НУБіП України

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

06.07. – МР.1730 «С». 2021.10.13. 05 ПЗ

КОНДРАТЬЄВОЇ ІРИНИ ОЛЕКСАНДРІВНИ

2022

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСТИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет (ННІ) захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК 606:547.918:633.88

ПОГОДЖЕНО	**ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ**
Декан факультету (Директор ННІ)	**Завідувач кафедри**
захисту рослин, біотехнологій та екології	Екобіотехнології та біорізноманіття
(назва факультету (ННІ))	(назва кафедри)
_____ Коломієць Ю. В.	_____ Кваско О. Ю.
(підпис) (ПІБ)	(підпис) (ПІБ)
"___" _____ 20__ р.	"___" _____ 20__ р.

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: Виділення глікозидів із рослин родини Конвалієві *(Convallariaceae)*

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Гарант освітньої програми

Доктор с.-г. наук, професор _____ Лісовий М.М.

(науковий ступінь та вчене звання) (підпис) (ПІБ)

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

Доктор с.-г. наук, професор _____ Лісовий М.М.

(науковий ступінь та вчене звання) (підпис) (ПІБ)

Виконав _____ Кондратьєва І.О.

(підпис) (ПІБ студента)

НУБіП України

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології
Кафедра екобіотехнології та біорізноманіття
Освітній ступінь «Магістр»
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
Кваско О.Ю.
«____» _____ 2022 р.

ЗАВДАННЯ

НА ВИПУСКНУ МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Кондратьєва Ірина Олександрівна

1. Тема роботи: **"Виділення глікозидів із рослин родини Конвалієві *(Convallariaceae)*"** затверджена наказом ректора від «13» жовтня 2021 р. № "1730" С.
2. Строк подання студентом: _____ 2022 р.
3. Вихідні дані до роботи: літературні відомості про глікозиди рослинного походження, способи отримання лікарських форм, препаратів, сфери використання препаратів в Україні.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки: Вступ. Розділ 1. Літературний огляд. Розділ 2. Матеріали та методи досліджень. Розділ 3. Результати проведених досліджень. Розділ 4. Охорона праці. Висновки.

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	ПІБ, та посада консультанта	Дата, підпис	
		Завдання видав	Завдання прийняв
	Лісовий М.М., професор кафедри Екобіотехнології та біорізноманіття		

6. Дата видачі завдання «2» вересня 2021р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів випускної магістерської роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Отримання теми дипломної роботи	3.09.2021	
2	Підбір літератури за темою, систематизація отриманого матеріалу	3.09.2021-7.10.2021	
3	Написання першого розділу за темою	4.09.2021-28.09.2021	
4	Написання другого розділу	29.09.2021-21.10.2021	
5	Написання третього розділу	22.10.2021-10.12.2021	
6	Написання четвертого розділу	11.12.2021-17.01.2022	
7	Написання висновків	20.03.2022-18.04.2022	
8	Оформлення дипломної роботи	20.04.2022-30.05.2022	
9	Перевірка дипломної роботи керівником	01.06.2022-05.07.2022	
10	Захист дипломної роботи	14.11.2022-15.11.2022	

Студент _____ /Кондратьєва І.О./

Керівник роботи _____ / Лісовий М. М./

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи **"Виділення глікозидів із рослин родини Конвалієві *(Convallariaceae)*":** 84 сторінки, 8 рисунків, 6 таблиць, 50 використаних джерел.

Об'єкт дослідження – отримання глікозидів рослинного походження з рослин родини Конвалієві.

Предмет дослідження – лікарська рослинна сировина, фізико-хімічні властивості глікозидів рослинного походження.

Мета роботи – дослідити технології отримання глікозидів рослинного походження різними методами та на основі результатів оптимізувати технологічну схему отримання речовин на виробництві.

Методи дослідження: аналіз літературних даних, порівняльний аналіз, технологічні схеми отримання глікозидів та порівняння їх між собою.

ГЛІКОЗИДИ, КОНВАЛІЯ ЗВИЧАЙНА, ПРЕПАРАТИ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ, ЛІКАРСЬКІ ФОРМИ, СПОСОБИ ОТРИМАННЯ ГЛІКОЗИДІВ.

НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

НУБіП України

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт;

ВО – вода очищена;

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ВЦ – виробничий цикл;

ДФУ – Державна фармакопея України;

ЕГ – експериментальна група;

ЄС – Європейська Фармакопея;

КГ – контрольна група;

ЛФ – лікарська форма;

ЛР – лікарські речовини;

ЛРС – лікарська рослинна сировина;

ЛП – лікарські препарати;

МОЗ України – Міністерство охорони здоров'я України;

НВП – належна виробнича практика;

Стандарт GMP – Good manufacturing practice (належна виробнича практика) – система норм, правил і вказівок щодо виробництва: лікарських засобів, медичних пристроїв, виробів діагностичного призначення;

ЗМІСТ

ВСТУП 8

РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД 9

1.1 Історичні аспекти вивчення глікозидів 9

1.2 Глікозиди 15

1.2.1 Загальна класифікація глікозидів 17

1.2.2 Фізико-хімічні властивості глікозидів 21

1.3 Вміст глікозидів у рослинах 29

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ 32

2.1 Конвалія (*Convallariae*) 37

2.2 Методи виділення глікозидів із рослинної сировини 39

2.3 Якісні реакції глікозидів 40

2.4 Методи кількісного визначення глікозидів 42

2.5.1. Фізико-хімічні та електрохімічні методи визначення глікозидів 44

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ 47

3.1 Глікозиди рослинного походження, які містять серцеві глікозиди 47

3.2 Виділення глікозидів з лікарських рослин 48

3.3 Вплив ступеня подрібнення сировини на процес вилучення екстрактивних речовин 56

3.4 Отримання соку з конвалії звичайної 59

3.5 Препарати на основі серцевих глікозидів 62

РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ 69

4.1 Небезпечні та шкідливі виробничі фактори в лабораторії молекулярно-генетичних досліджень 69

4.2 Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних або шкідливих виробничих факторів в лабораторії молекулярно-генетичних досліджень 71

4.2.1 Розрахунок освітлення робочої зони 74

НУБіП України

4.3 Забезпечення пожежної та вибухової безпеки в лабораторії молекулярно-генетичних досліджень 76
РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА 79
5.1. Виробництво лікарських засобів 79
5.1.2 Відходи фармацевтичної галузі 80
5.3. Рекомендації з утилізації відходів 79
ВИСНОВКИ 88
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 90

НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України

ВСТУП

НУБіП України

Актуальність теми. Високий рівень розвитку фармацевтичної промисловості країни впливає на забезпеченість населення лікарськими засобами та якість медицинського обслуговування. Ринок фармацевтичної продукції є одним зі стратегічних секторів для економіки та соціального розвитку будь-якої країни світу. Ступінь інноваційності та доступності продуктів фармацевтичної промисловості вказує на рівень розвитку держави.

Україна відноситься до так званих Pharmerging countries, доля яких в світі постійно збільшується – це країна, в якій відбувається інтенсивний розвиток фармацевтичної індустрії, а витрати на таку продукцію ростуть. Ріст цієї галузі складає 15-20 % на рік. Такий ріст спостерігається протягом останніх п'яти років [46, 47].

Створення і впровадження у медичну практику вітчизняних високоефективних лікарських препаратів, направлених на відновлення здоров'я людини в умовах погіршення екологічної обстановки – одне з головних завдань сучасної фармацевтичної науки. Важливе значення у цьому напрямку набувають лікарські засоби, створені на основі рослин та виділених із них речовин.

Глікозиди - (від грец. Γλυκύς - «солодкий» та εἶδο - «вигляд») – природні органічні речовини, група вуглеводовмісних речовин, сполуки складної будови, дуже поширені в рослинному світі. Глікозидами називають органічні сполуки, які зустрічаються в рослинах, являють собою продукти конденсації циклічних форм вуглеводів (моно- або олігосахаридів) та компоненту невуглеводної природи (аглікону), яким можуть бути стероїди, фенолі або алкалоїди. Це здебільшого кристалічні сполуки, рідше аморфні речовини, часто гіркі на смак та мають специфічний запах. Вони легко розчиняються у воді, спирті, погано або зовсім не розчинні в неполярних органічних розчинниках. У рослинах знаходяться в розчинному вигляді у клітинному соку. Глікозиди розподіляються на групи за хімічною характеристикою їх агліконів. В рослинах, що містять глікозиди, одночасно є ферменти, що їх розщеплюють на цукор і аглікон. Тому такі рослини треба сушити

якомога швидше і при температурах, що не перевищують 60 °С та зберігати в сухих, провітрюваних приміщеннях [47].

Наукове вивчення глікозидів має багаторічну історію. Серед усіх глікозидів найвідомішими є серцеві, оскільки вони мають унікальні лікувальні властивості, з яких, власне, й розпочалося наукове вивчення цих вельми цікавих органічних речовин. Широко застосовуються у медицині й інші глікозиди, інтерес до яких останнім часом помітно зріс з боку лікарів, біологів та хіміків, що дозволяє сподіватися на нові кориені відкриття [5].

Деякі глікозиди таких рослин, як женьшень, елеутерокок, сприяють загальні неспецифічні адаптації організму до різних несприятливих впливів в умовах стресу, перешкоджають розвитку загального адаптаційного синдрому Сельє, сприяють регуляції діяльності енергетичної ланки організму.

Безсумнівний науковий і практичний інтерес, таким чином, має дослідження видів рослин і виявлення в межах роду видів, що відрізняються високим вмістом глікозидів та є перспективними для одержання фармацевтичних препаратів із заданими властивостями, зокрема, серцевих препаратів.

Зважаючи на виснаження природної ресурсної бази офіцинальних видів у зв'язку з нераціональним використанням сировини рослин (різних видів наперстянки, конвалії та інших), наявної у фармацевтичному виробництві, одним з реальних шляхів збільшення рентабельності є розробка технологічної схеми комплексного виробництва лікарських засобів з високим вмістом глікозидів.

На даний час існує багато методів отримання глікозидів рослинного походження, котрі мають безліч переваг і недоліків, тому доцільно порівняти отримання їх різними способами та оптимізувати процес їх отримання.

Мета роботи: дослідити технології отримання глікозидів рослинного походження різними методами та на основі результатів оптимізувати технологічну схему отримання речовин на виробництві.

НУБіП України

Завдання на виконання дипломної роботи:

1. Проаналізувати стан досліджуваної проблеми в науковій літературі, розкрити сутність теоретичних основ та виокремити особливості глікозидів рослинного походження.
2. Дослідити технології отримання глікозидів рослинного походження.
3. Провести аналіз методів кількісного контролю глікозидів в лікарській сировині.
4. Обґрунтувати доцільність використання окремих препаратів на основі глікозидів рослинного походження.
5. За рахунок оптимізації удосконалити технологічну схему отримання серцевих глікозидів рослинного походження.

Об'єкт дослідження – отримання глікозидів рослинного походження з рослин родини Конвалієві..

Предмет дослідження – лікарська рослинна сировина, фізико-хімічні властивості глікозидів рослинного походження.

Методи дослідження: аналіз літературних даних, порівняльний аналіз, технологічні схеми виробництва глікозидів та порівняння їх між собою.

Практичне значення отриманих результатів. Найбільш перспективним для отримання глікозидів рослинного походження є процес їх отримання зі свіжих рослин.

НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України

РОЗДІЛ 1
ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1 Історичні аспекти розвитку фітотерапії

У Стародавньому Єгипті та інших країнах Стародавнього Сходу засоби рослинного, тваринного і мінерального походження застосовували в нативному вигляді.

Фітотерапія (грец. *phyton* – рослина, *therapi* – лікування) – система специфічних методів лікування й профілактики захворювань з використанням фітопрепаратів; складова частина комплексної, превентивної та реабілітаційної терапії. Термін уведено французьким лікарем Анрі Леклерком (1870–1955). Ф. належить до натуропатичних методів лікування захворювань і застосовується у національних системах охорони здоров'я переважної більшості країн ЄС, які розглядають фітотерапію як складову частину не тільки народної а й традиційної медицини. За даними ВООЗ (2013), розвиток фітотерапія є пріоритетним напрямком в оздоровленні населення, запобіганні гострим та хронічним захворюванням та покращенні якості життя [52].

Сучасна фітотерапія – самостійна медико-біологічна дисципліна, яка викладається в системі вдосконалення лікарів, провізорів та фармацевтів. Фітотерапія – це алопатія, яка чітко відрізняється за принципом використання рослин у гомеопатії. Поділ фітотерапії на традиційну та нетрадиційну умовний, адже зміст цих термінів характеризує, наскільки цей метод властивий для даної місцевості, та яке етнічне коріння його використання.

Фітотерапія має тисячолітню історію. Найвідоміші свідчення про лікування рослинами містять папірус Еберса (1570 р. до н.е.), глинобитні таблички з бібліотеки ассирійського царя Ашурбаніпала (668–631 рр. до н.е.). Corpus Hippocraticum відомого лікаря Гіппократа (460–377 рр. до н.е.) описує 236 ЛР тощо. Китайська та індійська школи до нашого часу зберегли самобутність та поширюють свій досвід на глобальному світовому рівні. Найвідомішими арабськими знавцями ЛР були Авіценна і Абу Райхана Беруні (X–XI ст. н.е.). Європейськими пам'ятками фітотерапії стали поема «Ода із Мена» Машера Флоридуса та салернський Кодекс про здоров'я

Арнольда з Віланови. У XVI ст. одержала розвиток ятрохімія, Парацельсом розроблені методи очищення екстрактів і започатковано створення новогаленових лікарських препаратів [38].

Досвід траволікування в Україні узагальнено в працях З. Болтаровича, М.А. Носалея та І.М. Носалея, О. Попова, Г. Смика, В. Комендаря, В. Копухи, Є. Товстухи та ін. [11]. Сучасне відродження фітотерапії зумовлене її перевагами:

1) фізіологічність: утилізація природних речовин не потребує напруження ферментних систем; проміжні продукти обміну речовин не токсичні й близькі до продуктів метаболізму тваринного організму;

2) структурованість: запобігання або ліквідація руйнації біологічних структур на молекулярному й клітинному рівнях; найбільшу спорідненість до організму людини виявляють соки рослин, водні й масляні витяжки з лікарської рослинної смровини (ЛРС);

3) полівалентність фармакологічної дії, яка зростає при спільному застосуванні ЛРС з різним хімічним складом діючих речовин;

4) системність, що передбачає мобілізацію механізмів підтримки гомеостазу та корекції метаболізму за рахунок впливу на керовану ланку – нервову систему, ферментні функції і потім – на конкретні симптоми та синдроми хвороби;

5) ефективність та безпечність тривалої терапії фітопрепаратами хронічних захворювань, а також майже необмежене застосування в педіатрії й геронтології та мінімальна побічна дія;

6) доступність й економічна привабливість;

7) можливість взаємозаміни компонентів лікарських зборів і складання альтернативних рецептів.

Загалом фітотерапія використовується як редуктивна терапія, що поповнює в організмі нестачу продуктів проміжного обміну; як дезінтоксикаційна терапія, що забезпечує адсорбцію або хімічне зв'язування екзо- та ендотоксинів, підвищення резистентності до них організму та стимулювання видільних систем (жовчогінні, сечогінні, потогінні, проносні, відхаркувальні фітопрепарати). Важливим є використання нейротропної, імунотропної, гормоноподібної дії БАР рослин.

НУБіП України

Природні сполуки, що активно модифікують функції регуляторних систем, мають перспективу в лікуванні складних захворювань. Фітотерапію можна розглядати як процес усвідомленого використання природних БАР з метою мобілізації механізмів саморегуляції організму, відновлення його структурних і функціональних порушень, пристосування до змін довкілля, підвищення життєдіяльності [12].

Зміцненню позицій фітотерапії сприяло наукове обґрунтування її принципів, які в країнах СНД були сформульовані Пашинським (1990): етапність, системність, адекватність, безпечність, комбінування, обережність [11, 12]. Головними принципами сучасної фітотерапії вважають:

1) індивідуалізація лікування завдяки підбору рецептури лікарських зборів, відповідних за хімічним складом, фармакологічною активністю та технологічною сумісністю компонентів;

2) адекватність терапії; фармакологічна активність ЛРС повинна бути адекватною клінічній симптоматиці на різних етапах розвитку хвороби; доцільно починати лікування із застосування більш слабких фітозасобів і поступово, у разі потреби, збільшувати їхню силу;

3) безперервність лікування через можливість тривалого вживання фітопрепаратів з короткими перервами або заміною;

4) комплексність лікувальних заходів; для досягнення найкращих результатів фітотерапії доцільно поєднувати з ЛП синтетичного, напівсинтетичного або біотехнологічного походження, а також з хіміотерапією, фізіотерапією, дієтотерапією, лікувальною фізкультурою, масажем, акупунктурою, аутотренінгом, санаторним лікуванням та ін.;

5) послідовність у підборі ЛР; перед призначенням лікування необхідно враховувати особливості імунологічного статусу хворого, алергійну схильність, його лікарський анамнез;

6) дотримання принципу системності, що припускає лікування основного і супутнього захворювання одночасно;

7) потенціювання дії фітопрепаратів на основі сполучного застосування компонентів зборів і препаратів, що підсилюють дію один одного. Фітотерапія не є

альтернативою іншим методам лікування. Її феноменологія різноманітніша за звичайну фармакотерапію.

Фітотерапія має загальні закономірності та разом з тим специфічна, бо створює передумови для переоцінки класичних уявлень клінічної медицини з урахуванням досвіду багатофакторних впливів на організм. У сучасній фітотерапії виділяють декілька складових інформаційної бази, що визначають її розвиток. Це біологічні та медичні знання, які містять нар. медицину, або етнофармакологію, фармакогнозію, біофізику, фітофармакологію та клінічний досвід застосування фітопрепаратів. Експертна та статистична обробка методів лікування різних медичних шкіл і архівних матеріалів перетворює ці відомості в наукові дані, які надалі підлягають клінічній перевірці. Завдяки фармакогнозії стало можливим створення своєрідної базової системи, що містить набір біологічних та хімічних ознак, які характеризують певну ЛР або фітопрепарат. Досягнення фітофармакології, знання фармакотерапевтичних властивостей БАР рослин дозволяють обґрунтовано використовувати фітотерапію при різних захворюваннях. На основі клінічного досвіду, аналізу об'єктивних даних контролю стану хворого формуються принципи фітотерапії, алгоритм лікування. Крім того, необхідною умовою розвитку фітотерапії є визнання інтуїтивної долі пізнання як доповнення до природничо-наукових методів. Тисячорічний практичний досвід терапії за своєю цінністю не менш значущий, ніж експериментальні та клінічні дослідження. Неможливо повністю передбачити, як взаємодіятимуть хімічні сполуки різних рослин у лікарській формі та в організмі людини, та які зміни це викличе [18, 21]. Однак накопичений досвід фітотерапії дозволяє правильно підібрати композиції, прогнозуючи їх дію, що найчастіше народжує нову якість та зцілює хворого. Психотерапевтичний компонент фітотерапіх є значущим і складним інструментом формування терапевтичного вектора, який виникає в період спілкування з пацієнтом. Лікар вселяє віру у фітопрепарати, визначає програму лікування, включає хворого в активний процес приготування лікарських форм, змушує його працювати над собою, а відповідно – сподіватися на одужання. До недоліків фітотерапевтичного методу лікування слід віднести: незручність у приготуванні й застосуванні лікарських форм у домашніх умовах й медичних закладах; повільне, поступове наростання

НУБіП України

терапевтичного ефекту; недостатня вивченість фармакологічної взаємодії БАР з іншими ЛП при сумісному вживанні, що може призвести до непередбачуваного значного зниження ефективності або безпечності терапії; відсутність висококваліфікованих спеціалістів-фітотерапевтів; недостатнє наукове обґрунтування багатьох питань фітотерапії; розмивання межі між фітотерапією й дієтотерапією та просування фітопрепаратів у розряд дієтичних добавок.

