

УДК 615.31`32,015.3:616.36-002-092.9

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ, АНАЛИЗА И ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ СУППОЗИТОРИЕВ С РИБОКСИНОМ

О.В. Мичник, Л.А. Мичник, И.В. Скульте, Е.О. Сергеева, С.Г. Тираспольская

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ
Минздрава России, г. Пятигорск*

TECHNOLOGY, ANALYSIS, AND STUDY DEVELOPMENT OF HEPATOPROTECTIVE ACTION OF SUPPOSITORIES WITH RIBOXINUM

O.V. Michnik, L.A. Michnik, I.V. Skulte, E.O. Sergeeva, S.G. Tiraspol'skaya

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of Volgograd State Medical University, Pyatigorsk
E-mail: maklea@yandex.ru*

С целью разработки состава суппозиторий, содержащих рибоксин, нами были изучены физико-химические и структурно-механические характеристики различных основ. Предпочтительной оказалась основа витепсол-Н15. Проведена оценка качества разработанных суппозиторий в соответствии с требованиями НД. Предлагаемые методики анализа валидированы и установлено, что они специфичны, правильны, прецизионны. Относительная погрешность определения составляет $\pm 0,98\%$. Суппозитории с рибоксином в дозе 15 мг/кг у белых крыс с экспериментальным острым токсическим гепатитом, вызванным введением четыреххлористого углерода, оказывают выраженное гепатопротективное, превосходящее аналогичный эффект таблеток.

Ключевые слова: рибоксин, суппозитории, анализ, технология, гепатопротективное действие.

Актуальной задачей современной медицины является разработка эффективных малотоксичных лекарственных средств для лечения и профилактики заболеваний печени и сердечно-сосудистой системы.

Лекарственный препарат рибоксин является производным пурина (нуклеозидом). Его можно рассматривать в качестве предшественника АТФ. Имеются данные о

To elaborate the composition of the suppositories with riboxinum we have studied physical and chemical, and structural and mechanical characteristics of different bases. Witepsol-H15 was chosen as a preferable base. We have carried out the quality estimation of the developed suppositories in accordance with regulatory documentation. The analysis methods offered are validated and proved to be specific, right and precise. The relative error of analysis is equal to $\pm 0.98\%$. Suppositories with riboxinum at dose 15 mg/kg shows signified hepatoprotective action at white rats with experimental acute toxic hepatitis evoked by carbon tetrachloride injection, which exceeds the similar pills effect.

Keywords: riboxinum, suppositories, analysis, technologies, hepatoprotective action.

способности препарата повышать активность ряда ферментов цикла Кребса, стимулировать синтез нуклеотидов. По типу действия рибоксин относится к анаболическим веществам. Применяют рибоксин для комплексной терапии ишемической болезни сердца, перенесенного инфаркта и назначают его также при заболеваниях печени (гепатиты, цирроз). Принимают ри-

боксин внутрь в виде таблеток, покрытых оболочкой, и внутривенно.

Представляет практический интерес вопрос разработки суппозиториев с рибоксином, которые позволят расширить ассортимент его лекарственных средств.

Целью данной работы явилось изучение возможности получения суппозиториев с рибоксином, их стандартизация и исследование гепатозащитного действия.

В работе использовали субстанцию рибоксина, отвечающую требованиям нормативной документации (НД). Для изготовления суппозиториев с рибоксином и выбора носителя исследовали три основы, часто используемые на современном фармацевтическом производстве и рекомендуемые ГФ: витепсол Н-15, витепсол W-35 и полиэтиленоксидную основу (сплав ПЭО-1500 – 95%, ПЭО-400 – 5%) [3].

В соответствии с требованиями нормативной документации предварительно были определены структурно-механические свойства основ: температура плавления; температура затвердевания. Температуры плавления и затвердевания определяли по известной методике. Проводили три определения и рассчитывали средний результат.

Суппозитории готовили методом выливания в связи с тем, что данный метод применяется в заводских условиях. Для изготовления свечей использовали три суппозиторные основы: витепсол Н-15, витепсол W-35 и ПЭО. Рибоксин вводили в разовой дозе 0,2 г [4]. Были изготовлены и проанализированы свечи следующего состава: рибоксина 0,2 г, суппозиторной основы до 3,0 г.

