herbal decoctions, or with cold or warm water, or with syrups or candied ginger. According to "Antidotarium Nicolai", the transformation of the drug in the body (pharmacokinetics) and the mechanism of action of the drug on the body (pharmacodynamics) depended on the choice of fluid for admission.

The fact that one of the most often mentioned dosages of the drug is “in the amount or weight of a single fruit of Chestnut” is also note worthy. The weight of a fruit of chestnut can vary from 10 to 25 grams, depending on the variety, which is an extremely wide range in the dosage, especially with such a complex composition of the medicines. Never the less, such weight units were much more accurate, than simple dosing. In addition to the “fruits of chestnut”, some of the drugs were dosed quite differently. Some medicines were given in a strict amount of “drachmas”, some by a certain number of pills, others by the number of spoons at one time, or even subjected to inhalation. For soft dosage forms, such as ointments, even the necessity to apply in special conditions – in sunlight or in heat – was indicated.

It is impossible not to mention another whole range of ways of using medicines in “Antidotarium Nicolai”. Nicholas from Salerno specified that certain medications should be taken after meals, and some “on an empty stomach”. The medication was administered at allotted time (in the morning and / or in the evening, and sometimes at night) and, as a rule, for the specified period. For example, the twenty-fourth prescription, “Diacastoreum”, “suitable for pain in the head and infirmities”, was used only in the morning, and only for three days. Such clear instructions on taking medicines made “Antidotarium Nicolai” an extremely demanded book, both in medical practice and in the training of specialists of that time. It is no coincidence that “Antidotarium Nicolai” was widely in demand in many medieval universities, including Oxford and Cambridge, and was part of the compulsory reading for a degree in medicine [9].

In the signatures of some prescription formulas, a possibility of adding other substances to the recipe was taken into consideration. Some of them were necessary to expand the application of the final product, or possibly to eliminate or minimize side effects. Thus, the addition of two drachmas of *Convolvulus scammonia* to “Yerapigra” (that was used “from various sufferings of the head, ears, stomach and liver”) added a strong laxative effect. However, in these additions to the signatures the clearness of the dosage of the components could be no longer observed. It can be assumed, that these remarks did not belong to Nicholas himself, but were added by the editors and commentators of the manuscript later [3].

DISCUSSION. Having described the content and technological aspects of the medicines in “Antidotarium Nicolai” it can be noted that the principles and approaches to the manufacture of drug sare similar to modern pharmaceutical technology, in particular the apothecary technology of drugs. This direction of pharmaceutical technology in England, France, and Holland is called “Galenic pharmacy” or “prescription art” [8]. The core of this discipline, as in the Middle Ages, is based on working with “official” prescriptions, prepared according to standardized and approved recipes. The modern format

of the recipes has been preserved practically unchanged, including sections similar to “Antidotarium Nicolai”, such as those indicated in the Latin language: treatment, enumeration of medicinal substances, dosing and recommendation. Additionally introduced sections are devoted to the legal meaning of the prescription, in particular to the name of the treatment and prophylactic institution, the name of the attending physician assuming responsibility for the correctness of the appointment, and the patient’s name.

However, the technology of drugs, in particular galenical preparations, has undergone certain changes, which formed a modern subgroup of neogalenical preparations. This subgroup represents similar extracts from the medicinal plant raw materials, but maximally released from “ballast” substances [8]. Such substances are excessive for this type of drugs, negatively affecting the effectiveness and, as a consequence, the success of therapy. Such cleaning is carried out as carefully as possible, without the use of strong chemicals or high-heat processes, allowing the active substances to maintain their original natural state. Thus, nowadays, “galenical” preparations find their logical continuation in the form of neogalenical formulations. Similar in complexity, these groups of medicines have a certain advantages over synthetic chemical preparations [10]. The use of drugs based on herbal medicines is often safer for treatment, than the use of synthetic drugs. Thus, in many countries, there is an increasing interest in medicines of natural origin, due to the peculiarities of the chemical composition of preparations of natural origin, the components of which are close in structure to the metabolites of the human body, and the relative safety of their use. This factor allows us to recommend these drugs much more often than synthetic drugs for symptomatic, preventive treatment or over-the-counter treatment.

CONCLUSION. Extemporaneous manufacturing since the Middle Ages to the present time remains a popular pharmaceutical service. Production pharmacies are a socially significant indicator of the quality of drug provision and care for a wide range of citizens. Nowadays most modern compounding pharmacies are producing dosage forms, widely represented in “Antidotarium Nicolai”. Despite the multicomponent composition that affects the therapeutic effect and the cost of the manufactured product, some of the prescriptions have an available manufacturing technology that can be reproduced in the conditions of modern manufacturing pharmacies. With regard to the therapeutic aspect, it must be pointed out that galenical preparations can be second-line therapy to complete treatment after the use of essential medicines. This is especially important with long-term treatment and secondary prevention of chronic diseases. Thus, in “Antidotarium Nicolai” by Nicholas of Salerno, there is a certain potential that deserves a detailed translation and analysis in accordance with the realities of rational pharmacotherapy and herbal medicine.