1.2 Глікозиди

Глікозиди – складні ефіроподібні органічні речовини рослинного походження, які складаються із глікону- цукристої частини і аглікону – органічної речовини [28].

Під впливом ферментів глікозиди в рослинах чи ікт гідролізуються із утворенням глікону і аглікону.

Цукриста частина є джерелом енергії, а аглікон проявляє специфічну дію. Глікон є провідником аглікону, сприяє швидкому його всмоктуванню.

Глікозиди діляться на 4 групи [40]:

1. Глікозиди із азотмістким агліконом, при розщепленні яких утворюється синильна кислота (цианглікозиди) – сорго, вика, конюшина, льон, люцерна;

2. Глікозиди із азот- і сірковмістним агліконом (тіолглікозиди), які під впливом ферментів утворюють єфірні олії – рапс, гірчиця польова, редька дика;

3. Глікозиди з безазотистим агліконом, діють переважно на серцево-судинну систему – конвалія, наперстянка;

4. Сапонін-глікозиди, володіють гемолітичними і піноутворюючими властивостями – бобові, жовтецеві, пасльонові.

Оксіантрахінонові глікозиди або антраглікозиди містять в якості аглікону похідні антрахінону. Вони є в корі крушини, плодах жостеру, кореневищах ревеню, листках сени. Мають гіпотензивну дію, розширюють судини тазових органів, поліпшують кровообіг в органах малого тазу й тому призначаються при закрепах, запаленнях сечового міхура, предміхурової залози, жіночих статевих органів.

НУБіП України

Тіоглікозиди або глікосінапіди при гідролізі виділяють ефірні гірчичні олії, складові яких містять сірку. Типовим представником є синігрин, який міститься в насінні гірчиці чорної та сарептської, у коренях хрону. Глікозиди цієї групи знаходяться в насінні й інших рослин родини хрестоцвіті, а також у часнику, цибулі й деяких інших рослинах. Гірчичні ефірні олії відзначаються гострим неприємним запахом, викликають сльозотечу, подразнення слизових оболонок та шкіри, гіперемію шкіряних покривів [1].

Гіркі глікозиди стимулюють виділення шлункового соку й підвищують апетит, холерез та холікінез, стимулюють еритропоез, підвищують рівень гемоглобіну. До них належить абсинтин, який є в полину, асперулозид – маренці й вероніці, кніцин – кнікусі, еритаурин – золототисячнику, генціан і генціопікрин – тирличу, аукубін – подорожнику, ауранцимарин – в апельсинах і лимонах, меніантин – бобівнику, вербенадин – вербені та ін.

Серцеві пгікозиди (карденоліди) розщеплюються на вуглеводи і аглікони, які мають циклопентанпергідрофенантренову структуру (з різними радикалами у різних глікозидах), так у карденолідів у положенні 17 приєднано ненасичене п'ятичленне лактонове кільце, а у буфадієнолідів – шестичленне лактанове кільце. Містяться в різних видах наперстянки, строфанту, горицвіту, конвалії, жовтушника, харги, джута, олеандра, обвійника грецького тощо. Глікозиди цієї групи мають вибіркову дію на серцеві м'язи й тому рослинна сировина, яка містить їх, а також самі глікозиди, виділені з неї у чистому вигляді, широко застосовують як ефективні засоби при хронічній серцевій недостатності [1,10].

Для виділення суміші гликозидів використовували вичерпну екстракцію знежиреної сировини водним ізопропіловим спиртом. Після випарювання спиртових екстрактів, залишок розчиняли у водному бутанолі і бутанольний прошарок промивали водою для вилучення супровідних фенольних глікозидів, вільних цукрів, солей та інших сильно полярних сполук.

Зацікавленість у дослідників викликає гліцирризинова кислота — тритерпеновий глікозид з коренів солодки, який розглядають як базовий у створенні

високоефективних препаратів для профілактики і лікування вірусних інфекцій та імунодефіцитних станів різної етіології [13].

Отже, дослідження глікозидів тривають, й не виключено, що вже найближчим часом їхні «секрети» буде розкрито, застосування – розширено, а, можливо, й винайдено нові лікарські засоби.

1.2.1 Загальна класифікація глікозидів

Глікозиди – це природні вуглеводовмісні речовини, в яких глікозильна частина молекули (циклічна форма цукрів) з'єднана з органічним радикалом, який не є цукром (аглікон або генін).

За природою цукрової частини глікозиди ділять на дві групи: піранозиди й фуранозиди. Розрізняють також α- і β-глікозиди залежно від конфігурації вуглевода, з'єднаного з агліконом. Цукрова частина молекули може містити один або декілька з'єднаних між собою цукрі [13]. Зв'язок цукрового залишку з геніном здійснюється або через оксиген (О–глікозиди), або через нітроген (N–глікозиди), або через сірку (тіоглікозиди) [1, 10, 13].

О–глікозиди за характером аглікону поділяють на:

1) фенологлікозиди (глікозиди толокнянки – арбутин);
2) антрахінонглікозиди (глікозиди жостеру, ревеню, алое);
3) флавонглікозиди (катехіни, рутин);
4) нітрогенвмісні (амігдалин);
5) глюкоалкалоїди (соласодин);
6) стероїдні глікозиди (серцеві глікозиди);
7) дубильні речовини (танін);
8) сапоніни.

Серцеві глікозиди – біологічно активні речовини, що містяться в деяких видах рослин або виділеннях деяких видів жаб і здатні в малих дозах проявляти специфічну дію на серцевий м'яз.

НУБіП України

Цукри, що входять до складу серцевих глікозидів, окрім глюкози і рамнози, є специфічними для цієї групи речовин. Це 6-дезоксигексози (L-рамноза), 2,6-дезоксигексози (D-дигітоксоза) або їх 3-О-метилові ефіри (D-цимароза, L-олеандроза).

Аглікони (геніни) серцевих глікозидів мають стероїдну структуру, тобто є похідними циклопентанпергідрофенантрену [24, 29].

За хімічною будовою аглікони можна поділити на дві групи, що відрізняються структурою приєднаного в положенні 17 лактонного циклу. Серцеві глікозиди, що містять пятичленне лактонне кільце прийнято називати карденолідами, а такі, що містять шестичленне лактонне кільце з двома подвійними зв'язками – буфадієнолідами.

Специфічна дія глікозиду на серце зумовлена наявністю в молекулі аглікону лактонного циклу в положенні 17 і гідроксилу в положенні 14. На кардіотонічну дію великий вплив має замісник у положенні 10 [24]. Для більшості агліконів це метильна або альдегідна група (табл. 1.1).

Таблиця 1.1

Радикали агліконів деяких карденолідів

Аглікони	Радикали			
	R	X3	X2	X1
Дигітоксигенін	– CH3	–	–	–
Гітоксигенін	– CH3	–OH	–	–
Дігоксигенін	– CH3	–	–OH	–
Олеандригенін	– CH3	– OCOCH3	–	–
Строфантидин	– CH3	–	–	– OH

Для ідентифікації серцевих глікозидів можуть бути використані загальні реакції.

Перша група кольорових реакцій дозволяє підтвердити наявність у молекулі стероїдного циклу [43, 45]. До них належать:

1. Реакція Ліберманa-Бурхардта: невелику кількість речовини розчиняють у декількох краплях кислоти оцтової льодяної й змішують з сумішшю оцтового ангідриду і кислоти сульфатної концентрованої. Повільно з'являється забарвлення, що переходить від рожевого до зеленого або синього. Цю реакцію дають глікозиди, які при обробці сильними кислотами здатні до дегідратації.

2. Реакція Розенхейма: до хлороформного розчину речовини додають 96%-ву кислоту трихлороцтову – зявляється забарвлення, яке поступово змінюється від рожевого до ділового і синього. Ця реакція характерна для стероїдів, які містять діенову групу або здатні утворювати її під впливом реактиву.

Стероїдний цикл у карденолідах виявляють також флуориметричним методом, використовуючи як реактив суміш кислот фосфорної і сульфатної з феруму (III) хлоридом ; розчин феруму перхлорату в кислоті сульфатній і т.ін.

Друга група кольорових реакцій грунтується на виявленні п'ятичленного лактонного циклу в молекулі карденолідів [13, 43, 45]. До їх числа належать:

1. Реакція Легаля – при взаємодії в лужному середовищі з натрію нітропрусидом з'являється і поступово зникає червоне забарвлення.

2. Реакція Раймонда – в лужному середовищі з *м*-динітробензолом з'являється червоно-фіолетове забарвлення.

3. Реакція Бальєта – з лужним розчином кислоти пікринової з'являється оранжево-червоне забарвлення. Для підтвердження шестичленного лактонного кільця в буфадієнолідах використовують розчин стихію-хлориду; при нагріванні з′являється лілове забарвлення.

Третя група реакцій полягає у виявленні цукрового компоненту. З цією метою після кислотного гідролізу можуть бути використані притаманні цукрам реакції, що грунтуються на їх відновних властивостях (реакції з реактивом Фелінга, "срібного дзеркала" і т.ін.). Специфічними для 2-дезоксицукрів, що містяться в молекулах більшості серцевих глікозидів, є реакції:

НУБіП України

1. Реакція Келлера-Кіліані: розчин глікозиду в кислоті оцтовій льодяній, що містить ферум-хлорид, нашаровують на кислоту сульфатну концентровану. На межі двох шарів з'являється лілово-червоне або буре кільце, верхній шар забарвлюється в синій або синьо-зелений колір. Реакція відбувається тільки тоді, коли дезоксицукор знаходиться у вільному стані або займає крайнє положення в молекулі глікозиду.

2. Реакція Пезета: при нагріванні глікозиду з ксантгідролом або антроном у присутності кислоти оцтової льодяної з наступним додаванням декількох крапель кислоти сульфатної або фосфорної з'являється червоне або зелене, синьо-зелене забарвлення. У ході реакції під дією кислот концентрованих цукровий компонент утворює фурфурол або його похідні, які конденсуються з ксантгідролом або антроном.

Ідентифікувати лікарські речовини з групи серцевих глікозидів можна за питомим обертанням. Перспективний також спосіб, що базується на побудові хроматографічних діаграм, які показують залежність R_f від системи розчинників. Використовують також ІЧ- і УФ-спектроскопію.

Кількісне визначення проводять спектрофотометрично, фотоколориметрично за продуктами взаємодії в лужному середовищі з нітропохідними ароматичного ряду. Якісну і кількісну оцінку серцевих глікозидів проводять також за допомогою методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), що дозволяє визначити не тільки основні, але й супутні глікозиди.

Біологічним методом контролю встановлюють найменші дози стандартної і досліджуваної речовин, що викликають систолічну зупинку серця піддослідних тварин. Потім розраховують вміст жаб'ячих (ЖОД), котячих (КОД), голубиних (ГОД) одиниць дії в одному грамі речовини, що досліджується, в одній таблетці або в одному мілілітрі розчину [39, 54].

Серцеві глікозиди та їх препарати зберігають у добре закупореній тарі, що вберігає від дії світла і вологи. Застосовують як кардіотонічні засоби. Відрізняються вони за силою, тривалістю, швидкістю проявлення дії, впливом на центральну нервову систему.

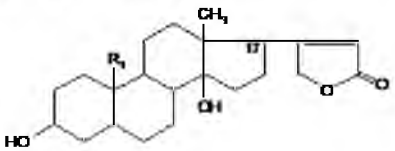
НУБіП України

1.2.2 Фізико-хімічні властивості глікозидів

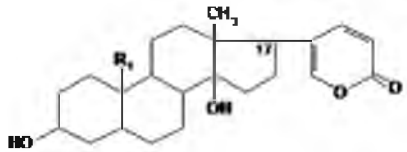
Серцеві глікозиди являють собою безбарвні або білі кристалічні (рідше – аморфні) речовини, гіркі на смак, без запаху. Вони легкорозчинні у воді і малорозчинні в етанолі та хлороформі. Кількість цукрів визначає розчинність глікозиду у воді – чим більше цукрових залишків, тим легше сполука розчиняється у воді. Аглікони кардіостероїдів розчинні в органічних розчинниках і практично нерозчинні у воді. Дигітоксин краще розчиняється в хлороформі, ніж дигоксин, який легкорозчинний у розбавленому етанолі та спиртово-хлороформних сумішах, при чому обидві сполуки погано розчиняються в етилацетаті [13, 41].

В основі хімічної структури кардіоглікозидів лежить стероїдне ядро, в якому кільця A/B можуть мати як цис-, так і транс-положення. Кільця C/D, на відміну від більшості відомих природних стероїдів, мають цис-сполучення. Відносно кільця B кільце C орієнтоване у транс-положення [7, 8, 14].

Природні серцеві глікозиди зазвичай мають при C17 лактонне кільце, в залежності від будови якого аглікони та їх глікозиди поділяють на 2 групи – карденоліди та буфадієноліди. Карденоліди мають ненасичене п'ятичленне лактонне кільце (бутенолідне), а буфадієноліди – двічі ненасичене шестичленне лактонне кільце (кумалінове) [7, 8]. Наявність лактонного кільця у будові молекули зумовлює кардіотонічну дію серцевих глікозидів (Рис. 1.1).



Карденолід



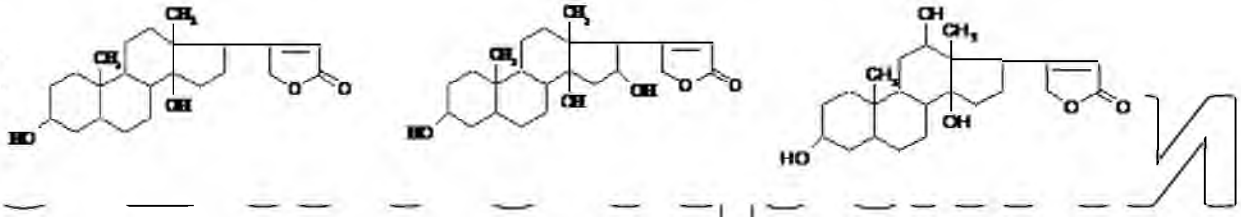
Буфадієнолід

Рис. 1.1 Наявність лактонного кільця у будові молекули

Кардіоглікозиди при C3 і C14 атомах карбону можуть мати спиртові групи або кисневмісні замісники. Гідроксильна група при C14 займає цис-положення по відношенню до метильної групи при C13. Замісники при C3 та C17 можуть мати як β-

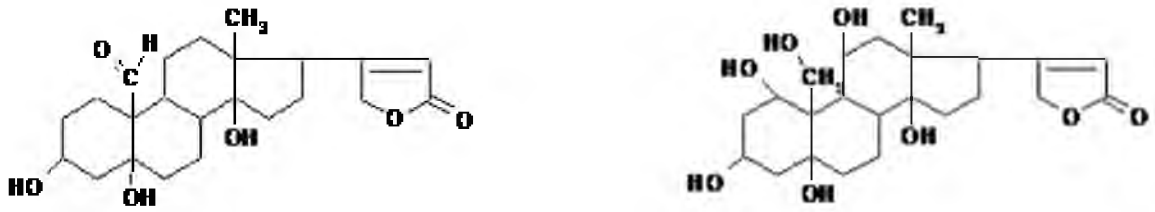
, так і α-конфігурацію, але частіше – β. При С10 є β-орієнтована метильна, рідше – альдегідна, карбінольна або карбоксильна групи.

Вільні аглікони кардіостероїдів в рослинах зустрічаються в невеликих кількостях (Рис.1.2; 1.3).



Дигітоксигенін Гітоксигенін Дигоксигенін

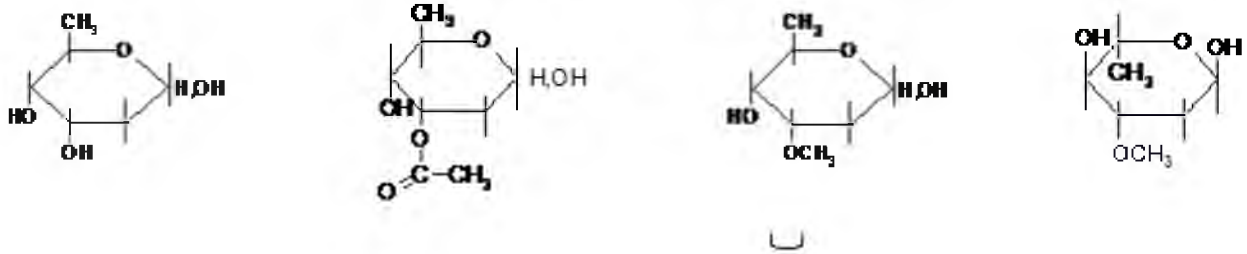
Рис. 1.2 Аглікони групи наперстянки.



Строфантид Уабагенін

Рис. 1.3 Аглікони групи строфанту.

Найчастіше кардіостероїди глікозильовані різними цукрами. Вуглеводні компоненти побудовані, як правило, лінійно, і приєднані до С3 атому карбону. Глікозидна частина може бути представлена 1 – 5 залишками цукрів. Поряд зі звичними моносахаридами (глюкоза, фруктоза, ксилоза, рамноза та ін.), до складу кардіоглікозидів входять специфічні (характерні лише для серцевих глікозидів) дезоксицукри, які містять меншу кількість атомів оксигену, порівняно зі звичайними цукрами [8, 14]. Як правило, L-цукри в молекулі кардіоглікозидів мають α-конфігурацію, в той час як для D-цукрів характерна β-конфігурація (рис. 1.4).



D- Дигітоксоза *D*-Ацетилдигітоксоза *D*-Цимароза *D*-Олеандроза

Рис. 1.4 Конфігурація D-цукрів в молекулі кардіоглікозидів.