Для изготовления свечей методом выливания использовали формы из полистирола. Для точного количества основы применили обратный заместительный коэффициент рибоксина ($1/E_{\text{ж}}=0,80$), представляющий собой количество лекарственного вещества, которое замещает 1,0 г жировой основы.

Рибоксин в основу вводили по «типу суспензии». При изготовлении свечей, во избежание нарушения дозировки и разделения смеси основы и лекарственного вещества, стремились соблюдать следующие правила: консистенция расплавленной мас-

сы в момент ее выливания должна быть достаточно густой (близкой к температуре застывания), разливание необходимо производить быстро, форму охлаждать незамедлительно. Тщательно растертый рибоксин вводили в расплавленную основу при быстром тщательном перемешивании стеклянной палочкой, быстро разливали в заранее смазанные мыльным спиртом формы и ставили охлаждаться в холодильнике. Через 25-30 минут готовые свечи извлекали из формы и подвергали анализу на их соответствие требованиям ГФ XI [1].

Однородность массы определяли визуально на срезе по отсутствию вкраплений, блесков или кусочков основы. Среднюю массу определяли взвешиванием 20 суппозиториев.

Всасывание лекарственных веществ из жировых основ возможно только после расплавления (разжижения) суппозиторной массы и происходит тем быстрее, чем больше площадь контакта расплавленной массы со слизистыми оболочками. Поэтому очень важно определение особого свойства суппозиториев: времени полной деформации, особенно в условиях, близких к естественным [1]. Температуру плавления и время полной деформации суппозиториев определяли в соответствии с требованиями НД по методике ГФ XI. Для ПЭО-основы устанавливали время растворения по методике ГФ XI.

Затем изучали влияние основ на время высвобождения рибоксина из суппозиториев. Для этого использовали метод диффузии через полупроницаемую мембрану. Отбор проб производили через 20, 40 минут, 1, 1,5, 2 часа. Рибоксин определяли спектрофотометрически в УФ области спектра.

Температура плавления витепсола Н-15, витепсола W-35 не превышала 37°C, а температура затвердевания – 33,9°C и 35,1°C, соответственно, что согласуется с требованиями существующей НД (не более 37°C). Для основы сплава ПЭО время растворения составило 40 минут (не превышало нормативные 60 минут). Поэтому все три основы были использованы для приготовления суппозиториев.

У приготовленных суппозиторий оценивали: внешний вид, форму, однородность, среднюю массу. Все свечи имели правильную и одинаковую форму, однородную массу и достаточную твердость, обеспечивающую удобство применения. Средняя масса суппозиторий на основе витепсоло Н-15 составила $2,98 \pm 0,01$ г, на основе витепсоло W-35 – $2,98 \pm 0,01$ г, на основе сплава ПЭО – $2,99 \pm 0,01$ г. Температура плавления свечей на основе витепсоло Н-15 составила $34,3 \pm 0,35^\circ\text{C}$, витепсоло W-

35 – $35,5 \pm 0,34^\circ\text{C}$, соответственно. Время полной деформации суппозиторий с рибоксином на основе витепсоло Н-15 составило $6,2 \pm 0,2$ мин, а на основе витепсоло W-35 – $6,7 \pm 0,2$ мин, что не превышает установленной нормы не более 15 мин. Время растворения суппозиторий на основе ПЭО составило 39,0 мин, что соответствует требованиям ГФ XI не более 1 часа.

Результаты высвобождения рибоксина из суппозиторий, приготовленных на различных основах, приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты высвобождения рибоксина из исследуемых основ (n=3)

Наименование основы	№	Время отбора (час)	Средняя концентрация Сх (%)	Скорость высвобождения (мг/мл час)	Средняя скорость
Витепсол Н-15	1	0,25	18	0,68	0,53
	2	0,50	28	0,54	
	3	1,00	52	0,50	
	4	1,50	67	0,49	
	5	2,00	80	0,44	
Витепсол W-35	1	0,25	16	0,80	0,51
	2	0,50	25	0,60	
	3	1,00	47	0,43	
	4	1,50	62	0,37	
	5	2,00	71	0,35	
ПЭО	1	0,25	21	0,85	0,60
	2	0,50	34	0,70	
	3	1,00	43	0,55	
	4	1,50	58	0,49	
	5	2,00	64	0,43	

Результаты эксперимента, представленные в таблице 1, показывают:

- Наибольшая скорость высвобождения рибоксина наблюдается при использовании полиэтиленоксидной основы и составляет 0,60 мг/мл/час;
- скорость высвобождения рибоксина из суппозиторных основ наибольшая в

начале диализа и постепенно уменьшается в течение двух часов: для витепсоло W-35 в 2,3 раза; ПЭО – в 2,0 раза; для витепсоло Н-15 – в 1,6 раза.