Библиографический список

1. Wallis F. Medieval Medicine: A Reader (Readings in Medieval Civilizations and Cultures). University of Toronto Press. 2015.
2. Семенченко В.Ф. История фармации. Учебное пособие. М.: ИКЦ «МарТ», 2003. 640 с.
3. Зудгоф К. Медицина средних веков и эпохи Возрождения. М.: Вузовская книга, 1999. 151 с.
4. Доррен Г. Лингво. Языковой пейзаж Европы. М.: Азбука-Аттикус, 2016. 235 с.
5. Дыникова А.Н., Лопатина М.Г. Народная латынь. Москва, Изд-во МГУ, 2-е изд-е, исправленное и доработанное, 1998. 256 с.
6. Оцифрованный манускрипт Николая из Салерно «Антидотарий» XII века в Национальной Библиотеке Великобритании. URL: http://www.bl.uk/manuscripts/FullDisplay.aspx?ref=Harley_MS_4983 (дата обращения: 01.04.2018).
7. Gilbert Zinsler. Was ist ein Gran? – Die schwierige Bestimmung alter Arznei- und Medizinalgewichte // Österreichische Apotheker-Zeitung. 2004.
8. Чуешов В.И., Гладух Е.В., Сайко И.В., Ляпунова О.А., Сичкар А.А., Крутских Т.В., Рубан Е.А., Черняев С.В. Технология лекарств промышленного производства. Винница: Новая Книга, 2014. 696 с.
9. Linares J. Middle English Antidotarium Nicholai: Evidence for Linguistic Distribution and Dissemination in the Vernacular // International Journal of English. 2005. No. 5. P. 71–92.
10. Кукек В.Г. Фитотерапия с основами клинической фармакологии. М.: Медицина, 1999. 192 с.

References

1. Wallis F. Medieval Medicine: A Reader (Readings in Medieval Civilizations and Cultures). University of Toronto Press, 2015.
2. Semenchenko VF. Istoriya farmacii [History of pharmacy]. Textbook. M.: ICC “March”, 2003. Russian.
3. Sudhoff K. Medicina srednih vekov i epohi Vozrozhdeniya [Medicine of the Middle Ages and the Renaissance]. Moscow: The University Book, 1999. Russian.
4. Dorren G. Lingvo. YAzykovej pejzazh Evropy [Lingvo. Language landscape of Europe]. Moscow: Azbuka-Atticus, 2016. Russian.
5. Dynnikov AN, Lopatina MG. Narodnaya latyn' [Folk Latin]. Moscow, Moscow state University publ., 2nd ed, revised and revised, 1998. 256 p. Russian.
6. Ocifrovannyj manuskript Nikolaya iz Salerno “Antidotarij” XII veka v Nacional’noj Biblioteke Velikobritanii [Digitized manuscript of Nicholas of Salerno “Antidotarium Nicolai” of the 12th century in the National Library of Great Britain]. [Internet]. [cited 2018 Apr 01]. Available from: http://www.bl.uk/manuscripts/FullDisplay.aspx?ref=Harley_MS_4983 Russian.
7. Gilbert Zinsler. Was ist ein Gran? – Die schwierige Bestimmung alter Arznei- und Medizinalgewichte. Österreichische Apotheker-Zeitung; 2004.
8. Chueshov VI, Gladukh EV, Saiko IV, Lyapunova OA, Sichkar AA, Krutskikh TB, Ruban EA, Chernyaev SV. Tekhnologiya lekarstv promyshlennogo proizvodstva [Technology of medicines of industrial production]. Vinnytsia: The New Book, 2014. Russian.
9. Linares J. Middle English Antidotarium Nicholai: Evidence for Linguistic Distribution and Dissemination in the Vernacular. International Journal of English. 2005;5:71–92.
10. Kukes VG. Fitoterapiya s osnovami klinicheskoy farmakologii [Phytotherapy with the basics of clinical pharmacology]. Moscow: Medicine, 1999. Russian.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Авторы

Воронов Филипп Дмитриевич – провизор-организатор частной аптечной сети города Петрозаводска, республики Карелия. Область научных интересов: история фармации. E-mail: noloi@yandex.ru

Ружинская Ирина Николаевна – кандидат исторических наук, доцент кафедры отечественной истории Петрозаводского государственного университета (ПетрГУ), Институт истории, политических и социальных наук. Область научных интересов: история медицины. E-mail: rin@petrsu.ru

Authors

Filipp Dmitrievich Voronov – pharmacist and organizer at a private pharmacy network in Petrozavodsk, Karelia Republic. Research activist at Petrozavodsk State University. Research interests: medicine history. E-mail: noloi@yandex.ru

Irina Nikolaevna Ruzhinskaya – Candidate of Sciences (History), Associate Professor at the chair of Russian History; History, Political and Social Science Institute. Petrozavodsk State University. Research interests: medicine history. E-mail: rin@petrsu.ru

Поступила в редакцию: 11.04.2018
Отправлена на доработку: 11.07.2018
Принята к печати: 06.08.2018

Received: 11.04.2018
Sent back for revision: 11.07.2018
Accepted for publication: 06.08.2018