Хоча за фармакологічну активність відповідає насамперед аглікон (генін), цукрова частина також має значний вплив на її вираженість. Цукри у поєднанні з агліконом посилюють як ефективність, так і токсичність глікозиду. Крім того, цукор впливає на деякі фізичні властивості хімічної сполуки – розчинність у воді, дифузію через напівпроникні мембрани і, відповідно, швидкість всмоктування і транспортування речовини [2, 6].

Серцеві глікозиди мають оптичну активність, багато з них флуоресціюють в УФ-світлі, а також піддаються кислотному, ферментативному та лужному гідролізу [6, 7, 8, 14].

Кислотний гідроліз. При кислотному гідролізі руйнується глікозидний зв'язок, в результаті чого утворюється вільний аглікон та вуглеводна частина. В даних умовах відщеплюється одномоментно весь цукровий ланцюг. Після гідролізу реакційну суміш нейтралізують розчином натрію карбонату з наступною екстракцією агліконів хлороформом.

При певних умовах кислотного гідролізу окрім розриву глікозидного зв'язку може руйнуватися структура цукрового ланцюга і пошкоджуватися структура аглікону.

Треба зазначити, що серцеві глікозиди частково гідролізуються шлунковим соком, але недостатньо швидко, що дозволяє досягти бажаного терапевтичного ефекту.

Ферментативний гідроліз. Ферментативний гідроліз дозволяє одержати з нативних глікозидів вторинні під дією ферментів. В даному випадку відщеплення моносахаридів від цукрового ланцюга відбувається поступово. Перетворення глікозидів здійснюється за допомогою аутоферментативного гідролізу під дією ферментів глюкозидаз, які містяться безпосередньо в самій рослині. Для цього подрібнену ЛРС зволожують водою і залишають на декілька годин при 35–40°С. Час ферментативного гідролізу встановлюється для кожного виду рослини окремо.

Фермент дигіланідаза відщеплює кінцеву глюкозу в ланатозидах А і В, пурпуреаглікозидах А і В. Фермент строфантобіаза, одержаний з насіння строфанту, гідролізує зв'язок між кінцевою глюкозою та цимарозою в К-строфантині-β.

Під дією ензимів естераз гідролізу піддаються і ацильні групи, які є в структурі карденолідів та буфадієнолідів.

Проте є рослини, які містять інгібітори гідролізуючих ензимів (наприклад, конвалія травнева містить D-глюкуронову кислоту), що виключає можливість використання аутоферментативного процесу.

Для гідролізу серцевих глікозидів широко використовують ферментні препарати, одержані з гриба Aspergillus oryzae та панкреатичного соку виноградного равлика Helix pomatia, які являють собою складні суміші D-глюкозидази, D-ксилозидази, целюлази, естерази та інших гідролаз.

Ферментативний гідроліз необхідний для одержання вторинних глікозидів, які використовуються в якості лікарських засобів (дигітоксин, дигоксин). У вільному стані ці сполуки містяться в рослинах в незначній кількості. Як лікарські препарати вторинні глікозиди кращі для внутрішнього застосування, оскільки вони менше піддаються діям ферментних систем ШКТ, легше розчинні в ліпоїдах і, відповідно, краще всмоктуються.

Лужний гідроліз. У присутності конценрованого розчину лугу лактонне кільце у С17 положенні аглікону відкривається або відбувається незворотня ізомеризація кардіоглікозидів з утворенням кардіотонічно неактивних сполук.

У м'яких умовах при лужному гідролізі відщеплюються ацетильні групи у глікозидів, які містять такі групи у цукровому залишку (ланатозиди А, В і С, ацетилдигітоксин). Наприклад, в результаті м'якого лужного гідролізу з ацетилдигітоксину утворюється кислота оцтова і дигітоксин.

Серцеві глікозиди частіше кристалічні речовини, безбарвні або кремоваті, рідше аморфні речовини без запаху, гіркого смаку; характеризуються певною точкою плавлення (100–270 °С) і кутом обертання, оптично активні. Багато глікозидів флуоресціюють в УФ-світлі (ланатозиди наперстянки). Серцеві глікозиди, в основному, мало розчиняються у воді, хлороформі, але добре розчиняються у водних

розчинах метанолу і етанолу. Аглікони серцевих глікозидів краще розчиняються в органічних розчинниках. Серцеві глікозиди легко піддаються кислотному, лужному і ферментативному гідролізу. При кислотному або лужному гідролізі відразу відбувається глибоке розщеплювання до аглікона і цукрів [4, 7, 12].

Серцеві глікозиди схильні до гідролізу. Він може бути кислотним та ферментативним. У лужному середовищі йде деструкція агліконової частини молекули, що призводить до втрати кардіотонічної дії.

На стійкість глікозидного зв'язку при кислотному гідролізі впливає розмір окисного циклу цукру. Фуранозиди гідролізуються значно швидше, аніж піранозиди. Глікозиди 2-дезоксисахарів менш стійкі до гідролізу порівняно з глікозидами звичайних цукрів.

Хімічні властивості глікозидів різноманітні й обумовлені наявністю глікозидного зв'язку й будовою цукрів й аглікона, у серцевих глікозидів обумовлені наявністю стероїдного ядра, лактонного кільця, вуглеводного ланцюга й присутністю глікозидного зв'язку.

Аглікони серцевих глікозидів є стерсїдами, але на відміну від інших сполук цього класу вони мають специфічну просторову орієнтацію молекули. Кільця A/B та C/D у кардіостероїдів знаходяться в цис-положенні, а кільця B/C — у транс-положенні. Таке розташування кілець відрізняє серцеві глікозиди від інших природних стероїдів, в яких кільця C/D займають транс-положення (Рис. 1.5).

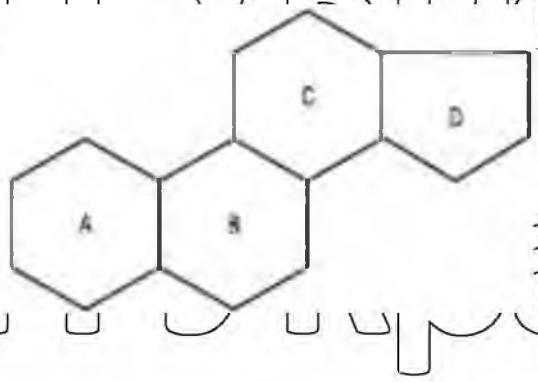
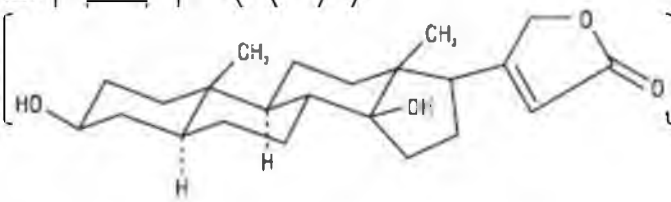


Рис. 1.5 Розташування кілець в молекулі циклопентанпергідрофенантрену.

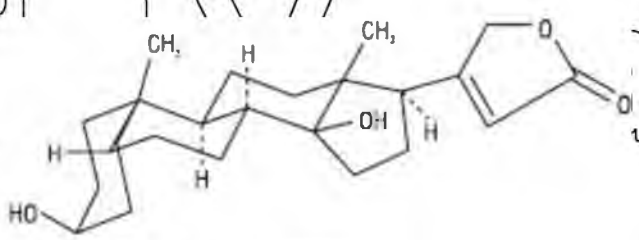
Серцеві глікозиди за характером бічного ланцюга у С-17 поділяються на дві групи: карденоліди (групи наперстянки, строфанту) мають у С-17 ненасичене п'ятичленне

лактонне кільце; буфадієноліди (групи морозника, луківки) мають С-17 шестичленне ненасичене кільце з двома подвійними зв'язками.

Найбільш поширені карденоліди. Лактонне кільце в карденолідах може знаходитися в α (17βH)- або β (17αH)-положеннях. Саме наявність лактонного кільця зумовлює кардіотонічну дію [6, 8, 14]. Відсутність, розрив або ізомеризація лактонного кільця призводить до втрати фізіологічної активності. За конфігурацією сполучення кілець А/В кардіостероїди поділяють на два ряди: ряд хлестану (*транс*-А/В-ряд або 5α-ряд), до якого належить узаригенін, ряд копростану (*цис*-А/В-ряд або 5β-ряд), до якого належить дигітоксигенін (Рис. 1.6).



Узаригенін



Дигітоксигенін

Рис. 1.6. Конфігурація сполучення кілець в молекулах узаригеніну та дигітоксигеніну.

За класифікацією, запропонованою Баумгартеном, серцеві глікозиди залежно від замісників у С-10 (С-19)-положенні поділяють на три групи: з альдегідною групою, зі спиртовим і метильним радикалами. Крім того, у положенні С-13 завжди знаходиться метильна група, гідроксили — у С-3 і С-14, рідше в С-5, С-11, С-12, С-18. Гідроксильна група буває у С-16, часто етерифікується мурашиною (гіпоксигенін), оцтовою (олеандрогенін) та ізовалеріановою (адигенін) кислотою [7].

Епоксидні групи трапляються в положеннях С-7–С-8 (тангеногенін); С-8–С-14 (адиреригенін), С-11–С-12 (цербертигенін) і мають β-конфігурацію. Карденолідів із

подвійним зв'язком у молекулі небагато, напр. канаригенін, гірканогенін, гірканогенол. Інша складова частина С.г. – вуглеводня. До її складу найчастіше входять D-глюкоза, D-фруктоза, D-ксилоза і D-рамноза, поширені в рослинному світі. Специфічними для С.г. є 2-, 6-дезоксицукри, 2,6-дидезоксицукри та їх метильні похідні – D-дигітоксоза, D-цимароза, L-олеандроза, D-дигіталоза та ін. За розміром окисного циклу вони є піранозидами [3, 22, 27].

Кардіостероїди за хімічною будовою мають бутенолідне п'ятичленне ненасичене лактонне кільце, або кумалінове – двічі ненасичене шестичленне лактонне кільце. Саме наявність лактонного кільця обумовлює серцеву дію. Відсутність, розрив або ізомеризація лактонного кільця веде до втрати фізіологічної активності. Серцеві глікозиди за характером бічного ланцюга у С-17 поділяються на дві групи:

- карденоліди (група наперстянки, строфанта) мають у С-17 ненасичене п'ятичленне лактонне кільце;
- буфадієноліди (група морозника, луківки) мають у С-17 шестичленне ненасичене кільце з двома подвійними зв'язками.

Більш поширені карденоліди, які зустрічаються тільки в рослинах. Буфадієноліди зустрічаються як у рослинних, так і у тваринних організмах.

Лактонне кільце в карденолідах може знаходитися в α (17βH)-або β (17αH)-положеннях. (Замісники, що знаходяться над загальною площиною кільцевої системи, позначаються β, а під - α.) У природі в більшості випадків зустрічаються карденоліди з розташуванням лактонного кільця в 17β-положенні, проте в деяких рослинах знайдені карденоліди з 17α-розташуванням лактонного кільця. За конфігурацією сполучення кілець А/В карденоліди і буфадієноліди поділяють на два ряди:

- ряд холестану (транс-А/В ряд, або 5α-ряд), до якого відноситься узаригенін;
- ряд копростану (цис-А/В ряд, або 5β-ряд), до якого відноситься дигітоксигенін.

НУБіП України

За стереохімією стероїдного ядра буфадієноліди однакові з карденолідами. Поряд зі вказаними вище замісниками та місцями їх приєднання деякі буфадієноліди мають гідроксильну групу у С-8 та ацетилгідроксильну групу у С-6.

- За класифікацією, запропонованою Баумгартеном, серцеві глікозиди в залежності від замісників у С-10 (С-19)-положенні поділяють на три групи [7, 8, 22]: з альдегідною групою; зі спиртовим та метильним радикалом.

Крім того, у положенні С-13 завжди знаходиться метильна група, гідроксили – у С-3 та С-14, рідше у С-5, С-11, С-12, С-18. Гідроксильна група у С-16 часто етерифікується мурашиною (гіпоксигенін), оцтовою (олеандрогенін) та ізовалеріановою (адигенін) кислотами. Епоксидні групи зустрічаються в положеннях С7 - С8 (тангеногенін), С8 - С14 (адиреригенін), С11 - С12 (цербертигенін) і мають β-конфігурацію. Карденолідів з подвійним зв'язком у молекул і небагато, наприклад канаригенін, гірканогенін.

Вуглеводну частину серцевих глікозидів найчастіше утворюють D-глюкоза, D-фруктоза та D-ксилоза. Специфічними для кардіостероїдів є 2,6 дезоксисахара – D-дигітоксоза, D-цимароза, D-олеандроза, D-дигіталоза та ін.

Серцеві глікозиди за рідкісними винятками є нейтральними сполуками. У той же час вони чутливі до дії як кислот, так і лугів. Тому ці властивості серцевих глікозидів потрібно враховувати при їх виділенні.

1.3 Вміст глікозидів у рослинах

Глікозиди зустрічаються в корі, плодах, корінних, бульбах, квітках й інших частинах рослин. Іноді в одній рослині втримується декілька різних глікозидів. Вони утворюються там, де активно йде біосинтез, наприклад у листах і зелених стеблах, і в розчиненому виді переносяться до місць нагромадження – корінням і насінням. Більшість рослинних пігментів – це глікозиди. Багато які таніни також є глікозидами. Накопичуються серцеві глікозиди в листі (наперстянка), насінні (строфант), траві (горицвіт, жовтушник, конвалія) та підземних органах (луківка надморська, чемерник) [26, 34, 49].

НУБіП України

Спочатку передбачалося, що глікозиди утворюються тільки в рослинах, однак відомо, що вони можуть виникати й в організмі тварин у процесі гравлення, коли деякі шкідливі організму речовини, з'єднуючись із глюкуроновою кислотою (грає ту ж роль, що й глюкоза в рослинних глікозидах), екскретуються із сечею [7, 14]. Деякі види комах можуть накопичувати серцеві глікозиди, оскільки вони харчуються рослинами, багатими на цю групу БАР. Таким чином, комахи захищають себе від поїдання птахами. Так, карденоліди сарментогенін, олеандригенін знайдені у захисному секреті жуків роду хризомелід.

Буфадієноліди отримали свою назву від родової назви жаби (Bufo у перекладі з латинської – жаба). На тілі жаби розташовані залози, які виділяють захисний секрет, до складу якого входять кардіостероїди, іноді – карденоліди, проте, насамперед – буфадієноліди (буфалін, буфоталінін, аренобуфагін, цинобуфагін, телоцинобуфагін та ін.). Буфадієноліди гамабуфоталін, аренобуфагін, буфоталін, цинобуфагін, марінобуфагін було виділено із потиличних залоз змій роду Rhabdophis, які зустрічаються в Японії та в Південно-Східній Азії.

У світовій флорі з 434 родин квіткових кардіотонічні глікозиди знайдено у 14 родинах і 34 родах, до яких належать близько 300 видів. Більшість з них синтезують глікозиди, містять карденоліди. В рослинах родин Alliaceae, Hyacinthaceae, Liliaceae, Iridaceae та Meliaceae ідентифіковані буфадієноліди. Крім рослин, буфадієноліди цис-А/В ряду знайдені в отруйних виділеннях шкірних залоз жаб.

Наявність серцевих глікозидів виявлено у таких родинах і родах: Scrophulariaceae *(Digitalis),* Convallariaceae, Hyacianthaceae *(Ornithogalum, Scilla, Bowiea),* Apocynaceae *(Strophanthus, Nerium),* Ranunculaceae *(Adonis, Helleborus),* Brassicaceae *(Erysimum),* Fabaceae *(Coronilla),* Asclepiadaceae *(Asclepias, Periploca),* Moraceae *та ін.* Із строфанта Комбе було виділено 24 глікозиди, наперстянки шерстистої – більше 60, а з олеандра – 87 сполук [36, 51].

Локалізуються вони в різних органах рослини: насінні, листі, стеблах, кореневищі, кореняхі, корі та ін.

Вміст їх змінюється відповідно до еколого-географічних умов, вегетаційного періоду, стану рослини (свіжа або висушена) тощо [6, 32, 33, 37].

1) У незрілих фруктах глікозиди, завдяки їхньому гіркому смаку, служать для захисту від поїдання тваринами. У міру дозрівання фруктів безбарвні гіркі глікозиди розщеплюються, виділяючи пігменти, що надають плодам привабливий колір, ароматичні речовини, і цукор, що робить їх солодкими. Все це приваблює різних тварин, птахів і комах, що сприяє ефективному поширенню насіння.

2) Відповідно до іншої теорії, глікозиди є засобом виділення отруйних речовин шляхом їхнього зв'язування й перетворення в інертні форми (детоксикація).

3) Глікозиди являють собою форму збереження цукрів як резерву харчування. Їхнє розщеплення – швидкий шлях забезпечення рослину цукрами.

Роль і значення гликозидів у рослинах з'ясована недостатньо. Хоча глікозиди мають різний хімічний склад, з'єднання з меншою молекулярною вагою значно частіше зустрічаються в природі [9, 19, 30].

1. Амігдалин (ціаногені глікозиди) утримуються в насіннях мигдаля, яблук, горобини, сливових, вишні, з ним зв'язаний гіркий смак і запах гіркого мигдалю.

2. Сахарофосфати беруть участь в обміні речовин.

3. Сапоніни руйнують ліпопротеїнові мембрани.

4. Утворять флавони, які здатні поглинати ультрафіолетові промені й охороняти хлорофіл у клітинах рослин від руйнування. Дослідження флавонів із цього погляду показало, що вони прискорюють реакцію між перекисом водню, пероксидазою і аскорбіновою кислотою, перетворюючи останню в дегідроаскорбінову кислоту. Знайдено, що флавони каталізують реакцію окислювання в 50 – 100 разів енергійніше, ніж пірокатехін. Енергія, що виділяється при подиху рослин, споживається в різних ендотермічних процесах синтезу; за рахунок цієї енергії й відбувається синтез органічних кислот у суккулентів.

5. Похідні ализарину, що утворюють із двома частками глюкози руберитринову кислоту, що є барвником марени.

6. Деякі глікозиди, наприклад родини Loganiceacea, містять азот і являють, як би перехід до алкалоїдів. У їхній склад входять пуринові й піримідинові похідні, що грають важливу роль у внутрішньотканинних дихальних процесах; до них

НУБіП України

відносяться й d-рибозид гуаніна, відомий за назвою верніна. Він виявлений у паростках різних рослин, у соці цукрового буряка, у пилку лісового горіха й сосни.

7. Важливу роль в організмі грають глікозиди, утворені при з'єднанні цукрів рибози й дезоксирибози з азотистими основами, – так звані нуклеозиди. Їхні фосфорні похідні – нуклеотиди – беруть участь у побудові нуклеїнових кислот, а також є коферментами.

НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Конвалія (C*onvallariae)*

Конвалії трава (Convallariae herba), конвалії листя (Convallariae folia), конвалії квітки (Convallariae flores) (рис. 2.4) [9, 11, 38].

Види конвалії – Convallaria spp., Родина Конвалієві (Лілейні) – Convallariaceae (Liliaceae).

Види: C. majalis (К. травнева, К. звичайна), C. keiskei (к. Кейске або к. японська), C. transcaucasia (к. закавказька).

Російська назва. Ландыш майский, Л. Кейске, Л. Закавказский.

Англійська назва. Lily-of-the-valley, Convallaria, May Lily, May Bells, Muguet.

Рис. 2.1. Конвалія (*Convallaria spp.*)

Багаторічна трав'яниста рослина від 15 до 20 см заввишки. Квітконосне стебло прямостояче, просте, голе, безлисте, коротше за листки. Листки прикореневі, видовженоланцентні або еліптичноланцентні, загострені, звужені в черешок. Квітки дзвоникуваті, білі, запашні, в однобічній 6–10 квітковій пониклій китиці. Плід – куляста ягода яскраво-червоного кольору з 2 синіми насінинами.

Батьківщина – Європа, в Україні росте в мішаних та широколистяних лісах, інтродукована в США і північній частині Азії.

Листя цільнокрає, еліптичної або ланцетної форми, голе з обох сторін, довжиною 10–20 см, шириною 3–8 см, має загострену верхівку, звужується біля основи і переходить у довгу піхву, жилкування дугоподібне, колір зелений. Запах слабкий, смак не визначається.

Квітки являють собою світло-зелені квітконосні стебла, які закінчуються однобічною китицею з 5–10 (20) жовтувато-білими квітками. Квітки на вигнутих квітконіжках, оточених біля основи плівчастими приквітниками. Оцвітина проста, віночкоподібна, дзвоникувата з 6 зубцями. Тичинок 6, зав'язь верхня, стовпчик з розширеним рильцем. Запах слабкий, смак не визначається.

Трава конвалії представлена сумішшю листя та квітконосів з квітками і має діагностичні ознаки, притаманні зазначеним вище видам ЛРС.

Склад карденолідів залежить від географічного поширення рослини. Кількісно переважає конвалотоксин у конвалії, яка росте у західній і північно-західній Європі, конвалозид – у північній і східній Європі, конвалотоксин та конвалотоксол – у центральній Європі; флавоноїди (похідні кверцетину, кемпферолу, лютеоліну); кумарини; стероїдні сапоніни. Входить до складу Державної Фармакопеї України XI видання.

«Корглікон» (сума кардіоглікозидів з листя конвалії) та «Хомвіокорин N» використовуються для лікування серцевої недостатності, «Конвалійно-валеріанові краплі», «Краплі Зеленіна», «Валокормід», «Кардіофіт» – при неврозах серця та початкових стадіях серцевої недостатності. Субстанція корглікону входить до складу препарату «Марелін» антиаритмічної дії.

2.2 Методи виділення глікозидів із рослинної сировини

Сушіння та зберігання рослинної сировини, що містить глікозидиди. Ще в 30-х рр. 20 століття швейцарський вчений А. Шталь висунув гіпотезу про те, що серцеві глікозиди знаходяться в рослинах у вигляді складних сполук, аніж ті, які вилучають.

Вважалося, що ферменти під час сушіння, зберігання і виділення глікозидів з рослинної сировини відщеплюють від первинних сполук (генуїнних глікозидів) цукру, які перетворюються на менш складні речовини, біологічна дія яких слабкіша, ніж у нативних глікозидів. Тож рослинну сировину, яка містить глікозиди, сушили швидко при температурі 50–60 °С, щоб звести до мінімуму дію ферментів [9, 11].

Пізніше, в 60–70-х рр., дослідження Н. К. Абубакірова, Г. П. Ченкіна та інших довели, що вміст К-строфантину-β у свіжих коренях кендиря та траві горицвіту менший, аніж вміст його в тій самій сировині, але при повільному сушінні. Вони зробили висновок, що при повільному сушінні відбувається синтез К-строфантину-β з цимарину. Це знайшло підтвердження в подальших роботах, які довели, що під час повільного сушіння листків наперстянки шерстистої різко (на 50–80 %) збільшується вміст нативних ланатозидів А, В, С.

У зв'язку з високою токсичністю кардіотонічних речовин лікарську рослинну сировину та препарати, які містять їх, слід зберігати з обережністю (за списком Б), окремо від іншої сировини, в сухому, захищеному від прямих сонячних променів місці. Один раз на рік сировину і препарати стандартизують. На етикетках повинні бути вказані: дата аналізу і кількість одиниць дії в 1 г сировини. Чисті глікозиди зберігають за списком А.

Екстракція. Методи виділення глікозидів із рослин мають більш як 100-річну історію і досі удосконалюються. Сучасна схема екстракції така: подрібнення сировини, знежирення її бензином або петролейним ефіром, екстракція 30–70 % етанолом, згущення екстракту; переведення глікозидів у водний або водно-спиртовий розчин; висадження смол і хлорофілу; екстракція глікозидів органічними розчинниками, що не змішуються з водою; випарювання; очищення водно-спиртового розчину ацетатом свинцю або гідроксидом алюмінію; витягування глікозидів із водного розчину органічними розчинниками різної полярності (діетиловий ефір, хлороформ, суміш хлороформу-етанолу 3:1 – 2:1); хроматографічне розділення та кристалізація. Процес багатостадійний, але виправдовує себе якістю очищення серцевих глікозидів від численних супутніх сполук [5, 9, 11, 38].

НУБіП України

2.3 Якісні реакції глікозидів

Глікозиди розпізнають, ідентифікуючи продукти їхнього розщеплення – цукру й аглікони. Для цього застосовують звичайні методи поділу й ідентифікації органічних сполук: різні види хроматографії, мас-спектрометрію, спектроскопію ядерного магнітного резонансу й т.п.

Глікозиди по-різному реагують на хімічні агенти. На відміну від алкалоїдів вони не дають специфічних реакцій; вони не відновлюються ні розчином Фелінга, ні аміачним розчином окису срібла. Виключення становлять ті глікозиди, аглікони яких містять групи, що редукують. Після гідролізу глікозида кип'ятінням водяного розчину з розведеним розчином сірчаної кислоти цукор, що утвориться, виявляють по редукуючій здатності, розчином Фелінга [13, 25, 44]. Більш загальним є ферментативне розщеплення, що дозволяє не тільки встановити присутність глікозида, але й довести його ідентичність. Найчастіше це роблять за допомогою ферменту емульсина. Всі такі глікозиди володіють у водяних розчинах лівим обертанням, у той час як глюкоза, що утвориться в результаті гідролізу, має праве обертання. На підставі цих двох положень кожен глікозид характеризують властивим йому энзимолітичним індексом відновлення. Під цим індексом мають на увазі вміст глюкози, виражений в міліграмах в 100 мл випробуваного розчину, що утвориться при розщепленні глікозиду в кількості, необхідній для зміни обертання вправо на 1°С у трубці довжиною 20 см.

Ідентифікація. Для визначення серцевих глікозидів частіш за все використовують три групи кольорових реакцій: на стероїдне ядро, лактонне кільце, вуглеводний компонент.

Стероїдне ядро. Використовують реакцію Лібермана — Бурхарда. З реактивом Чугаєва (хлорид цинку і ацетилхлорид в оцтовій кислоті) утворюється рожеве забарвлення з максимумом поглинання 562 нм. Карденоліди, які містять дієнову групу або здатні її утворювати під впливом трихлороцтової кислоти, дають позитивну реакцію Розенхейма. Стероїдна структура може бути доведена кольоровими реакціями із сірчаною і фосфорною кислотами.

НУБіП України

Бутенолідне кільце. Проводять реакції з ароматичними нітропохідними в лужному середовищі: реакції Легаля (з натрію нітропрусидом), Раймонда (з м-динітробензолом), Кедде (з 3,5-динітробензойною кислотою). На кумалінове кільце специфічних реакцій не знайдено. Для ідентифікації буфадієнолідів знімають УФ-спектр, де вони мають характерну смугу поглинання при λ-300 нм.

Дезоксицукри виявляють реакцією Келлера — Кіліані. Реакція позитивна, якщо в препараті або витяжці з рослинної сировини 2-дезоксицукор знаходиться у вільному стані або займає кінцеве положення у молекулі глікозиду. Вільні 2-дезоксицукру з нітрофенілгідразином і лугом утворюють блакитне забарвлення. Виявляють 2-дезоксицукру й на папері зі спиртовим розчином n-диметиламінобензальдегіду і фосфорною кислотою [25, 44].

В аналізі серцевих глікозидів використовують УФ-, ІЧ-, мас-, та ЯМР-спектроскопію. УФ-спектроскопія дозволяє встановити вид лактонного кільця, наявність подвійних зв'язків у стероїді, виявити наявність та положення замісників.

Глікозиди, аглікони яких містять карбонільну групу, ідентифікують у вигляді гідразонів, семикарбазонів або оксімів. При ацетилуванні уксусним ангідридом багато глюкозидів дають характерні ацетильні похідні. Дію ацетилюючої суміші використовують і для відкриття глюкози як цукрового компоненту глікозиду. Відкриття її засноване на перетворенні отриманої при ацетилуванні пентаацетилглюкози в пентаацетилглюкозил-п-толуїдид при дії п-толуїдина. Це з'єднання не розчинне в спирті, має ліве обертання та різку температуру плавлення.

2.4 Методи кількісного визначення глікозидів

Всі методи кількісної оцінки серцевих глікозидів можна поділити на дві групи: біологічні та фізико-хімічні.

Біологічні методи. Специфічним методом визначення кількісного вмісту кардіоглікозидів є біологічна стандартизація. Метод полягає у встановленні біологічної активності серцевих глікозидів на лабораторних тваринах (кішках, жабах, голубах), яку виражають в одиницях дії (котячих – КОД, жаб'ячих – ЖОД, голубиних

– ГОД). За одиницю дії (1 КОД, 1 ЖОД, 1 ГОД) прийнята найменша кількість досліджуваного об'єкта (1 мг речовини або 1 мл витягу з рослини), яка викликає систолічне зупинення серця у тварин протягом 1 год. Її порівнюють із активністю стандартних зразків і виражають в одиницях дії (котячих, жаб'ячих та голубиних). Використовують жаб трав'яних, озерних та ставкових, переважно самців, масою 25–40 г. Котів беруть обох статей, здорових, масою 2,5—3,5 кг.

Стандартними зразками при дослідженні сировини є спеціально виготовлені спиртові екстракти, які містять суміш глікозидів і очищені від супутніх речовин.

Кількість одиниць дії в 1 г лікарських рослин називають валор. Проте, у теперішній час цей метод не є фармакопейним і майже не використовується, оскільки він трудомісткий, не завжди доступний через високу собівартість, має малу точність (10–25 %) та складний, але є незамінним при аналізі галенових препаратів та рослинної сировини. Фармакопея вимагає перевіряти біологічну активність листя наперстянки та препаратів з неї, препаратів наперстянки шерстистої; трави горицвіту та препаратів з неї; трави, листя, квіток конвалії, препаратів, складних лікарських форм, до складу яких входить настойка конвалії; насіння строфанту та препаратів з нього; трави, насіння жовтушника сивіючого та препаратів з них [25].

Фізико-хімічні методи. Титриметричний метод застосовують для серцевих глікозидів, які мають карбонільну групу. При взаємодії гідроксиламіну хлориду з карбонільною групою виділяється хлористоводнева кислота, яка зв'язується діетиламіном, а надлишок останнього титрується розчином хлорної кислоти в метанолі. Цей метод об'ємного титрування серцевих глікозидів був запропонований М. О. Казаріновим та Н. П. Дзюбою (ДНЦЛЗ, Харків) [40, 50].

Полярографічний метод грунтується на здатності карденолідів і буфадієнолідів відновлюватися на ртутно-крапельному електроді.

Спектрофотометричний та колориметричний методи основані на визначенні оптичної густини розчинів серцевих глікозидів з різними хромогенними реагентами.

Комбіновані методи полягають у тому, що спочатку серцеві глікозиди поділяють хроматографічно (паперова, тонкошарова або колонкова хроматографія) з наступним спектрофотометричним або колориметричним визначенням їх.

НУБіП України

Кількісне визначення глікозидів має значення при дослідженні рослинного матеріалу й головним чином лікарської сировини.

Визначення глікозидів зважувальним шляхом після вилучення його розчинниками досить важко, тому що необхідно попереднє його виділення з рослинного матеріалу в досить чистому виді. Тому в ряді випадків доцільне визначення кількості аглікона, що утвориться при гідролізі. Так, кількість синігрина у гірчиці або гірчичниках визначається аргентометричне або йодометричне по кількості відщепленого й відігнаного аллілгірчичного масла. Для кількісної оцінки змісту глікозидів у сировині проводиться визначення вільних цукрів до й після гідролізу: приріст кількості вільних цукрів відповідає кількості зруйнованих гідролізом глікозидних зв'язків. Знаючи склад глікозидів, можна оцінити їхній зміст у зразку [11, 34].

Глікозиди, що містять ціаністий водень, також можуть бути визначені по кількості останнього після розщеплення й відгону.

У багатьох випадках кількість глікозида може бути визначена на підставі зміни кута обертання після ферментативного розщеплення.

У деяких випадках визначають флуоресценцію, характерну для того або іншого глікозида, шляхом порівняння зі свідомо відомим глікозидом.

УФ-спектрофотометрія дає можливість визначити кількісний вміст серцевих глікозидів завдяки утворенню забарвлених продуктів реакцій з кислотовмісними реагентами. Європейська та Британська фармакопеї рекомендують спектрофотометричний метод для кількісного визначення карденолідів у листі наперстянки. При цьому вимірюють поглинання при λ=540 нм червоно-фіолетового розчину, одержаного в результаті реакції з кислотою 3,5-динітробензойною; при λ=495 нм – червоно-оранжевого розчину після реакції Бальє; при λ=470 нм – червоного розчину після взаємодії з натрію динітропрусидом [26].

Часто для визначення вмісту серцевих глікозидів використовують флуориметричний метод, оскільки він є більш чутливим та селективним. Цей метод базується на утворенні структур, які здатні до резонансу.

НУБіП України

В основі полярографічного методу лежить здатність карденолідів та буфадієнолідів відновлюватись на меркурій-крапельному електроді.

Серед хроматографічних методів кількісного визначення кардіостероїдів використовують ТШХ з подальшим елююванням плям, після чого проводять флюорометричний, колориметричний методи визначення, ГХ або ВЕРХ.

2.4.1 Фізико-хімічні та електрохімічні методи визначення глікозидів

Для ідентифікації серцевих глікозидів використовують кольорові реакції на відповідну частину молекули [7, 8, 21, 24, 28]. Кольорові реакції глікозидів звичайно придатні лише при відсутності вільних цукрів. Так, багато глікозидів з очищеною бичачою жовч'ю й сірчаною кислотою дають червоне фарбування, так само спиртовий 20% розчину α-нафтолу з концентрованою сірчаною кислотою дає синє, фіолетове або червоне фарбування. Подібне фарбування виникає й у випадку застосування β-нафтолу або резорцину. Глікозиди, що містять у якості аглікона фенол або з'єднання з фенольним гідроксилом, дають фарбування із хлорним залізом. З деякими глікозидами реакція протікає більш чітко при застосуванні спиртових розчинів реактиву.

1. Реакції на стероїдну частину базуються на здатності стероїдного ядра кардіоглікозидів піддаватися дегідратації.

Реакція Лібермана-Бурхарда проводиться шляхом додавання суміші оцтового ангідриду та кислоти сульфатної концентрованої у співвідношенні 50:1, з'являється пурпурове забарвлення, яке поступово перетворюється на синьо-зелене.

Реакція з реактивом Чугаєва відбувається з використанням цинку хлориду та ацетилхлориду в кислоті оцтовій, в результаті чого утворюється рожеве забарвлення з максимумом поглинання при λ=562 нм.

Реакція Розенгейма. Карденоліди, які мають дієнову групу в своїй структурі або здатні її утворювати під дією кислоти трихлороцтової, забарвлюються у рожевий колір з максимумом поглинання при λ=562 нм, який з часом переходить у ліловий або синій.

НУБіП України

Стероїдну структуру можна підтвердити кольоровими реакціями з сульфатною та фосфорною кислотами.

2. Реакції на ненасичене лактонне кільце відбуваються за рахунок здатності лактонного кільця кардіоглікозидів окислюватися полінітросполуками у лужному середовищі з утворенням забарвлених продуктів реакції.

Реакція Кедде є специфічною на лактонне кільце карденолідів. При додаванні кислоти 3,5-динітробензойної утворюється фіолетово-червоне забарвлення.

Реакція Легаля. При додаванні натрію нітропрусиду з'являється червоне забарвлення.

Реакція Раймонда. При наявності замісників при С21 лактонного кільця карденолідів під дією м-динітробензену в бензені утворюється фіолетове забарвлення.

Реакція Бальє. Під дією кислоти пікринової карденоліди забарвлюються у червоно-оранжевий колір.

На двічіненасичене шестичленне лактонне кільце специфічних реакцій немає. Для ідентифікації буфадієнолідів використовують метод УФ-спектроскопії з максимумом поглинання при λ=300 нм.

3. Реакції на цукрову частину молекули проводять після гідролізу.

Реакції на моносахариди. Використовуються всі кольорові реакції, характерні для вуглеводів (реактив Фелінга, реакція «срібного дзеркала»).

Реакції на специфічні дезоксицукри:

Реакція Келлера-Кіліані: суміш двох реагентів – кислоти оцтової льодяної зі слідами ферум (III) сульфату та кислоти сульфатної концентрованої зі слідами ферум (III) хлориду – дозволяє отримати синє забарвлення. Проте, К-строфантин-β та строфантозид (ди- і триглікозиди) не дають цієї реакції. Тому для їх ідентифікації попередньо проводять гідроліз кислотою трихлороцтовою, після якого вільний 2-дезоксицукор з п-нітрофенілгідразином у лужному середовищі дає блакитне забарвлення.

Реакція з ксантгідролом: при нагріванні реакційної суміші ксантгідролу в кислоті оцтовій льодяній у присутності 1 % кислоти хлоридної утворюється червоне забарвлення.

НУБіП України

Методом ПХ 2-дезоксицукри можна ідентифікувати зі спиртовим розчином п-диметиламінобензальдегіду в кислоті фосфатній та спиртовим розчином ванілліну в кислоті фосфатній за появою плям блакитного кольору.

Достовірне підтвердження про наявність кардіоглікозидів у ЛРС можна отримати після одержання позитивного результату якісних реакцій на всі частини молекули.