На основании полученных данных построены графики зависимости количества высвободившегося рибоксина из исследуемых основ от времени диализа (рис. 1).

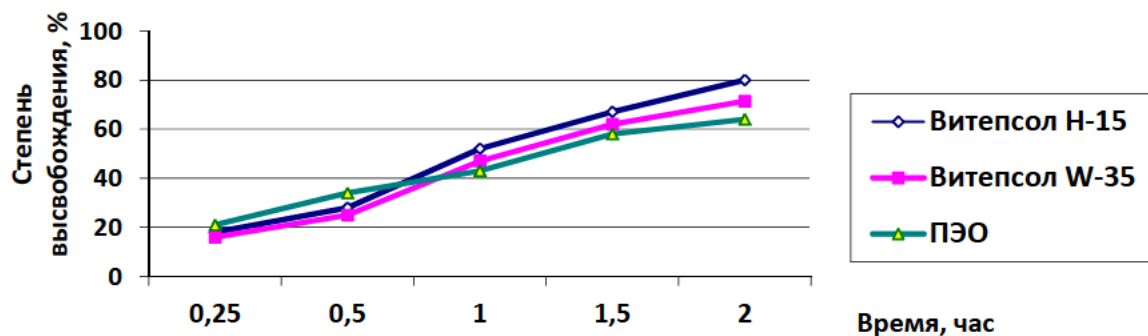


Рисунок 1 – Высвобождение рибоксина из исследуемых основ в зависимости от продолжительности процесса

В результате проведенного исследования установлено, что полнота высвобождения зависит от вида основы и наибольшая наблюдается при использовании витепсола

Н-15, при этом она на 11% больше, чем при использовании витепсол W-35. Данные приведены на рисунке 2.

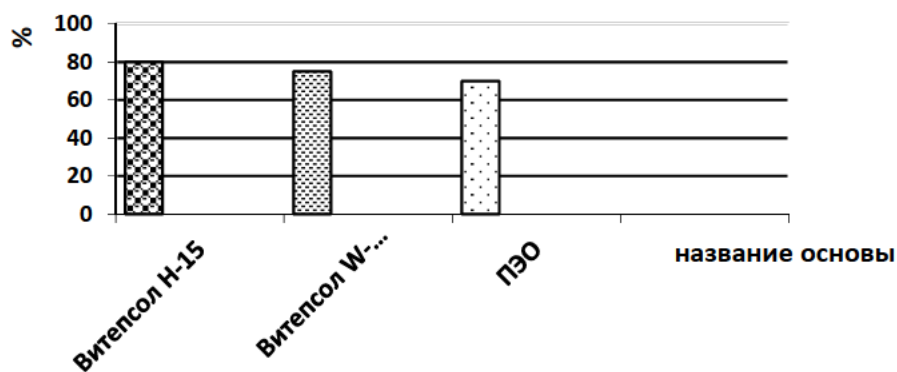


Рисунок 2 – Полнота высвобождения рибоксина из исследуемых основ

Таким образом, установлено, что оптимальным носителем для рибоксина в форме суппозитория является витепсол Н-15, при этом время высвобождения 52% рибоксина составляет 1 час, а 80% – 2 часа.

На основании проведенных исследований разработан состав суппозитория с рибоксином и предложена технология суппозитория, получаемых методом выливания. В качестве основы в предлагаемой лекарственной форме для рибоксина использовали витепсол Н-15, обеспечивающий наибольшую полноту высвобождения данного лекарственного вещества и отвечающий требованиям НД по структурно-механическим и физико-химическим параметрам.

