

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАФТОХИНОНОВ В СЫРЬЕ И ПРЕПАРАТЕ ОРЕХА ЧЕРНОГО

Ж.В. Дайронас<sup>1</sup>, канд. фарм. наук,  
И.Н. Зилфикаров<sup>2</sup>, докт. фарм. наук,  
А.В. Корочинский<sup>3</sup>, В.В. Корочинская<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Пятигорский филиал Волгоградского государственного медицинского университета

<sup>2</sup>ВИЛАР, Москва;

<sup>3</sup>ООО «Витаукт-пром», ст. Абадзехская, Республика Адыгея

**E-mail:** daironas@mail.ru

Предложена методика количественного определения суммы нафтохинонов в пересчете на юглон и установлено ее содержание в листьях, околоплодниках черного ореха, сборе и БАД «Веноспас» методом фотоэлектроколориметрии.

**Ключевые слова:** орех черный, нафтохиноны, юглон, содержание, фотоэлектроколориметрия.

Орех черный (*Juglans nigra* L., сем. Ореховые – *Juglandaceae*) – ценная древесная, декоративная и плодовая культура (родина растения – Северная Америка), один из наиболее перспективных интродуцентов Республики Адыгея, где существуют оптимальные почвенно-климатические условия для его произрастания [1, 4]. Листья и плоды ореха черного приобретают все большее значение как лекарственное растительное сырье (ЛРС), содержащее нафтохиноны: юглон, гидроюглон и их гликозиды. Настойка черного ореха рекомендована при гельминтозах, микозах, кандидозах, ОРВИ, гриппе, псориазе, диабете, для лечения язв, гастритов и даже онкологических заболеваний [5].

На основе черного ореха разработан ряд биологически активных добавок (БАД) к пище: порошок околоплодника в капсулах, порошок листьев в таблетках, жидкий экстракт и др., предназначенные для профилактики гельминтозов [3].

Цель данной работы – разработка методик количественного определения суммы нафтохинонов и изучение их содержания в сырье и фитопрепаратах ореха черного.

## Экспериментальная часть

Объектами исследования служили околоплодники и листья ореха черного, заготовленные в Респу-

блике Адыгея в 2011 г., высушенные до влажности не более 10%; БАД «Веноспас», а также смесь ЛРС, используемая для получения БАД: каштана конского семени (30%), лещины обыкновенной (30%), винограда культурного семени (20%), софоры японской (2%) и плоды (8%), ореха черного (5%), ореха черного околоплодники (5%) [2]. Методы исследования включали: экстракцию, окисление, гидролиз, фракционирование и фотоэлектроколориметрию (ФЭК).

Пробоподготовка осуществлялась с учетом известных физико-химических свойств юглона и его производных. С целью снижения возможного влияния малополярных сопутствующих веществ в качестве экстрагента растительного сырья использовали спирт этиловый 20%. Нафтохиноны, которые в сырье представлены восстановленными, конденсированными и гликозидированными производными, подвергались кислотному гидролизу и окислению в присутствии катионов железа (III). Далее нафтохиноновые агликоны селективно извлекались неполярным экстрагентом и переводились в спиртовой раствор.

Предварительный анализ показал, что растворы юглона и его производных, имеющие собственное окрашивание, целесообразно анализировать ФЭК-методом. Линейная зависимость оптической плотности раствора юглона наблюдается в диапазоне концентраций от 8 до 72 мкг/мл.

**Методика определения суммы нафтохинонов в растительном сырье.** Около 2,0 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с размером отверстий 2 мм, помещают в коническую колбу, прибавляют 100 мл 20 % спирта этилового и перемешивают на магнитной мешалке в течение 1 ч. Затем смесь вы-

держивают в течение 15 мин и фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», декантируя извлечение. Операцию повторяют еще 2 раза в тех же условиях.

Объединенный фильтрат упаривают на ротационном испарителе под вакуумом при температуре водяной бани 85–90°C до объема около 50 мл. Остаток количественно с помощью 20 мл воды переносят в коническую колбу со шлифом, прибавляют 10 мл раствора железа (III) хлорида, 40 мл кислоты хлористоводородной разведенной (8,3%) и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 ч.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на фотоэлектроколориметре КФК-2 с синим светофильтром (440 нм) в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют 96% спирт этиловый.