При використанні методу ТШХ необхідно враховувати хімічну будову сполук. Для ідентифікації серцевих глікозидів, характерних для роду строфант, використовують систему розчинників етилацетат-піридин-вода (5:1:4), а розділення глікозидів наперстянки проводять методом двомірної ТШХ у системах розчинників етилацетат-метанол-вода (16:1:1) та хлороформ-піридин (6:1). Для проявлення речовин використовують реактиви для виявлення стероїдної та лактонної частин молекули.

Аналіз кардіоглікозидів проводять з використанням УФ-, ІЧ-, мас- та ЯМР-спектроскопії [7, 8, 24].

НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України

РОЗДІЛ 3
РЕЗУЛЬТАТИ ПРОВЕДЕНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Глікозиди рослинного походження, які містять серцеві глікозиди

Серцеві глікозиди – це група біологічно активних речовин, похідних циклопентанпергідрофенантрену, з високою специфічною вибірковою дією на серцевий м'яз [3, 10, 13]. **Цитостатики** Речовини, група монотерпенових сполук рослинного походження, що містять в своїй структурі частково гідровану циклопентанпіранову систему, входять до складу окремих рослин та здатні впливати на серце. Відкриті в середині XIX століття, однак інтенсивне їх вивчення почалося лише у 40 роках XX століття. Дослідженння даних сполук були ускладненні як важкістю виділення індивідуальних речовин, так і нестабільністю їх агліконів. Цукрова частина глікозидів представлена глюкозою, ксилозою, рамнозою, галактозою. Дуже легко окислюються киснем повітря, леткі компоненти ефірних олій, складають неамінну частину комплексних індольних алкалоїдів [13, 21, 23].

Глікозиди містяться в корі, плодах, коренях, листі, квітках та інших частинах рослин. Вони утворюються там, де активно відбувається біосинтез, наприклад, у листі та зелених стеблинах, й у розчинному вигляді переносяться до місць накопичення – коренів та насіння.

Лікарська сировина, що містить кардіоглікозиди, відноситься до сильнодіючих речовин, а виділені у чистому вигляді сполуки – до отруйних.

Особливо багаті на глікозиди рослини, але виявлені вони і в організмах тварин. У рослинах найчастіше зустрічаються такі глікозиди:

амігдалін, який часто міститься в листках і кісточках рослин родини розових: гіркий мигдаль, абрикос, персик, слива; синігрин – гірчиця, хрін; соланін – картопля; антраглікозиди – ревень; дигітоксин, дигоксин, целанід – пурпурова, великоквіткова, шерстиста та іржава наперстянки; вібрулін – калина звичайна.

Для рослин з родини хрестоцвітих характерна наявність у глікозидах сірковмісних речовин. Це – глікозиди синігрин і синальбін у насінні гірчиці.

У розоцвітих поширений амігдалін, який розпадається з виділенням синильної (ціанової) кислоти. Він є в насінні гіркого мигдалю, абрикоса, вишень, персика, сливи, лавровишні, в квітках і листі черемхи, а також зустрічається в представників зовсім інших родин.

У зелених частинах льону глікозид лінамарин також містить синильну кислоту – дуже сильну отруту.

У жовтецевих зустрічається анемонін і протоанемонін.

Строфантин характерний для рослин родини кутрових – строфанту (чилібухи), олеандра, кендирю коноплевидного.

До групи глікозидів в організмі тварин і людини належать цереброзиди мозку і нуклеозиди. Деякі глікозиди (азонін, строфантин) застосовують у медицині.

3.2 Виділення глікозидів з лікарських рослин

Екстракцію серцевих глікозидів із рослин з огляду на їх розчинність, як правило, здійснюють органічними розчинниками із рослин: спиртами, ацетоном, етилацетатом, найчастіше з додаванням до них води. Саме рослини продовжують залишатися єдиним промисловим джерелом їх одержання. Очищення від хлорофілів і смол проводять, зазвичай, адсорбцією на алюмінію оксиді з водно-спиртових розчинів [23, 28, 35].

Виділення глікозидів в індивідуальному стані базується, головним чином, на адсорбційно-хроматографічних методах або протитечійному розподілі речовин у спеціально підібраних системах розчинників – рідинна екстракція.

Методи виділення глікозидів з рослин досить різноманітні й залежать від природи глікозидів й їх відношення до розчинників. Часте виділення пов'язане з значними труднощами через їх легке розкладання. При екстракції потрібно подбати про інактивацію або руйнування ферментів, щоб попередити гідроліз глікозидів. Цього можна досягти, застосовуючи гарячі розчинники.

Звичайно при виділенні глікозидів виключають застосування кислот і лугів, а також ферментів, що розкладають глікозиди. Або ж рослину піддають обробці

спиртом у присутності лужних агентів (соди, поташу і ін.) і потім витяжці підходящими розчинниками при відповідній температурі. Іноді глікозиди переводять у нерозчинні, що легко піддаються очищенню з'єднання й потім їх розкладають із метою виділення в чистому виді.

Здрібнений рослинний матеріал піддають екстракції в дифузорах (перколяторах) і потім очищенню, з метою видалення дубильних, барвних, слизових, білкових й інших речовин, що одержали назву «баластових».

Схема виділення нативних глікозидів багатостадійна, що пов'язано з вивільненням відносно невеликої кількості серцевих глікозидів від супутніх речовин [25, 27, 28, 35].

Процес екстракції складається з наступних стадій (рис. 3.1):

– Подрібнення сировини для прискорення екстракції.

– Знежирення бензином або петролейним етером для усунення супутніх ліпофільних речовин.

– Екстракція органічним розчинником (96–70 % етанолом, ацетоном). Використання даних екстрагентів обумовлене, по-перше, попередженням впливу рослинних ферментів з метою отримання нативних глікозидів, по-друге, органічні розчинники мають кращу розчинну здатність.

– Згущення екстракту, переведення глікозидів у водно-спиртовий розчин.

– Видалення або осадження смол, хлорофілу та близьких до них за полярністю сполук. Для цього використовують солі металів, наприклад, алюмінію сульфат або феруму сульфат, або екстракцію толуолом, бензином.

- Екстракція глікозидів з водного розчину органічними розчинниками, які не змішуються з водою, призводить до вивільнення їх від солей, цукрів та інших високополярних речовин. Випаровування.
- Очищення водно-спиртового розчину плюмбуму гідроксидом або алюмінію оксидом для видалення поліфенольних та білкових сполук.
- Виділення глікозидів з водного розчину органічними розчинниками різної полярності (диетиловим етер, хлороформ, сумішшю хлороформ – етанол (3:1 – 2:1).

- Хроматографічне розділення суміші серцевих глікозидів, для чого використовують адсорбційну, розподільну хроматографію та ВЕРХ.
- Кристалізація.

На всіх етапах виділення кардіоглікозидів необхідно враховувати їх чутливість до зміни pH середовища та температури. У слабколужному середовищі утворюються ізосполуки, які не мають фармакологічної активності, притаманної серцевим глікозидам. У кислому середовищі глікозиди можуть гідролізуватися, може відбуватися відщеплення третинних гідроксильних груп від стероїдного ядра з утворенням ангідроформ агліконів. Кардіостероїди чутливі до нагрівання. Необхідно враховувати особливості структури молекули окремих сполук, відповідно до чого проводити модифікацію процесу їх виділення.

Рис. 3.1. Принципова технологічна схема отримання глікозидів рослинного походження

Схема одержання вторинних глікозидів аналогічна. Відмінність полягає в попередньому змочуванні сировини та розміщені її в термостаті при температурі 30–40°С на деякий час (1–48 годин).

Особливо великі труднощі виникають при дослідженні рослин з метою пошуків глікозидів. При цьому використовують два основних напрямки: «свинцевий метод» або диференціальну послідовну екстракцію. «Свинцевий метод» заснований на виділенні складових частин рослини у вигляді свинцевих солей і поділі останніх по їхній різній розчинності в тих або інших розчинниках. При диференціальній екстракції роблять послідовний витяг рослинного матеріалу різними розчинниками й хімікатами й вивчення кожного з екстрактів [28, 35].

Через низький вміст глікозидів у рослинах, часто обмежуються виділенням не індивідуальних речовин, а їх сумішей у вигляді водних розчинів, стандартизованих по біологічній дії на тварин. Такі препарати одержали назву неогаленових або новогаленових. В 1 мл такого розчину втримується певна кількість глікозидів, виражених в одиницях дії (ОД). У випадку можливості вираження активності глікозидів у вагових одиницях останні виражаються в грамах (або міліграмах) [30].

При визначенні активності лікарської сировини і багатьох препаратів (галенових, новогаленових та ін.) використовують біологічну стандартизацію і активність серцевих глікозидів позначають жаб'ячими одиницями дії (ЖОД), що характеризують найменшу кількість речовини, що проявляє біологічну дію на тварин. Для прикладу наведена активність лікарської сировини, що містить ряд серцевих глікозидів і активність індивидуальних глікозидів.

1 г листя наперстянки містить 50–66 ЖОД.

1 г трави конвалії містить 120 ЖОД.

1 г трави горицвіту містить 50–66 ЖОД.

1 г насіння строфанту містить 2000 ЖОД.

Індивідуальні глікозиди.

1 г дигітоксину містить 8000–10 000 ЖОД.

1 г конваллятоксину містить 63 000–80 000 ЖОД.

1 г целаніду містить 14 000–16 000 ЖОД.

1 г строфантину К містить 44 000–56 000 ЖОД.

Таким чином, біологічна активність строфантину К і конваллятоксину (глікозид конвалії) значно вища, ніж глікозидів наперстянки – дигітоксину і целаїду.

Більшість сучасних препаратів одержують з висушеної рослинної сировини, підданої сушінню з дотриманням умов, що виключають руйнування біологічно активних речовин (табл. 3.1). Використання висушеної сировини незрівнянно зручно, оскільки суха сировина може бути заготовлене взапас і зберігатися тривалий час, що дозволяє забезпечувати нею фармацевтичні підприємства цілорічно. Це дуже важливо з погляду організації планової безперебійної роботи. Висушена лікарська рослинна сировина на складах і підприємствах повинне знаходиться в умовах, що виключають її відволоження і псування, для чого її періодично піддають перевірці. Однак дослідження в області екстрагування лікарської рослинної сировини показують, що діючі речовини ряду рослинних матеріалів під час сушіння і наступного збереження піддаються змінам у результаті процесів ферментативного розщеплення, що протікають у них, випару, взаємодії з киснем повітря і т.д. [27, 34].

Таблиця 3.1.

Частини рослини та препарати, в яких містяться глікозиди

Рослини	**Частини рослин**	**Препарати**		**Глікозиди, які містяться в новогаленових препаратах**
		прості, галенові і настої	**ново галенові і глікозиди**	
Конваллії трава (*Convallariae herba*), конвалії листя (*Convallariae folia*), конвалія квітки (*Convalaria flores*)	Трава Листя Квітки	Настій	Корглікон	Конваллязид Конваллятоксин

У ряді випадків препарати, отримані зі свіжих рослин, мають більшу активність, чим відповідні препарати з висушеної сировини. Зазначені спостереження приводять до висновку про доцільність використання в ряді випадків препаратів зі свіжих рослин. Однак масова переробка свіжозібраної сировини має труднощі чисто технічного порядку. Тому препарати зі свіжих рослин одержують у невеликих

кількостях, номенклатура їх невелика, їх можна розділити на дві групи: екстракційні препарати (настойки, екстракти) і соки (табл. 3.2) [33, 34].

За активністю серцеві глікозиди виділені із різних части рослин досить істотно розрізняються.

Таблиця 3.2

Номенклатура препаратів, діючі речовини і застосування

Найменування	Лікарська сировина	Діючі речовини	Застосування
Суккудіфер (Succudifer)	Листки наперстянки	Серцеві глікозиди (карденоліди), активність 1 мл соку дорівнює 6 ЖОД	При серцевій недостатності
Сік конвалії (Suc. Convailariae)	Листки конвалії	Серцеві глікозиди (карденоліди), активність 1 мл соку дорівнює 24 ЖОД	При серцевій недостатності
Настій конвалії *(Tinctura Convallariae)*	Трава конвалії, 70 %-ий, 1:10, перколяція	Карденоліди, 10–13 ЖОД. Кардіотонічний засіб	При серцевій недостатності

Особливість препаратів зі свіжих рослин полягає в тім, що в них міститься весь комплекс біологічно активних речовин, що входять до складу лікарської сировини в найбільш природному їхньому стані [37].

Сучасні препарати зі свіжих рослин відносять до двох груп: 1 – соки, 2 – витяги. Соки зі свіжих рослин бувають: натуральні, згущені, сухі. Багато з соків, як найбільш вивчені, дозволені до застосування як лікувальні препарати.

Суккудифер (Succudiferum). Сік із свіжого листя наперстянки, очищеної від баластових речовин. Це прозора червоно-бурого кольору рідина, гірка на смак. В 1 мл

міститься 5—6 ЖОД. Застосовують в усіх випадках серцевої недостатності, зумовленої ураженням клапанного апарата і захворюваннями серцевого м'яза.

Сік конвалії (Siccus Convallariae majalis). Сік із свіжих надземних частин (суміші листків і квіток) конвалії. Прозора червоно-бурого кольору рідина, гірка на смак, запах духмяний. В 1 мл міститься 24 ЖОД. Застосовують аналогічно до соку наперстянки.

Іноді рекомендують використовувати концентровані соки, одержувані на основі застосування ліофільного сушіння. Вони значно стабільніші при збереженні, але спосіб їхнього готування вимагає великих витрат електроенергії, трудомісткий, що підвищує вартість продукції [11, 37].

В останні роки багато робіт присвячені одержанню стабільних соків зі свіжих рослин у сухому виді. Сушіння соків сублімацією зберігає первісну якість біологічно активних речовин (особливо летких фітонцидів) і поліпшують їх властивості шляхом концентрації важливих компонентів. Одержують соки шляхом заморожування з наступною сублімацією.

Технологія одержання соків складається з наступних стадій (рис. 3.2).

1. Збір, миття, сушка сировини.
2. Підготовка до екстрагування.
3. Подрібнення рослинної сировини (отримання екстрагенту).
4. Збір соку, його стабілізація.
5. Відстоювання, фільтрування, очищення соку.
6. Термічна обробка, швидке охолодження.
7. Добавка консервантів, антиоксидантів.
8. Стандартизація, фасовка у флакони.
9. Упаковка, маркування, відвантаження.

НУБіП України

Рис. 3.2 Блок-схема технологічного процесу одержання соку з свіжої сировини.

Зі свіжих рослин витяги біологічно активних речовин одержують у тих випадках, коли дана сировина малосочна і пресування виявляється недостатньо ефективним.

Свіжозібрану сировину відмивають від пилу і забруднень, провітрюють на повітрі і подрібнюють. Це досягається шляхом використання спеціальних машин-вовчків, улаштованих по типу механізованих м'ясорубок і вальців, тому що свіжа сировина містить до 80% вологи і має високу пружність. На даних машинах рослинний матеріал спочатку роздавлюється, а потім стирається.

Настойки зі свіжої рослинної сировини одержують методом мацерації чи без мацерації, для чого застосовують метод мацерації міцним (90%) етиловим спиртом.

Застосовують також метод бісмацерації, при цьому здрібнену сировину перший раз заливають 96% етанолом і настоюють 7 діб; другий раз – 20% етанолом на 3 доби.

НУБіП України

Об'єднані витяги відстоюють, фільтрують і одержують настойки з вмістом 40 – 50% етанолу.

Препарати, отримані зі свіжих рослин, мають більшу активність, ніж відповідні препарати з висушеної сировини. Фітонцидна активність спостерігається, як правило, лише в препаратах, приготовлених зі свіжої рослинної сировини.

Зазначені спостереження приводять до висновку про доцільність використання в ряді випадків препаратів зі свіжих рослин.

3.3 Вплив ступеня подрібнення сировини на процес вилучення екстрактивних речовин

В умовах сучасного стану розвитку промисловості оптимізація процесу екстрагування лікарської рослинної сировини є найактуальнішою проблемою фітохімічного виробництва. Враховуючи те, що настоянки із рослинної сировини отримують у промислових умовах різними екстракційними методами протягом досить тривалого часу, процес удосконалення технології виробництва залишається в центрі уваги дослідників [29, 32, 53].

Для лікарської сировини, що містить кардіоглікозиди, існує два типи сушіння. Щоб отримати первинні глікозиди (пурпуреаглікозид А, ланатозид С) сировину сушать при температурі 50–70°С для запобігання дії ферментів (ферментативного гідролізу). Якщо необхідно одержати вторинні глікозиди (дигоксин, дигітоксин), то сушіння проводять повільно протягом 7–10 діб при температурі 20°С.

Ступінь подрібнення – один із важливих факторів, що впливає на коефіцієнти поглинання та набухання сировини, швидкість дифузії, відповідно і на швидкість і повноту вилучення біологічно активних сполук і в кінцевому результаті на якість лікарського препарату.

Фракційний (гранулометричний) склад або розподіл частинок за розмірами найбільш швидко і зручно визначається за допомогою ситового аналізу. Техніка полягає у тому, що 100,0 г подрібненої сировини просіюють через набір сит із різним діаметром отворів. Нами було вивчено фракційний склад висушеного листя конвалії.

За результатами ситового аналізу ми отримали наступні фракції листя конвалії, які в процентному співвідношенні розподілені наступним чином.

Сито № 1 d = 1 мм – 11,3 г (11,3%)

Сито № 2 d = 2 мм – 10,5 г (10,5%)

Сито № 3 d = 3 мм – 33,0 г (33,0%)

Сито № 4 d = 4 мм – 39,9 г (39,9%)

Сито № 5 d = 5 мм – 5,3 г (5,3%)

Після чого фракції листя конвалії, які пройшли крізь сито № 1, № 2, № 3, № 4 і № 5 об'єднували у три групи:

1. Сировина із величиною частинок 0 – 2 мм;
2. Сировина із величиною частинок 3 – 4 мм;
3. Сировина із величиною частинок 4 – 5 мм.

Із даними групами сировини проводили дослідження вивчення впливу ступеня подрібнення листя конвалії на процес вилучення екстрактивних речовин спиртом етиловим 70%. Для порівняння також використовували неподрібнену лікарську сировину. Екстрагування усіх серій лабораторних зразків проводилось при аналогічних умовах (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Фракційний склад подрібненої сировини листя конвалії.

Діаметр сировини, мм	**Вміст в настоянці конвалії**	
	Дубильні речовини,%	**Сума глікозидів, %**
Неподрібнена сировина	8,61±0,02	4,73±0,01
1–1,5	8,62±0,01	4,73±0,02
5–7	8,68±0,01	4,63±0,02
10	8,54±0,03	4.74±0,02

Отримані дані свідчать про незначний вплив ступеня подрібнення для даної сировини на процес екстракції діючих речовин. До того ж, висушене листя конвалії достатньо ламке і самовільно подрібнюється при завантаженні. Тому в подальших

наших дослідженнях сировину ми не подрібнювали. Керуючись даними проведених досліджень, доцільним вважаємо рекомендувати для виробництва настоянки використання не подрібненої сировини висушеного листя конвалії.