В результате исследований разработан состав суппозитория с рибоксином и предложена технология суппозитория, получаемых методом выливания, и предла-

гаются суппозитории, содержащие рибоксин 0,2 г и витепсол Н-15. Приготовленные суппозитории имели правильную форму, однородную массу и достаточную твердость, обеспечивающую удобство применения. Средняя масса полученных суппозитория находилась в пределах $2,98 \pm 0,016$ г. Температура плавления суппозитория с рибоксином составила $34,3 \pm 0,35^\circ\text{C}$. Время полной деформации суппозитория с рибоксином $6,2 \pm 0,2$ мин, что соответствует установленной норме.

Проведена стандартизация суппозитория, содержащих рибоксин и валидационная оценка разработанных методик анализа по показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность [5, 8]. Для идентификации препарата в суппозиториях подобраны реакции, исходя из особенностей его структуры. Установлено

наличие аналитического эффекта с реактивом Драгендорфа (красно-бурый осадок), с 2% раствором серебра нитрата (белый осадок), с 10% спиртовым раствором орцина в присутствии железа (III) хлорида в концентрированной хлористоводородной кислоте при нагревании появлялось зеленое окрашивание (рибоза). Дополнительно для идентификации рибоксина в суппозиториях использовали ТСХ и УФ спектрофотометрию.

Методика анализа: массу суппозитория, содержащего 0,05 г рибоксина, растворяли в 0,5 мл спирта этилового и 5 капель полученного раствора с помощью микрошприца наносили на стартовую линию пластинки «Силуфол» и хроматографировали восходящим способом в системах: хлороформ – этанол – 25% раствор аммиака в соотношении 90:10:5 (I) или спирт изопропиловый – концентрированный раствор аммиака – вода (7:1:2) (II).

Хроматографирование проводили до тех пор, пока система растворителей не пройдет 10 см. Затем пластинки сушили на воздухе при комнатной температуре в течение 30 мин до полного удаления растворителя, после чего просматривали в УФ-свете при длине волны 254 нм. Отмечали появление одного пятна и в одной, и другой системах. Рассчитывали значение его R_f , которое оказалось равным 0,24 в системе (I) и 0,56 в системе (II).

С целью изучения полос электронного поглощения, выяснения возможности использования их для качественного анализа рибоксина были измерены спектры поглощения растворов лекарственного вещества в воде, растворах натрия гидроксида и кислоты хлороводородной.

Готовили растворы по следующей методике: около 0,05 г (точная масса) вещества помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 30 мл воды очищенной, доводили объем водой до метки и перемешивали. 0,5 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем колбы до метки водой очищенной и снова тщательно перемешивали. Растворы рибоксина в других растворителях готовили по этой же методике.

Измеряли оптическую плотность полученных растворов на спектрофотометре СФ-56 в кварцевых кюветах с величиной рабочего слоя 10 мм в области от 220 до 320 нм относительно соответствующего растворителя.

Для полученного спектра были рассчитаны основные оптические характеристики: длина волны в максимумах поглощения ($\lambda_{\max}$, нм), ν (см^{-1}), удельный ($E_{1\text{ см}}^{1\%}$) и молярный (ϵ) коэффициенты светопоглощения (табл. 2).

Таблица 2 – Оптические характеристики электронных полос поглощения рибоксина

Растворитель	$\lambda_{\max}$, нм	ν , см^{-1}	$E_{1\text{ см}}^{1\%}$	ϵ
Вода очищенная	249	40160	460,0	12328
0,1 М раствор NaOH	253	39526	488,8	13099
0,1 М раствор HCl	250	40000	455,2	12194

Проведенные исследования позволили установить, что рибоксин имеет максимум поглощения при 249 нм в воде, 253 нм в 0,1 М растворе натрия гидроксида и 250 нм в 0,1 М растворе кислоты хлороводородной. Характер спектра поглощения обусловлен наличием сопряженных двойных связей в конденсированной гетероциклической системе. Идентификацию рибоксина в суппозиториях так же проводили по расположе-

нию максимумов в УФ спектре поглощения. Предпочтительным растворителем оказалась вода очищенная. Затем устанавливали валидационные характеристики методик. Для этого 1 суппозиторий помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 30 мл воды, нагревали на водяной бане при постоянном перемешивании, далее поступали, как описано выше. Установили, что витепсол Н-15 не вступал в хи-