Если оптическая плотность превышает 0,8, испытуемый раствор разводят спиртом 96% и вычисляют коэффициент разведения (К).

Параллельно измеряют оптическую плотность стандартного раствора Б, который готовится следующим образом. Около 0,01 г (точная навеска) стандартного образца юглона (*5-Hydroxy-1,4-naphthoquinone*) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл 96% спирта этилового, затем объем доводят тем же спиртом до метки и перемешивают (*раствор А*). 1,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят до метки 96% спиртом этиловым и перемешивают (*раствор Б*).

Содержание суммы нафтохинонов в пересчете на юглон и абсолютно сухое сырье (X) в процентах рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times a_0 \times 1 \times K \times 100}{D_0 \times a \times 25 \times 10} \times \frac{100}{(100 - W)}$$

**Методика определения суммы нафтохинонов в БАД «Веноспас».** Около 5,0 г (точная навеска) препарата помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл воды, 10 мл раствора железа (III) хлорида, 40 мл кислоты хлористоводородной 8,3%, перемешивают, затем нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 ч.

ристоводородной 8,3%, перемешивают, затем нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 ч.

**Селективное извлечение анализируемой фракции.**

Смесь охлаждают, затем количественно с помощью 20 мл воды переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл и экстрагируют эфиром диэтиловым 5 раз порциями по 40 мл, каждый раз взбалтывая в течение 2 мин. Эфирные извлечения последовательно фильтруют через бумажный фильтр с 2 г натрия сульфата безводного в сухую термостойкую круглодонную колбу. Фильтрат упаривают при температуре 40°C до суха, остаток растворяют в 15 мл 96% спирта этилового и количественно с помощью 5 мл того же спирта переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл. Объем раствора доводят спиртом до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Содержание суммы нафтохинонов в БАД «Веноспас» в пересчете на юглон (X) в процентах рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{D \times 25 \times a_0 \times 1 \times K \times 100}{D_0 \times a \times 25 \times 10}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D<sub>0</sub> – оптическая плотность стандартного раствора Б; a – навеска сырья, г; a<sub>0</sub> – навеска юглона, г; K – коэффициент разведения испытуемого раствора; W – влажность сырья, %.

Результаты анализа сырья и БАД, обработанные методом вариационной статистики, представлены в таблице.

Из полученных данных видно, что ошибка определения во всех случаях не превышает 5%. Это является допустимым уровнем отклонения для использованного метода и позволяет считать разработанные методики пригодными для стандартизации сырья и фитопрепаратов ореха черного.

**Вывод**

Разработана методика количественного определения содержания суммы нафтохинонов в сырье ореха черного и получаемых на его основе фитопрепаратов.

**СОДЕРЖАНИЕ СУММЫ НАФТОХИНОНОВ В СЫРЬЕ И ФИТОПРЕПАРАТЕ ОРЕХА ЧЕРНОГО (n=6)**

Объект исследования	X	P	f	S	Δx	ε, %
Околоплодники ореха черного	0,1930	0,95	5	30,35×10 <sup>-4</sup>	0,0078	4,04
Листья ореха черного	0,2352	0,95	5	35,41×10 <sup>-4</sup>	0,0091	3,87
Смесь ЛРС, используемая для БАД «Веноспас»	0,0421	0,95	5	7,393×10 <sup>-4</sup>	0,0019	4,51
БАД «Веноспас»	0,0206	0,95	5	2,335×10 <sup>-4</sup>	0,0006	2,91

ЛИТЕРАТУРА

1. Дайронас Ж.В., Зилфикаров И.Н. Природные нафтохиноны: перспективы медицинского применения. – Московская обл., Щелково: Изд. П.Ю. Мархотин, 2011. – 252 с.
2. Корочинский А.В., Корочинская В.В., Дайронас Ж.В., Зилфикаров И.Н. Технология биологически активной добавки к пище «Веноспас» и его применение в профилактике хронических сосудистых заболеваний / Сб. работ молодых ученых 3-й Междунар. науч.-практ. конф. «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (Владикавказ, 2012), ч. 1. – Владикавказ, 2012. – С. 208–210.
3. Реестр продукции, прошедшей государственную регистрацию (Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека). Дата актуализации базы данных – 17.11.2012 г. Режим доступа <http://fp.crc.ru/gosregfr>.
4. Шехмирзова М.Д., Василенко А.С. Перспективы разведения ореха черного на Северо-Западном Кавказе // Новые технологии, 2012; 2: 113–118.