Критерієм вибору є показник вмісту діючих і екстрактивних речовин у вологій лікарській рослинній сировині. Дуже важливе значення для екстрагування має також ступінь подрібнення ЛРС. Із сировини, клітинна структура якої зруйнована більше природні сполуки будуть екстрагуватися швидше.

Нами було досліджено зразки настоянок з різними співвідношеннями волога рослинна сировина – екстрагент (1:10, 1:20, 1:30) (табл. 3.4). Для цього, в лабораторних умовах, використовували листя конвалії звичайної подрібнене та неподрібнене (5 г) і настоювали протягом 3 год. в 50 мл 70 % етанолу при кімнатній температурі. Потім колбу сполучали зі зворотним холодильником, нагрівали до кипіння і підтримували слабке кипіння рідини протягом 2 год. Колбу закривали скляною пробкою, зважували і залишали у спокої на 2 год. Після охолодження колбу знову закривали тією ж пробкою, зважували і втрату в масі поповнювали 70 % спиртом. Рідину старанно збовтували і фільтрували крізь сухий паперовий фільтр у суху колбу. 25 мл фільтрату піпеткою переносили у попередньо доведену до сталої маси, точно зважену фарфорову чашку діаметром 7 – 9 см і випаровували на водяній бані досуха. Чашку із залишком сушили у сушильній шафі при 100 – 105 °С 3 год., потім охолоджували 30 хв. в ексикаторі, на дні якого знаходився кальцію хлорид і швидко зважували.

Вміст екстрактивних речовин у відсотках (Х) у перерахунку на абсолютно суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{m_1 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100\text{-}W)} = \frac{m_1 \cdot 200 \cdot 100}{m \cdot (100\text{-}W)}$$

де m_1 – маса сухого залишку, г;

m – маса сировини, г;

W – вологість сировини, %.

НУБіП України

Таблиця 3.4

Порівняння вмісту екстрактивних речовин у настоях листя конвалії звичайної подрібненої та неподрібненої шляхом розведення концентратів

Концентрація настоїв	Вміст екстрактивних речовин у %		
	листя конвалії звичайної подрібнене	листя конвалії звичайної неподрібнене	у % подрібнене / неподрібнене
1: 10	1,308	1,099	84,0
1: 20	0,326	0,261	80,0
1: 30	0,287	0,226	78,7

Отримані результати дозволяють говорити, що процес дрібно дисперсійного подрібнення вологого листя конвалії прискорює процес дифузії екстрактивних речовин з сирої лікарської сировини від 16 до 22 % та підвищує стабільність отриманих субстанцій і дозволяє збільшити їх вихід.

3.4 Отримання соку з конвалії звичайної

На сьогоднішній день в більшості країн світу зберігається тенденція розширення виробництва препаратів зі свіжої лікарської рослинної сировини, особливістю яких є вміст комплексу БАР в незмінному стані.

Соки (лат. *succus* – сік) – одна з найбільш повноцінних і ефективних профілактичних та лікувальних рідких пероральних лікарських форм, до складу якої входять натуральні соки з додаванням або без додавання лікарських речовин. Порівняно з водою рослинні соки у 2 і більше разів в'язкіші; їх реакція переважно слабокисла. В рослинних клітинах соки утворюються із вживаних, синтезованих, перероблених цитоплазмою мінеральних та органічних сполук, розчинених у живій органічній воді, що збігається зі структурою атомів і молекул. Їх розрізняють за кількома показниками: біологічною активністю, властивостями та призначенням;

НУБіП України

складом; технологією виробництва; агрегативним станом та консистенцією: рідкі, згущені, тверді; смаком [7, 37, 38, 5].

Соки займають значну частину асортименту лікарської групи препаратів і, залежно від технології виробництва, підрозділяються залежно від використовуваної сировини – лікарських рослин. Соки є найбільш фізіологічно повноцінною формою, в якій зберігається максимальна кількість нестійких, але необхідних організму фізіологічно активних речовин в їх натуральному або малозміненому вигляді. Соки входять до складу лікувально-профілактичних препаратів. Промисловістю випускаються соки з наступних видів рослин: беладони (Сукрадбел), наперстянки (Суккуділер), фейхоа (Сукфейсел), подорожника, алое, каланхое, валеріани, дурману, хвоща польового, чистотілу, водяного перцю, чемериці, мати-й-мачухи, кропиви та ін., а також рослин родини конвалієвих.

Технологія отримання соків з лікарської рослинної сировини полягає в наступному. Свіжу рослинну сировину двічі пропускають через машини-вовчки або через вальці. Подрібнену мезгу загортають у полотняні серветки, які поміщають у циліндр преса по 5–6 штук, накладаючи одну на одну й прокладаючи між ними перфоровані сітчасті пластинки з нержавіючої сталі, і потім пресують для одержання соку. До кожних 85 частин вичавленого соку додають по масі 15 частин 95 % спирту етилового, у якому розчинений хлоретон (0,3 % від загальної маси рідини). Для швидкого нагрівання суміш поміщають у воду, попередньо нагріту до температури 80–85 °С, на 30 хвилин, а потім швидко охолоджують у проточній воді. Така зміна температур сприяє інактивації ферментів і коагуляції білкових речовин. Осади, що випали, відокремлюють центрифугуванням. Одержують чистий, прозорий сік. Як консервант застосовують хлорбутанолгідрат або спирт етиловий. Для повнішого виділення соку також можна використати вальцьовий електроплазмолізатор, що збільшує вихід соку на 10–25 %.

Нами проведений розрахунок кількості отриманого соку типу “Суккуділер” з конвалії звичайної.

Загальний об’єм готового продукту (С2) = 200 л.

Розхідний коефіцієнт (Кроз) = 1,036.

НУБіП України

К роз = С1 / С2

С1 = С2 * К роз

Загальний об’єм вихідної сировини (С1) = 200 * 1,036 = 207,2 л.

С5 = С1 – С2

Виробничі втрати (С5) = 207,2 – 200 = 7,2 л.

η = (С2 / С1) * 100 %

Вихід продукту (η) = (200 / 207,2) * 100 = 96,53 %

ξ = (С5 / С1) * 100 %

Втрати сировини (ξ) = (7,2 / 207,2) * 100 = 3,47 %

С1 = 207,2 л. С2 = 200 л. С5 = 7,2 л.

η = 96,53 % ; ξ = 3,47 %

К роз = 1,036

Робочий пропис.

Проводимо розрахунки до робочого пропису:

Конвалія звичайна:

80 г – 100 мл.

Х г – 207,2 л.

Х = 207,2 * 80 / 100 = 165,76 кг.

Спирт етиловий:

22 мл – 100 мл.

Х мл – 207,2 л.

Х = 207,2 * 22 / 100 = 45,58 л.

Робочий пропис:

Листя конвалії звичайної – 165,76 кг

Спирт етиловий – 45,58 л

Загалом – 207,2 л

НУБіП України

Таблиця 3.5

Розрахунок виходу соку з листя конвалії звичайної.

Речовина	Взято	Отримано
Конвалія звичайна	Сировина – 165,76 кг	Продукція – 160 кг Втрати – 5,76 кг
	Разом – 165,76 кг	Разом – 165,76 кг
Спирт	Сировина – 45,58 л	Продукція – 44 л Втрати – 1,58 л
	Разом – 45,58 л	Разом – 45,58 л
Сік	**Всього** – 207,2 л	**Всього** – 204 л

Таким чином, виділенням біологічно активних речовин (БАР) з рослинних тканин для найрізноманітніших своїх потреб, або, іншими словами – екстракція – це конкретний технологічний ланцюг котрий передбачає холодне або гаряче пресування; водно-паровий, водно-спиртовий або олійний різновиди екстракції, а також витягання БАР за допомогою різних органічних розчинників. Лікувальна дія екстракційних препаратів зумовлена не якоюсь одною діючою речовиною, а всім комплексом біологічно активних речовин, що знаходяться в них, які підсилюють, послаблюють або видозмінюють дію основних речовин.

3.5 Препарати на основі серцевих глікозидів

Корглікон (Corglyconum) – препарат, який містить суму глікозидів з листя і трави конвалії травневої (Convallaria majlis L.) і її географічних різновидів – закавказької (C. transcaucasica Utr.) і далекосхідної кейскеї (C. keiskei Migu.) [39, 40, 52].

Траву конвалії (біологічна активність не менше 120 ЖОД) екстрагують 80 % етанолом у батареї з чотирьох екстракторів методом протитечії. У перший екстрактор завантажують 45 кг трави, 3,0 кг кальцію карбонату, 0,3 кг кальцію оксиду, заливають 250 л 80 % етанолу. Через 8–10 год витяжку із першого екстрактора витісняють у другий подачею в нього свіжого екстрагента.

Після заповнення всіх екстракторів і по закінченні в останньому заданого часу настоювання з нього збирають екстракт із швидкістю 20 л/год. Його подають у

вакуум-випарний апарат і повністю відганяють етанол при температурі 50–60 °С і вакуумі 87–93 кПа. До кубового залишку додають розчин 10 г галунів алюмокалієвих у 50 мл води очищеної і відстоюють 3–5 год. Відстояний розчин відокремлюють від смол фільтруванням крізь марлю. Смолу промивають розчином натрію хлориду (0,3 кг на 20 л води) до повного витягання з неї глікозидів.

Водний розчин глікозидів фільтрують на нутч-фільтрі крізь шар бязі і два шари фільтрувального паперу і передають на адсорбційну колонку з нержавіючої сталі, висотою 75 см, діаметром 30 см, заповнену 18 кг алюмінію оксиду II групи активності. Через колонку послідовно пропускають розчин глікозидів, промивні води і 40 л знесоленої води. При цьому водний розчин глікозидів повністю очищають від дубильних речовин. Р-н, пропущений через колонку, повинен мати pH = 6,0...7,0; якщо pH нижче 6,0, розчин нейтралізують натрію гідрокарбонатом.

Глікозиди з водного розчину переводять в органічний розчинник, повторно обробляючи його хлороформом до знебарвлення органічного розчинника, а потім сумішшю хлороформ–етанол (3:1) при додаванні амонію сульфату до повного витягання глікозидів. Хлороформно-етанольну витяжку зневоднюють висушеним натрієм сульфатом і упарюють при температурі 70–80 °С.

До кубового залишку в кількості 6 л додають 0,5 кг висушеного натрію сульфату і 0,1 кг вугілля активованого, залишають на 2 год і фільтрують крізь фільтрувальний папір. Очищений кубовий залишок упарюють при температурі 80–90 °С і вакуумі 88–93 кПа. Сухий залишок розчиняють у 3 л очищеної води, фільтрують і подають на колонку, заповнену 3 кг алюмінію оксиду I–II групи активності. Колонку промивають очищеною водою. З очищеного водного розчину глікозиди витягають хлороформ-етанольною сумішшю (4:1). Витяжку зневоднюють висушеним натрію сульфатом і згущують при вакуумі 80–87 кПа до 1 л кубового залишку. До нього доливають етер етиловий, швидко перемішують і етер зливають. Залишок розчиняють у 1,3 кг ацетону, додають 0,1 кг вугілля активованого і фільтрують. Фільтрат упарюють до консистенції екстракту густого. Екстракт розтирають із безводним етиловим етером, етер зливають і операцію повторюють 5–7 разів до одержання тонкого аморфного порошку, який розтирають до повного видалення

етеру і сушать на повітрі. Вихід корглікону 100 г, активність 19 000–27 000 ЖОД у 1 г. Зберігають у прохолодному, захищеному від світла місці.

НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України

РОЗДІЛ 4
ОХОРОНА ПРАЦІ

4.1 Небезпечні та шкідливі виробничі фактори в лабораторії молекулярно-генетичних досліджень

Під час роботи в лабораторії молекулярно-генетичних досліджень на працівника впливають, згідно ГОСТ 12.0.003-74, небезпечні та шкідливі виробничі фактори, які розділяють на: фізичні, хімічні, психофізіологічні та біологічні [35].

Біологічні небезпечні та шкідливі виробничі чинники. Біологічні чинники виробничого середовища – це сукупність факторів, біологічних речовин та об'єктів, що притаманні певним видам виробничої діяльності і які можуть здійснювати негативний вплив на робітника. Шкідливі біологічні чинники можуть або супроводжувати весь процес виробництва, або виникати у формі результатів діяльності (викиди, токсичні відходи тощо). Керівник підприємства, діяльність якого пов'язана зі шкідливим впливом біологічних факторів, повинен розробити і впровадити комплекс заходів для захисту робітників, які працюють в небезпечних умовах. Тривалість дії небезпечного біологічного фактору становить від 2 до 5 годин на день.

Підвищений рівень електромагнітного випромінювання. Джерелом підвищеного рівня електромагнітного випромінювання є персональний комп'ютер, холодильник для зберігання зразків та електроплитка [42]. Для обробки отриманих дослідних даних використовується ПК, який є джерелом електромагнітного випромінювання.

Сучасні ПК оснащені захисними екранами, які зменшують навантаження на користувача. Але додатковим джерелом електромагнітного випромінювання є задня стінка ПК при його роботі за умови відсутності захисної стінки. Обробка отриманих даних передбачає роботу на ПК протягом 3-4 годин, що може викликати зміни у функціонуванні ендокринної, серцево-судинної та нервової систем [26, 35].

Вплив хімічних речовин, які використовуються при роботі в лабораторії. Хімічні речовини здатні проникати в організм людини через органи дихання,

шлунково-кишковий тракт та шкіряний покрив. Найбільш вірогідним є проникнення хімічних речовин у газоподібному вигляді через органи дихання [32, 42].

Хімічні небезпечні та шкідливі виробничі фактори характеризуються токсичною (гідроксиди калію та натрію, аміак, сірчана, соляна, азотна, оцтова, етиловий спирт, солі калію та магнію, біхромати, неорганічні сполуки фосфору, ароматичні вуглеводні, розчинники, перекис водню, тощо), подразнюючою (дезінфікуючі та мийні засоби, хлор, фтор і азотомісткі сполуки, аміак, вапняк), канцерогенною (ароматичні вуглеводні, біхромати) та алергенною (антибіотики, вапняк, біхромати) діями [35].

При роботі зі зразками у повітря робочої зони виділяються такі небезпечні хімічні сполуки як вуглеводневі ароматичні сполуки, оксиди сірки та азоту [35]. Окрім цього робота з зразками крові тварин вимагає застосування дезінфікуючих та миючих засобів, які подразнюють шкіру, органи зору та нюху. Для фарбування зразків використовуються барвники органічного походження, які у більшості випадків мають канцерогенну дію [19]. При виконанні робіт з дослідження зразків виникає тісний контакт з небезпечними хімічними речовинами [42].

Дані хімічні небезпечні та шкідливі виробничі фактори діють у концентраціях, що перевищують або дорівнюють гранично допустимим концентраціям шкідливих речовин у повітрі робочої зони, протягом 4 годин.

Фізичні та нервово-психічні перевантаження: зоровий дискомфорт внаслідок тривалої роботи за комп'ютером [26] та з лабораторними приладами (мікропіпетки, мікроскоп), яка потребує підвищеного зосередження, в умовах недостатньої освітленості робочої зони [23].

Перенапруга акомодуючих м'язів очей виникає внаслідок недостатньої освітленості робочої зони, тривалою роботи з мікроскопом, комп'ютером, яка триває близько 4 годин.

4.2 Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних або шкідливих виробничих факторів в лабораторії молекулярно-генетичних досліджень

НУБіП України

Охорона праці це система правових, соціально-економічних, організаційно-технічних, гігієнічних або лікувально-профілактичних заходів і засобів, спрямованих на збереження здоров'я і працездатності людини в процесі праці. Охорона праці спрямована на створення безпечних і здорових умов праці для працівників. Таким чином, безпечні і здорові умови праці - це такі умови, при яких виключений вплив на працюючих небезпечного і шкідливого виробничого факторів.

Проводячи біотехнологічні лабораторні дослідження важливо не тільки знати вимоги з техніки безпеки, але й розуміти їх суть, вміти застосовувати їх в нестандартних умовах і оцінювати можливі наслідки будь-якої дії. Одним із основних критеріїв при визначенні професійної кваліфікації будь-якого спеціаліста є його вміння працювати без травм і аварій. Свідоме виконання кожним співробітником лабораторії правил техніки безпеки є основою безпечної роботи [35].

Забороняється залишати після закінчення роботи на відкритих місцях незафіксовані мазки, об'єкти з посівами та інші об'єкти, які вміщують біологічний матеріал. Всі матеріали, зразки та культури повинні бути знезаражені перед видаленням з лабораторії [20, 31].

Столи, на яких проводиться робота, повинні протиратися дезинфікуючим розчином. Роботу з зразками та досліджуваним матеріалом проводять, дотримуючись заходів особистої безпеки, забезпечуючи чистоту посіву та запобігаючи розсіюванню мікроорганізмів у навколишньому середовищі. Маніпулювати заразним матеріалом необхідно над кюветою. Робочі піпетки повинні використовуватися лише з сифоном або грушею для уникнення контакту працівника зі зразком. Використані піпетки та предметні і накривні скельця для мікроскопічного дослідження необхідно класти в банку з 5% розчином хлораміну, карболової кислоти або лізолу, а потім разом із використаним посудом та інструментом знешкоджувати кип'ятінням.

Термостати і термостатні кімнати дезінфікують не рідше одного разу на місяць. При зберіганні в холодильниках матеріалу необхідно вживати заходи для попередження його забруднення. Розморожування холодильника, об'єднують з його дезінфекцією. Всі контейнери, що зберігаються в холодильнику, повинні мати етикетки із зазначенням матеріалу, що зберігається.

НУБіП України

Для забезпечення індивідуального захисту працівника при роботі в лабораторії використовується медичний халат. Зміна робочого одягу проводиться в міру забруднення, але не рідше одного разу на тиждень. Окрім цього, всі роботи по відбору зразків та проведенні мікроскопічного дослідження ловинні проводитися у гумових рукавичках.

Після закінчення роботи необхідно прибрати робоче місце, стіл та інші робочі поверхні продезінфікувати, винести відпрацьований матеріал і предмети, провести вологе прибирання боксу, після чого підлогу, стіни й меблі протерти дезрозчином.