мические реакции с подобранными реактивами и не обнаруживался физико-химическими методами. Следовательно, методики идентификации рибоксина в суппозиториях являются специфичными. Наличие максимума поглощения рибоксина в воде при 249 нм, высокая чувствительность ($E_{1\text{ см}}^{1\%} = 460$), послужили основанием для разработки условий количественного содержания рибоксина в лекарственном препарате методом спектрофотометрии в УФ области. Методика была специфичной, так как витепсол-Н15 не имеет характерного поглощения в изучаемой области спектра. Для подтверждения линейности готовили 5 растворов, содержащих разные количества (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 мл) 0,1% раствора извлечения рибоксина из суппозитория. Оптическую плотность измеряли при длине волны 249 нм. Полученные данные использовали для расчета уравнения градуировочного графика, где $y = 212,2x + 0,016$, коэффициент корреляции равен 0,998, что говорит о линейной зависимости оптической плотности от концентрации раствора. Для установления правильности методики готовили 9 растворов с разным содержанием рибоксина на трех уровнях концентрации. Для оценки полученных результатов рассчитывали открываемость (R) и величины стандартного отклонения (SD) и относительного стандартного отклонения (RSD). Установили, что открываемость составляет 99,6%; SD 1,320; RSD 1,323. Таким образом, предложенная методика линейна, отличается хорошей воспроизводимостью. Установили, что разработанная методика позволяет определять рибоксин в суппозиториях с ошибкой $\pm 0,98\%$.

Изучение гепатопротекторного действия рибоксина в суппозиториях проводили в сравнении с таблетками, содержащими этот препарат. Работа выполнена на белых беспородных крысах массой 200-220 г на модели острого CCl_4 -гепатоза, который воспроизводили путем введения *per os* 3 раза через день 50% масляного раствора CCl_4 в дозе 0,15 мл/100 г массы тела.

Животных разделили на четыре группы:

1. Интактные животные.
2. Контрольные животные (CCl_4 -гепатоз).
3. Опытные животные (на фоне введения CCl_4 по вышеуказанному способу в течение 12 дней получали перорально измельченные таблетки рибоксина в дозе 15 мг/кг в 1 мл физиологического раствора),
4. Опытные животные (на фоне введения CCl_4 по вышеуказанному способу в течение 12 дней получали ректально суппозитории рибоксина массой 0,5 г с содержанием рибоксина в дозе 15 мг/кг).

На тринадцатый день все группы животных подвергались декапитации. В качестве исследуемого материала использовали сыворотку крови. В сыворотке крови определяли следующие биохимические показатели: активность аланинаминотрансферазы (АлАт), активность щелочной фосфатазы (ЩФ), холестерин (Х), триглицериды (ТГ).

В контрольных опытах пероральное введение четыреххлористого углерода крысам обусловило повышение активности АлАт на 106,0% ($1,30 \pm 0,08$ мккат/л против $0,63 \pm 0,04$ мккат/л у интактных крыс, $p < 0,001$); активности ЩФ на 67,0% ($6,0 \pm 0,06$ мккат/л против $3,6 \pm 0,27$ мккат/л, $p < 0,001$ у интактных животных).

В отличие от этого пероральное введение таблеток рибоксина в дозе 15 мг/кг в 1 мл физиологического раствора на фоне перорального введения четыреххлористого углерода вызвало, по сравнению с контрольными животными, снижение активности АлАт на 20,0% ($1,04 \pm 0,04$ мккат/л против $1,30 \pm 0,08$ мккат/л в контроле, $p < 0,001$); активности ЩФ на 25,0% ($4,5 \pm 0,15$ мккат/л против $6,0 \pm 0,06$ мккат/л в контроле, $p < 0,001$).

Еще более значительный эффект наблюдался при ректальном введении суппозитория, содержащих рибоксин в дозе 15 мг. Снижение активности АлАт достигало 44,6% ($0,72 \pm 0,02$ мккат/л против $1,30 \pm 0,08$ мккат/л в контроле, $p < 0,001$). По сравнению с группой опытных животных, получавших таблетки рибоксина, в группе опытных животных, получавших суппозитории с рибоксином, активность АлАТ была ниже на

30,0% ($p < 0,001$). При введении животным суппозитория, содержащего рибоксин, активность ЩФ была ниже на 13,3% ($p < 0,02$), чем при введении опытным животным таблеток с рибоксином.