5. Self Health Resource Center (SHRC) by Dr. Clark's <http://www.drclarkstore.com>.

SUMMARY

**DETERMINATION OF NAPHTHOQUINONES IN THE RAW MATERIAL AND PHYTOPREPARATION OF BLACK WALNUT (*JUGLANS nigra* L)**

Zh.V. Daironas, PhD<sup>1</sup>; I.N. Zilfikarov, PhD<sup>2</sup>, A.V. Korochinsky<sup>3</sup>, V.V. Korochinskaya<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pyatigorsk Branch, Volgograd State Medical University

<sup>2</sup>VILAR, Moscow

<sup>3</sup>ООО Vitauct-prom, Abadzekhskaya Stanitsa, Republic of Adygea

A procedure was proposed for the quantification of the sum of naphthoquinones with reference to juglone and its content in the black walnut (*Juglans nigra*) leaves, pericarps, herbal tea, and the supplement VENOSPAS was determined using photoelectric colorimetry.

**Key words:** black walnut (*Juglans nigra*), naphthoquinones, juglone, content, photoelectric colorimetry.

© Коллектив авторов, 2013  
УДК 615.2/.3.076.7

## ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК

О.В. Гунар, докт. фарм. наук, А.В. Доренская, Л.В. Колосова  
Научный центр экспертизы средств медицинского применения МЗ РФ, Москва

**E-mail:** [gunar@regmed.ru](mailto:gunar@regmed.ru)

Приводится сравнительный анализ различных методов определения концентрации микробных клеток и обоснована возможность их использования в фармакопейном анализе. Представлена воспроизводимость результатов: при определении концентрации жизнеспособных микроорганизмов (метод мембранной фильтрации и прямого посева); при определении количества микроорганизмов (использование стандарта мутности и камеры Горяева, чашечного агарового метода). Показана возможность применения нефелометрического метода для измерения оптической плотности микробных суспензий с низкой концентрацией клеток. Доказана перспективность и актуальность внедрения метода электрочувствительных зон (Култера) для определения концентрации микробных клеток.

**Ключевые слова:** микробиологические методы, концентрация микробных клеток, нефелометрический метод, метод электрочувствительных зон.

Определение концентрации микроорганизмов – это часть процедуры испытания лекарственного препарата, фармацевтической субстанции или вспомогательного вещества по показателю «Микробиологическая чистота» в части количественного определения возможных, ограниченных требованиями, микроорганизмов-контаминантов, или при работе по определению эффективности антимикробных консервантов ле-

карственных средств. Кроме того, это – операция, проводимая в процессе количественных микробиологических исследований и требующая стандартного подхода.

Концентрация микробных клеток выражается числом клеток (в том числе нежизнеспособных и поврежденных) микроорганизмов на объем суспензии (мл) и может быть определена различными методами. Жизнеспособность – это число живых клеток в объеме суспензии (колониеобразующих единиц в мл – КОЕ/мл), получаемое путем высева на соответствующие питательные среды или подсчета на фильтрах после мембранной фильтрации.

Процедура испытания лекарственных средств (ЛС) достаточно четко и вполне однозначно представлена в фармакопеях [1, 2, 3], включая Государственную фармакопею (ГФ) XII издания, ч. 1 ОФС 42-0067-07 «Микробиологическая чистота». Безусловно, методы определения микробиологической чистоты ЛС находятся в динамическом развитии и постоянном совершенствовании, в зарубежной фармакопейной и технической литературе наметилась ориентация на экспресс-методы [4, 8], однако категоричного отступления от классических микробиологических методов не позволяет себе ни одна страна.