Для профілактики несприятливого впливу електромагнітного випромінювання комп'ютера на користувача необхідно [15, 31]:

- встановити на робочому місці монітор, що відповідає сучасним вимогам стосовно захисту від випромінювання;

- вимикати екран, якщо на ньому не працюють, але знаходяться неподалік;

- застосовувати приекранні фільтри, локальні світлофільтри (засоби індивідуального захисту очей) та інші засоби захисту, що пройшли випробування в акредитованих лабораторіях і мають щорічний гігієнічний сертифікат.

Екран ПК має розташовуватися на оптимальній відстані від очей користувача, що становить 600…700 мм, але не ближче ніж за 600 мм з урахуванням розміру літерно-цифрових знаків і символів.

Розташування екрана ПК має забезпечувати зручність зорового спостереження у вертикальній площині під кутом +30° до нормальної лінії погляду працюючого.

Клавіатуру слід розташовувати на поверхні столу на відстані 100…300 мм від краю, звернутого до працюючого. У конструкції клавіатури має передбачатися опорний пристрій, який дає змогу змінювати кут нахилу поверхні клавіатури в межах 5… 15°.

При роботі з персональним комп'ютером дуже важливу роль грає дотримання правильного режиму праці і відпочинку.

Для захисту від шкідливої дії хімічних речовин при роботі необхідно дотримуватися правил охорони праці [35]. Ефективним захистом людини від шкідливих домішок та речовин у повітрі є раціональна вентиляція. Основою

проведення заходів щодо боротьби зі шкідливими речовинами є гігієнічне нормування. Гранично допустимі концентрації (ГДК) шкідливих речовин у повітрі робочої зони встановлюються ГОСТ 12.1.005-88. Зниження рівня впливу шкідливих речовин та його повне усунення здійснюється шляхом проведення технологічних (герметизація обладнання), санітарно-технічних (витяжна вентиляція), лікувально-профілактичних заходів та застосуванням засобів індивідуального захисту.

Перед початком робіт необхідно проводити інструктаж на робочому місці з виконавцями робіт. Всі робочі місця повинні бути забезпечені необхідною кількістю води та нейтралізуючих речовин.

Так як хімічні речовини при попаданні на тіло можуть викликати хімічні опіки, а проникнення в організм людини через легені, шкіру і рот – отруєння, глибоку токсикацію, то операції з концентрованими кислотами, лугами та іншими небезпечними речовинами слід проводити з використанням засобів індивідуального захисту (кислотостійкі рукавиці, окуляри та фартух) у витяжній шафі при працюючій загальнообмінній вентиляції [15, 41].

При нагріванні рідини у пробірці необхідно спрямовувати її у бік від себе та осіб, які находяться поруч. При зберіганні розчину у колбах і пробірках треба закривати їх тільки пробками.

При переливанні рідин користуються лійкою. Відбір кислот, лугів та інших агресивних рідин з великих ємностей слід проводити за допомогою скляних сифонів з грушею або інших приладів для їх перекачування, забороняється набирати концентровані кислоти і луги в піпетки ротом.

Бутлі з кислотами, лугами й іншими їдкими речовинами переносять удвох у спеціальних ящиках або перевозять на спеціальному візку, попередньо перевіривши цілісність тари. Зливають відпрацьовані ефір, бензол та інші горючі рідини, відходи кислот і луги тільки у спеціальну тару.

При митті посуду хромовою сумішшю та використанні дезінфікуючих засобів необхідно запобігати їхньому попаданню на шкіру, одяг, взуття.

Для профілактики захворювання очей у першу чергу необхідно звернути увагу на дотримання режимів праці та відпочинку, на правильне розміщення ПК та

монітору зокрема, на використання моніторів з покращеними характеристиками і на забезпечення раціонального освітлення робочого місця.

НУБіП України

4.2.1 Розрахунок освітлення робочої зони

Раціональне освітлення робочого місця є одним з найважливіших факторів, що впливає на ефективність трудової діяльності людини [15]. Правильно організоване освітлення створює сприятливі умови праці, підвищує працездатність. Освітлення в лабораторії повинне бути таким, щоб працівник міг без напруження зору виконувати свої обов'язки. Недостатня освітленість призводить до напруження зору, послаблює увагу, призводить до настання попередньої втомлюваності. Надмірне яскраве освітлення викликає осліплення, подразнення очей. Неправильне направлення світла на робочому місці може створювати різкі тіні, бліки, дезорієнтувати працівника.

Штучне освітлення виконується за допомогою електричних джерел світла двох видів: люмінісцентних ламп та розжарювання. Люмінісцентні лампи мають ряд переваг [15, 41], тому для освітлення робочої зони використовуються частіше.

Розрахунок освітлення робочого місця зводиться до розрахунку системи освітлення, визначення необхідної кількості світильників, їхнього типу та розміщення. Розрахунок освітлення здійснюється для приміщення лабораторії площею 36 м^2, ширина якого 4,9 м, висота – 4,2 м.

Для розрахуку використовуємо метод світлового потоку.

Для визначення кількості світильників визначимо світловий потік, який падає на поверхню, за формулою:

$$F = \frac{E \cdot K \cdot S \cdot Z}{\eta}, \quad (4.1)$$

де: F – розрахований світловий потік, лм;

E – нормована мінімальна освітленість, лк (визначається з таблиці). Роботу мікробіолога, відповідно до таблиці, можна віднести до розряду точних робіт, отже мінімальна освітленість буде E = 300 лк при газорозрядних лампах:

S – площа освітленого приміщення (S = 36 м^2);

Z – відношення середньої освітленості до мінімальної (зазвичай приймається рівним 1,1-1,2, нехай Z = 1,1);

K – коефіцієнт запасу, який враховує зменшення світлового потоку лампи внаслідок забруднення світильників в процесі експлуатації (його значення визначаємо за таблицею коефіцієнтів запасу для різних приміщень, в нашому випадку приміщення чисте, концентрація пилу до 5 мг/м^3, отже K = 1,5);

η – коефіцієнт використання (виражається відношенням світлового потоку, який падає на розраховану поверхню, до сумарного потоку усіх ламп і обраховується в частинах одиниці; залежить від характеристик світильника, розмірів приміщення, кольору стін і стелі, які характеризуються коефіцієнтами відбиття від стін (ρ_c), стелі ($\rho_{ст}$) та робочої поверхні ($\rho_{р.п.}$)), значення коефіцієнтів ρ_c, $\rho_{ст}$ і $\rho_{р.п.}$ визначаємо за таблицею залежностей коефіцієнтів відбиття від характеру поверхні: ρ_c = 30%, $\rho_{ст}$ = 50%, $\rho_{р.п.}$ = 10%. Значення η визначаємо за таблицею коефіцієнтів використання різних світильників. Для цього визначимо індекс приміщення за формулою:

$$i = \frac{S}{h \cdot (A + B)}, \quad (4.2)$$

де, S – площа приміщення, S = 36 м^2;

h – розрахункова висота підвісу, h = 3,39 м;

A – ширина приміщення, A = 4,9 м;

B – довжина приміщення, B = 7,35 м.

Підставивши значення у формулу 5.2 отримаємо:

$$i = \frac{3,6}{3,39 \cdot (4,9 + 7,35)} = 0,8.$$

Знаючи індекс приміщення i, ρ_c, $\rho_{ст}$ і $\rho_{р.п.}$ за таблицею знаходимо η = 0,23.

Підставимо всі значення у формулу 5.1 для визначення світлового потоку F:

$$F = \frac{300 \cdot 1,5 \cdot 36 \cdot 1,1}{0,23} = 77478,26 \text{, лм}$$

Для освітлення використовуємо люмінісцентні лампи типу ЛБ40-4, світловий потік яких F = 3000 лм.

Розраховуємо необхідну кількість ламп за формулою:

$$n = \frac{F}{F_Л}, \quad (4.3)$$

де n – необхідна кількість ламп;

F – світловий потік, F = 77478,26 лм;

$F_Л$ – світловий потік лампи, $F_Л$ = 3000 лм.

Підставивши значення у формулу 5.3 отримаємо:

$$n = \frac{77478,26}{3000} = 26, \text{шт.}$$

Отже, необхідна кількість люмінесцентних ламп для освітлення приміщення лабораторії становить 26 штук.

4.3 Забезпечення пожежної та вибухової безпеки в лабораторії молекулярно-генетичних досліджень

Причинами пожежі у лабораторії можуть стати [15, 16, 20, 55]:

- необережне поводження з вогнем;

- незадовільний стан електротехнічних пристроїв та порушення правил їх монтажу та експлуатації;

- самозапалювання і самозаймання речовин і матеріалів при неправильному їхньому зберіганні чи застосуванні;

- невиконання вимог нормативних документів з питань пожежної безпеки.

Вважається, що несправні електроустановки є причинами більшої частини пожеж, що виникають у лабораторіях.

Несправності в електромережах і електроапаратурі, які можуть привести до іскрінь, коротких замикань, наддопустимого нагріву гарячої ізоляції кабелів і проводів, повинні «негайно усуватися черговим персоналом», а несправну мережу необхідно відключати. Світильники аварійного освітлення необхідно підключати до незалежного джерела електроживлення.

Забезпечення пожежної безпеки підприємств покладається на їх керівників і уповноважених посадових осіб, відповідальних за пожежну безпеку будівель, споруд,

приміщень, дільниць тощо, технологічного та інженерного устаткування, утримання і експлуатацію технічних засобів протипожежного захисту. Обов'язки щодо забезпечення пожежної безпеки, утримання та експлуатації засобів протипожежного захисту повинні бути відображені у відповідних посадових документах (функціональних обов'язках, інструкціях, положеннях тощо).

Технологічне устаткування за нормальних режимів роботи повинно бути пожежобезпечним. На випадок небезпечних несправностей і аварій необхідно передбачити заходи, що обмежують масштаб та наслідки пожежі.

Приміщення лабораторій повинні бути забезпечені автоматичною пожежною сигналізацією, вогнегасниками, які розташовують у добре доступних місцях. Бокс та приміщення, в яких розміщені сушильно – стерилізаційні шафи і термостати, забезпечують вогнегасником та азбестовою або вовняною ковдрою. Забороняється розміщувати на сушильно–стерилізаційних шафах і термостатах та біля них сторонні предмети, вибухонебезпечні, легкозаймисті, горючі, токсичні та агресивні речовини. Підходи до засобів пожежогасіння повинні бути вільними.

Для попередження виникнення пожежі забороняється [15, 16, 20, 41]:

- використовувати відкритий вогонь, палити в лабораторії, окрім спеціально відведених місць, класти недопалки на підлогу і інші місця приміщень;

- залишати та зберігати папір, вату, марлю, спирт та інші легкозаймисті речовини та матеріали на шафах та поза ними, на радіаторах центрального опалення, поблизу палаючих пальників, електричних проводів і приладів;

- зберігати легкозаймисті, вибухові та вогненебезпечні речовини (бензин, ефір тощо) без дотримання правил безпеки;

- нагрівати легкозаймисті речовини на відкритому вогні, електроплитах тощо;

- залишати без нагляду включені електроприлади, електричне освітлення, запалені газові пальники;

- користуватися електроплитами, та іншими електронагрівальними приладами там, де не передбачено технологічними процесами;

- прибирати випадково пролиті легкозаймисті речовини при запалених пальниках і включених електроприладах;

НУБіП України

- порушувати електропроводку, заставляти шафами, завішувати плакатами, картинами, газетами електропроводи, електровимикачі, розетки;

- захаращувати переходи, виходи, сходи і доступи до протипожежних засобів шафами, столами та іншими предметами;

- користуватися саморобними, несправними або з відкритою спіраллю електронагрівальними приладами;

- порушувати стан електропроводки, тобто: подовжувати проводку, вставляти саморобні запобіжники, обгортати і заклеювати електроламни та електропровід папером та тканиною, підвішувати на проводах будь-які предмети, закручувати або зав`язувати електропровід вузлом тощо.

З працівниками лабораторії проводяться планові інструктажі з протипожежної безпеки. Проводяться планові ремонтні та профілактичні заходи щодо ремонтів та оглядів електроустановок, опалювального, вентиляційного, технологічного та іншого обладнання. У приміщенні лабораторії наявні інструкції з пожежної безпеки, плани евакуації на випадок пожежі, встановлено систему сповіщення людей на випадок пожежі. В лабораторії наявні первинні засоби пожежогасіння: вогнегасники, пожежний інвентар та засобами зв’язку.

НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України

РОЗДІЛ 5
ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

5.1 Виробництво лікарських засобів

При виробництві стерильної продукції пред'являються особливі вимоги, щоб звести до мінімуму ризик контамінації мікроорганізмами, частками і пірогенними речовинами. Це багато в чому залежить від кваліфікації, навчання і виробничої дисципліни працюючого персоналу. Особливо важливе значення має забезпечення якості; при цьому типі виробництва необхідно ретельно додержуватися організованих і тих, що пройшли валідацію способів готування і методики. Ніяка кінцева стадія процесу або іспит готової продукції не можуть розглядатися як єдиний фактор, що засвідчує стерильність або інші сторони якості.

Для створення оптимальних умов, що забезпечують випуск високоякісних лікарських форм, в останні роки розроблені вимоги до виробництва стерильної продукції, що викладені в GMP ВІЗ "Sterile pharmaceutical products" (1992), GMP Європейського Співтовариства (ЄС) "Manufacture of sterile medicinal products" (1997), МВ 64У-1-97 «Виробництво лікарських засобів. Належні правила і контроль якості», ГНД 01.001.98 GMP "Належна виробнича практика GMP" (1998), "Належна виробнича практика лікарських засобів» (1999), "Належна виробнича практика лікарських засобів» (2001). Однією з умов виробництва якісної стерильної продукції і торгівлі нею на вітчизняному і закордонних фармацевтичних ринках є: забезпечення якості препаратів за рахунок виконання, у першу чергу, принципів і правил належної виробничої практики (GMP - Good manufacturing practice).

Належна виробнича практика (НВП) - це частина системи забезпечення якості, що гарантує, що продукція виробляється і контролюється по стандартах якості, які вимагаються торгівельною ліцензією і відповідає її призначенню [14, 20, 35].

Для забезпечення показників якості продукції повинні виконуватися спеціальні вимоги, які пред'являються до проведення технологічного процесу, чистоти виробничих приміщень, роботи технологічного устаткування, вентиляції і чистоти

повітря, систем підготовки основної сировини і допоміжних матеріалів з метою звести до мінімуму ризик контамінації мікроорганізмами і пірогенними речовинами. Пред'являються визначені вимоги до персоналу і виробничої санітарії.

Дотримання цих правил залежить, у першу чергу, від належної кваліфікації, освіти, рівня практичного досвіду і виробничої дисципліни всього персоналу [35].

НУБіП України

5.2 Відходи фармацевтичної галузі

Реалізація сучасної екологічної політики, відповідно до якої охорона навколишнього середовища і ресурсозабезпечення розглядаються в сукупності з економічним і соціальним розвитком суспільства, вимагає проведення відповідного екологічного аналізу [35].

Практичне здійснення еколого-економічного аналізу можливе тільки при комплексному, багатоаспектному вивченні усіх факторів, які виникають на різних стадіях розширеного відтворення товарів і послуг, що безпосередньо чи побічно впливають на навколишнє середовище.

Фармацевтичне виробництво базується на широкому використанні машин, апаратів, технологічних ліній і застосуванні специфічних способів очищення сировини та утилізації відходів виробництва.

Однією з особливостей фармацевтичного виробництва є, з одного боку, необхідність захисту самого лікарського засобу від забруднення (часток пилу, мікробної контамінації тощо, а, з іншого боку, захисту персоналу і навколишнього середовища від впливу шкідливих факторів виробництва.

Фармацевтична промисловість має свою систему контролю якості лікарських препаратів і охорони навколишнього середовища при їхньому виробництві, що постійно удосконалюється з урахуванням розвитку нових технологій, GMP і вимог, які пред'являються ринком до галузевих нормативних документів [14, 34, 35].

Забезпечення виробництва високоякісних препаратів, дотримання принципів GMP вимагають екологічної обгрунтованості і зведення до мінімуму негативного впливу різного роду забруднень.

Всі технологічні процеси фармацевтичного виробництва супроводжуються утворенням великої кількості відходів у вигляді шкідливих газів та пилу, шлаків, шламів, стічних вод, що містять різні хімічні компоненти, які забруднюють атмосферу, воду та поверхню землі.

Стрімкий розвиток фармацевтичної галузі в останні роки також створює потенційну можливість та призводить до утворення й накопичення фармацевтичних відходів. За визначенням ВООЗ – це відходи, які містять медичні препарати (ліки, у яких закінчився термін придатності або які більше не потрібні, предмети, що забруднені фармацевтичними препаратами або містять їх (пляшечки, коробки тощо). Окремо виділені генотоксичні відходи, що містять речовини, які можуть виявляти шкідливу дію на генетичні структури (цитостатичні ліки, генотоксичні хімічні речовини, їх залишки та будь-який матеріал, забруднений ними).

Види відходів фармацевтичної галузі промисловості: газові відходи; рідкі відходи; тверді відходи;

Газові відходи. Однією з особливостей атмосфери є її здатність до самоочищення. Самоочищення атмосферного повітря відбувається внаслідок сухого та мокрого випадання домішок, абсорбції їх земною поверхнею, поглинання рослинами, переробки бактеріями, мікроорганізмами та іншими шляхами. Садіння дерев та кущів сприяє очищенню повітря від пилу, оксидів вуглецю, діоксидів сірки та ін. речовин. Найкращі поглинальні властивості стосовно діоксиду сірки має тополя, липа, ясен. Одне дерево липи акумулює протягом доби десятки кілограмів діоксиду сірки, перетворюючи його в нешкідливу речовину. Велика роль в очищенні атмосферного повітря належить грунтовим бактеріям та мікроорганізмам. При температурі 15-35 °С мікроорганізми переробляють на 1 м^2 до 81 т на добу оксидів та діоксидів вуглецю. Однак можливості природи щодо самоочищення мають обмеження, що слід враховувати при розробці нормативів ГДВ.

Сучасні вимоги до якості та ступеня очищення викидів досить високі. Для їх дотримання необхідно використовувати технологічні процеси та обладнання, які знижують або повністю виключають викид шкідливих речовин в атмосферу, а також забезпечують нейтралізацію утворених шкідливих речовин; експлуатувати

виробниче та енергетичне обладнання, котре виділяє мінімальну кількість шкідливих речовин; закрити невеликі котельні та підключити споживачів до ТЕЦ; застосовувати антитоксичні присадки, перевести теплоенергетичні установки з твердого палива на газ.

Способи очищення викидів в атмосферу від шкідливих речовин можна об'єднати в такі групи:

- очищення викидів від пилу та аерозолів шкідливих речовин;
- очищення викидів від газоподібних шкідливих речовин;
- зниження забруднення атмосфери вихлопними газами від двигунів внутрішнього згоряння транспортних засобів та стаціонарних установок;

Для очищення викидів від шкідливих речовин використовуються механічні, фізичні, хімічні, фізико-хімічні та комбіновані методи.

Механічні методи базуються на використанні сил ваги (гравітації), сил інерції, відцентрових сил, принципів сепарації, дифузії, захоплювання тощо.

Фізичні методи базуються на використанні електричних та електростатичних полів, охолодження, конденсації, кристалізації, поглинання.

У хімічних методах використовуються реакції окислення, нейтралізації, відновлення, каталізації, термоокислення [10, 14, 35].

Фізико-хімічні методи базуються на принципах сорбції (абсорбції, адсорбції, хемосорбції), коагуляції та флотації.

Рідкі відходи. Організаційні заходи зводяться до попередження скидання стічних вод у водойми без їх очищення. Технічні заходи передбачають очищення стічних вод різними методами, повторне використання стічних вод для технічних потреб та поливу, створення оборотних та замкнених систем водокористування, вдосконалення технологічних процесів на підприємствах у напрямку зменшення надходження забруднень у стоки, перехід на безвідходні технології, змешення забруднення територій нафтопродуктами, котрі зі зливовими стоками можуть потрапляти до водойм [35].

Лікарські засоби та їх активні метаболіти постійно надходять у водне середовище через оброблені та необроблені каналізаційні стоки. Для більшості

фармацевтичних препаратів, не характерна біокумулятивність та леткість. Однак, деякі з них є надзвичайно стійкими, а інші з низькою персистентністю при постійному та тривалому надходженні в навколишнє середовище можуть справляти ефекти справжніх стійких полютантів, оскільки швидкість їх трансформації й видалення зрівноважується швидкістю заміщення.

Очищення стічних вод на підприємствах може здійснюватися за однією з таких схем:

- очищення стічних вод на заводських очисних спорудах;
- очищення стічних вод після їхнього забруднення на заводських, а потім на міських очисних спорудах з подальшим спуском у водойми;
- безперервне очищення промислових вод та розчинів на локальних очисних спорудах протягом певного часу, після чого вони передаються на регенерацію, після регенерації повертаються в оборот та лише після з'ясування неможливості регенерації усереднюються і передаються на заводські очисні споруди та утилізуються.

Способи очищення забруднених промислових вод можна об'єднати в такі групи: механічні, фізичні, фізико-механічні, хімічні, фізико-хімічні, біологічні, термічні.

Механічні методи очищення застосовуються для очищення води від грубодисперсних домішок (ГДД) за допомогою спеціальних апаратів (ґрат, пісколовок, фільтрів, відстійників, гідроциклонів, центрифуг). З метою поліпшення процесів очищення брудних виробничих стічних вод від ГДД у воду додаються речовини, що сприяють утворенню осадів. Такими сполуками є коагулянти. Подібний ефект може бути досягнутий за допомогою впливу на воду електричних чи магнітних полів.

Хімічні методи очищення стічних вод полягають у зміні первісної форми сполук унаслідок реакцій окиснювання і відновлення, нейтралізації, конденсації. До них належать методи озонування, хлорування, гідрування. Самостійне застосування хімічного методу часто не дає повного очищення стічних вод від

органічних і неорганічних продуктів. Тому він застосовується у комбінації з фізико-хімічними і біотехнологічними методами очищення.

Фізико-хімічні методи очищення базуються на зміні фізичного стану забруднювачів і включають флотаційні, екстракційні, електрохімічні, сорбційні методи. Як результат, одержують нетоксичні чи менш токсичні сполуки. Розчинні у воді сполуки перетворюються у нерозчинні і легко відокремлюються, кислі й лужні стоки нейтралізуються. Ці методи застосовуються разом із біотехнологічними і термічними методами знешкодження стічних вод. Методи фізико-хімічного очищення потребують використання дорогих реагентів, але завдяки ефективності вони широко застосовуються у виробництві.

Термічні методи очищення полягають у повному окисненні при високій температурі забруднюючих речовин з одержанням нетоксичних продуктів і твердого осаду. Можливі різні варіанти застосування термічного методу, починаючи від повного знищення стоків з невеликою кількістю твердого осаду і до значного зменшення (випарення) їх, після чого концентровані розчини можна або поховати у відвалах, або використовувати для одержання цінних продуктів.

Біотехнологічні способи очищення одержали поширення в тих галузях промисловості, де у стічних водах. міститься значна кількість різних забруднень у невеликих концентраціях. Головною діючою основою біотехнологічного очищення є мікроорганізми, що використовують як поживні речовини і джерела енергії, органічні та неорганічні сполуки, що містяться у стічних водах. Мікроорганізми руйнують їх до діоксиду вуглецю і води й утворюють у процесі мінералізації солі азотистої та азотної кислот.

Виробничі фармацевтичні віддоди – це відходи, що утворюються в процесі виробництва лікарських засобів. Для забезпечення зменшення відходів фармацевтичних підприємств, повинен міститись підрозділ, який займається розподілом відходів, створення відповідних матеріальних, фінансових і інформаційних потоків, які рухаються у зворотному напрямку у порівнянні зі звичайним; призводить до скорочення джерел відходів, переробку, спалювання відходів і отримання енергії, захоронення відходів.

НУБіП України

Лікарські засоби, що не підлягають подальшому використанню, набувають статус «відходів» та передаються для утилізації або знешкодження до суб'єктів господарювання, які мають відповідні ліцензії на здійснення операцій у сфері поводження з небезпечними відходами безпосередньо, або через постачальників, якщо таке передбачено відповідними договірними умовами. Відходи препаратів, які широко використовують, токсичні, особливо при температурі вище 20 градусів. Вони можуть легко проникати в організм людини через легені, поступово вражаючи кровотворну, статеву та імунну системи. Єдиний на сьогодні спосіб боротьби з такими відходами, про який кажуть фахівці, – спалювати їх при температурі не нижче 1200 градусів. Найбільш перспективним вважається метод піролізу – контрольований процес розкладу органічних сполук під дією високих температур.

Багато печей, що застосовуються, характеризуються низькими екологічними показниками (викиди шкідливих речовин, утворення «брудного» шлаку, що містить залишки органічних домішок), малим робочим ресурсом і низькою інтенсивністю процесу знешкодження. Деякі фірми випускають установки з малоефективною одноступінчастої очищенням газів. Установки з більш ефективною (двоступеневої) очищенням газів (застосовується тканинний рукавний фільтр і мокрий скрубер) виробляються фірмою «Joseph Egli», Швейцарія та фірмою «Hoval», Швейцарія, Ліхтенштейн.

З метою всесторонньої гігієнічної оцінки цей метод потребує проведення комплексних досліджень щодо забруднення атмосферного повітря та повітря робочої зони, ступеню небезпеки золошлаків, що утворюються після піролізу відходів, для кожного терапевтичного класу ліків.

5.3 Рекомендації з утилізації відходів

1. Розробка та застосування найбільш екологічно безпечних та сприйнятливих у фінансовому відношенні методів знешкодження фармвідходів.

2. Метод іммобілізації/інкапсуляції застосовується для знешкодження медпрепаратів, у тому числі особливо небезпечних, але для незначної кількості.

3. Зменшення та попередження забруднення довкілля фармпрепаратами (запобігання прямому скиду неочищених стічних вод у навколишнє середовище, повторне використання оброблених стічних вод).

4. Налагодження системи організованого первинного збору неякісних ліків від населення з метою запобігання їх неконтрольованого надходження в навколишнє середовище.

5. Моніторинг об'єктів довкілля на присутність фармацевтичних препаратів.

Для зменшення надходження відходів, продуктів їх біотрансформації в навколишнє середовище та зниження їх можливого негативного впливу на довкілля та здоров'я населення вважається необхідним розроблення та впровадження системи пріоритетних заходів:

- відповідними нормативними документами заборонити скидання протермінованих та неякісних ліків у каналізаційну систему, за винятком препаратів для парентерального живлення, фізіологічного розчину, розчинів глюкози та електролітів;

- вдосконалити існуючі технології очищення стічних вод на очисних спорудах, щоб забезпечити їх очистку від ЛП, їх метаболітів, продуктів біотрансформації і хімічних сполук та розробити систему контролю наявності таких речовин в стічних водах;

- враховуючи те, що в мулі очисних споруд головним чином накопичуються хімічні речовини, які мають високі коефіцієнти поглинання, застосування мулу в якості добрива можна дозволяти тільки після певного часу витримки та проведення відповідного контролю на вміст залишків біологічно активних речовин. Теж саме стосується і перегною з тваринницьких ферм, забруднених медичними ветеринарними препаратами;

- у лікувально-профілактичних закладах з метою попередження надходження в каналізаційну систему особливо небезпечних лікарських засобів необхідно проводити попередню обробку їх залишків, забруднених шприців, внутрішньовенних систем для знешкодження їх біологічної активності;

НУБіП України

- для зменшення надходження неякісних і протермінованих ліків у навколишнє середовище з побутовими відходами налагодити систему організованого первинного збору протермінованих ліків від населення;

- один із шляхів зменшення надходження ЛП та небезпечних хімічних речовин у довкілля є також впровадження належної виробничої практики (GMP) на підприємствах фармацевтичної галузі, що вимагає підтримувати виробництво ліків на сучасному рівні при мінімізації утворення фармацевтичних відходів;

- випуск та ввезення високоякісної фармацевтичної продукції, з проведенням прогнозуванням та регулюванням кількості продукції відповідно потребам населення з урахуванням структури захворюваності, розроблення і дотримання рекомендацій щодо стабільності ЛП;

- вважається доцільним при удосконаленні української національної системи охорони здоров'я поняття "медико-екологічної безпеки", визначити як окрему важливу проблему захисту довкілля від полютантів, які з'являються внаслідок медичної діяльності, накопичення та невідповідного поводження з медичними відходами, системного, багаторічного застосування лікарських препаратів;

- розробка безвідходних технологій промислового очищення стічних вод від багатокомпонентних органічних сумішей

Існуюча ситуація потребує вдосконалення законодавства та створення системи моніторингу за цим забруднювачами, розробка та введення системи заходів щодо урегулювання та попередження їх негативного впливу на довкілля та здоров'я людей.

НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України

ВИСНОВКИ

1. Проведено аналіз технологій отримання глікозидів рослинного походження – від рослинної сировини до готового лікарського препарату. Наведено технологічні схеми отримання глікозидів з лікарських рослин – родини Конвалієвих та зроблено удосконалення у схеми їх отримання. На всіх етапах виділення потрібно враховувати їх чутливість до зміни pH середовища та температури.

2. Аналіз обладнання використаного в технологічному процесі дав можливість встановити певні закономірності: обладнання відрізняється за технологічним призначенням і залежить від методів отримання глікозидів та властивостей сировини.

3. За активністю глікозиди виділені із різних частин рослин істотно розрізняються. Препарати, отримані зі свіжих рослин, мають більшу активність, ніж препарати з висушеної сировини. Соки на настої мають більшу фітонцидну активність за рахунок дії комплексу біологічно активних речовин. Зазначені дослідження сприяють висновку про доцільність використання препаратів зі свіжих рослин.

4. Дослідження процесу екстрагування лікарської рослинної сировини показує, що діючі речовини досліджуваних рослин під час сушіння і наступного зберігання піддаються змінам. Вплив ступеня подрібнення впливає на коефіцієнти поглинання та набухання сировини, швидкість дифузії, відповідно і на швидкість та повноту екстракції діючих речовин. Висушене листя конвалії достатньо ламке і самовільно подрібнюється при завантаженні. Доцільним вважаємо рекомендувати для виробництва настоянки не подрібнену лікарську сировину.

НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

НУБіП України

1. Акопов І.Е. «Найважливіші вітчизняні лікарські рослини і їх застосування», 1990 рік.

2. Арзамасцев А.П., Печенников В.М., Родионова Г. М. и др. Анализ лекарственных смесей. - М.: Спутник, 2000. – 275с.

3. Ажгихин И.С. Технология лекарств. Москва: “Медицина” – 1980, 440 с.

4. Балтина Л.А., Кондратенко Р.М., Балтина Л.А. и др. Перспективы создания новых противовирусных препаратов на основе глицирризиновой кислоты и ее производных // Химико-фармацевтический журн. – 2009. – Т. 43, № 10. – С. 3–12

5. Барнаулов О.Л. Детоксикационная фитотерапия, или противоядные свойства лекарственных растений. — СПб., 2007;

6. Березів Т.Т., Коровкін Б.Ф. «Біологічна хімія», М.: «Медицина» 1983 рік.

7. Беликов В.Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. // Фармация. – 2002. – Т.46. – №4. – С. 51-56.

8. Берштейн І.Я., Камінський Ю.Л. Спектрофотометричний аналіз в органічній хімії. - Л.: Хімія, 1975. - 230с.

9. Вайс Р.Ф., Финтельман Ф. Фитотерапия / Пер. с нем. — М., 2004;

10. Васильева И.С., Пасешниченко В.А. Стероидные гликозиды растений и культуры клеток, их метаболизм и биологическая активность // Успехи биологической химии. – 2000. – Т. 40. – С. 153–204

11. Гарник Т.П. Сучасні технології виробництва фітозасобів та перспективи фітотерапії // Фітотеранія. Український медичний часопис. — 2008. — № 1; Туришев С.Н. Современная фитотерапия. — М., 2007;

12. Гаммерман А.Ф. Лекарственные растения: растения - целители. / А.Ф. Гаммерман, Г.Н. Кадаев, А.А. Яценко-Хмелевский. – М.: Высш.шк., 1990. – 544с.

13. Гацура У.У., Кудрон А.М, Сердечние гликозиды в комплексной фармакотерапии недостаточности сердца, М., 1983.

14. Глущенко Н.Н. и др. Фармацевтическая химия. –М.: Академия, 2004. – 384с.

15. ГОСТ 12.0.003-74. ССБТ. Опасные и вредные производственные факторы. Классификация

16. ГОСТ 12.1.004-91. ССБТ. Пожарная безопасность. Общие требования.

17. ГОСТ 12.1.010-76. ССБТ. Взрывобезопасность. Общие требования.4. ГОСТ 12.1.012-90. ССБТ. Вибрационная безопасность. Общие требования.5. Державні гігієнічні нормативи "Норми радіаційної безпеки України (НРБУ-97)".

18. Гринкевич Н.І. «Лікарські рослини», М.: «Вища школа» 1991 рік.

19. Государственная фармакопея СССР. — М.: «Медицина», 1987. — 335 с.Дроговоз С. М. Фармакологія на долонях. – Харків, 2001. – 128 с.

20. ДСН 3.3.6.039-99 Державні санітарні норми виробничої загальної та локальної вібрації.

21. Ерманова В.А. Лекарственные растения Государственной Фармакопеи. Фармакогнозия: учебник. /В.А. Ерманова, под ред. И.А. Самылиной, В.А. Северцова; ММА им. И.М. Сеченова – М.:, АНМИ, 2003.- 536 с.

22. Катаев С. Хромато-масс-спектрометрия. – М.: Медицина, 2004. – 70с.

23. Кукес В.Г., Волков Р.Ю. Тактика терапии сердечными гликозидами. / В.Г. Кукес, Р.Ю. Волков. Актуальные проблемы кардиологии. – М.: 1982, с. 89-93

24. Краснюк И.И. Технология лекарственных форм. Москва: "Академия" – 2004, 455 с.

25. Машковский М.Д., Лікарські засоби. Тринадцятий вид., Харків: Торсінг. - 1997; т. 1. - 506 стр.; т. 2. - 592 стр.

26. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 тт. – Т.2. – М.: Новая волна, 2002. – 648с.

27. Милованова Л.Н. Технология изготовления лекарственных форм. Ростов-на-Дону: "Феникс" – 2002, 447 с.

28. Муравьева Д.А. Фармакогнозия: учеб. для студ. фармац. вузов/ Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2002 – 656 с.

29. Муравьев И.А. Технология лекарств т.1,2. Москва: "Медицина" –1980, 704с.

30. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х томах. Изд. 13. – Х.: Форсинг, 1997. – Т.1 – 560 с. , Т.2 – 592 с.

31. НАПБ А.01.001-2004. Правила пожежної безпеки в Україні.

32. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям: Фитотерапия./С.Я. Соколов, И.П. Замотаев – 2-е изд. – М.: Медицина, 1988.- 462с.

33. Сокольский И.Н. Фармакогнозия: Учебник / И.Н. Сокольский, И.А. Самылина, Н.В. Беспалова – М.: Медицина, 2003.- 480с.

34. Синев Д.Н., Гуревич И.Я. Технология и анализ лекарств. Ленинград: "Медицина" – 1989, 367 с.

35. Снакин В.В., Мельниченко В.Е., Бутовский Р.О. Оценка состояния и устойчивости экосистем. – М.: Изд-во ВНИИ Природа, 1992. – 127 с.

36. Турищев С.Н. Фитотерапия в системе медицинских знаний // Российский медицинский форум. — 2007. — № 4;

37. Тюренкова І.М. «Рослинні джерела вітамінів», Волгоград 1999 рік.

38. Тихонов А.И. Биофармация. Харків: "НФАУ" – 2003, 238 с.Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник/ В.А. Куркин; ВУНМЦ, ГОУ ВПО СамГМУ. –Самара: Офорт, СамГМУ, 2004. – 1180с.

39. Чуешов В.И. Промышленная технология лекарств, т.1,2. Харьков: "НФАУ" – 2002, 1272 с.

40. Чуєшов В.І. Технологія ліків. Харків: "Золоті сторінки" – 2003, 719 с.

41. Харкевич Д.А. Фармакология./ Д.А. Харкевич – 6-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1999. – 664с.

42. Шуберт Р. Биоиндикация загрязнений наземных экосистем / Перевод с немецкого. – М.: Мир, 1988. – 350 с.

43. Яковлев Г.П. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Фармакогнозия: учебн. пособ./ Г.П. Яковлев. – СПб: СпецЛит, 2006. –846 с.

44. Gheorghiade M., Fonarow G.C., van Veldhuisen D.J. et al. Lack of evidence of increased mortality among patients with atrial fibrillation taking digoxin: findings from hoc propensity-matched analysis of the AFFIRM trial // Eur. Heart J. – 2013, Apr.

НУБіП України

45. Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy / M. Heinrhich, J. Barnes, S. Gibbons, E.M. Williamson, 2004.

46. Whitbeck M.G., Charnigo R.J., Khairy P. et al. Increased mortality among patients taking digoxin-analysis from the AFFIRM study // Eur. Heart J. – 2013. – Vol. 34. – P. 1481–1488.

47. Wyman-Simpson C.L., Waller G.R., Jurzysta M. et al. Biological activity and chemical isolation of root saponins of six cultivars of alfalfa (Medicago sativa L.) // Plant Soil. – 1991. – Vol. 135, № 1. – P. 83–94

48. www.apteka.ua

49. www.piluli.krakov.ua

50. www.pharmacotherapy.com.ua

НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України
НУБіП України