Содержание холестерина крови под влиянием четыреххлористого углерода в группе контрольных животных увеличилось на 77,3%, а ТРГ крови на 107,0%.

Пероральное введение таблеток, содержащих рибоксин, обусловило в группе животных снижение содержания Х на 19,0% ($2,73 \pm 0,07$ ммоль/л против $3,37 \pm 0,09$ ммоль/л у контрольных животных, $p < 0,001$), а ТРГ на 31,5% ($1,0 \pm 0,05$ ммоль/л против $1,46 \pm 0,5$ ммоль/л в контроле, $p < 0,001$).

При ректальном введении суппозитория наблюдалось снижение Х крови на 33,0% ($2,75 \pm 0,09$ ммоль/л против $3,37 \pm 0,04$ ммоль/л в контроле, $p < 0,001$) и еще более значительное снижение содержания ТРГ в крови на 41,0% ($0,87 \pm 0,04$ ммоль/л против $1,46 \pm 0,05$ ммоль/л у контрольных животных, $p < 0,001$). Гипохолестеринемический эф-

фект, наблюдаемый при введении животным суппозитория рибоксина, превышал аналогичное влияние таблеток рибоксина на 17,0%, $p < 0,001$. Гипотриглицерическое действие суппозитория рибоксина было несколько выше 13,5%, $p > 0,05$, чем таблеток, но оказалось статистически недостоверным.

Проведенные исследования свидетельствуют, что токсический гепатоз, вызванный введением животным четыреххлористого углерода, характеризуется развитием цитолиза и холестаза, о чем свидетельствует значительное увеличение в крови активности АлАт и ЩФ [6], а также существенным нарушением липидного обмена. Введение рибоксина как в форме таблеток, так и суппозитория оказывает существенный нормализующий эффект, особенно в отношении ферментемии. Из двух исследованных лекарственных форм рибоксин в форме суппозитория оказывает больший фармакологический эффект, что по видимому связано с его меньшей метаболизацией [2, 7].

Выводы

1. На основании проведенных исследований разработан состав суппозитория с рибоксином и предложена их технология методом выливания.
2. Изучены физико-химические и структурно-механические характеристики исследуемых основ, установлено их соответствие требованиям НД.
3. Изучено влияние фармацевтических факторов на кинетику высвобождения рибоксина из суппозитория. В опытах *in vitro* подобраны оптимальные носители этих лекарственных веществ. Для рибоксина – витепсол Н-15.
4. Разработаны состав и технология суппозитория с рибоксином на выбранных основах с учетом изученных биофармацевтических характеристик. Проведена оценка качества разработанных суппозитория по технологическим показателям ГФ XI издания. Установлено их соответствие требованиям НД.
5. Для идентификации рибоксина в порошке и в лекарственной форме (суппозитории) предложены методики химического и физико-химических методов анализа (УФ спектрофотометрия и ТСХ).
6. Для количественного определения рибоксина в суппозиториях разработано спектрометрическое определение его в воде при длине волны 249 нм. Методика позволяет определить рибоксин с относительной погрешностью определения $\pm 0,98$ %.
7. Таблетки, содержащие рибоксин в дозе 15 мг/кг и суппозитории в дозе 15 мг/кг у белых крыс с экспериментальным острым токсическим гепатитом, вызванным введением четыреххлористого углерода, оказывают выраженное гепатозащитное действие.
8. Гепатозащитный эффект суппозитория, содержащих рибоксин, превосходит аналогичное действие таблеток, содержащих рибоксин.

Библиографический список

1. Государственная фармакопея СССР. – Вып 1: Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
2. Григорьева М.Б. Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия // Хим.-фармац. журн. – 1982. – Т.16, № 4. – С.14-22.
3. Жикова В., Минков Е. Современные аспекты развития суппозиторных лекарственных форм // Фармация (Бълг). 1997. Т. 44, № 1. С. 28-32.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – 16-е изд. – М., 2012. – 2 т.
5. Руководство ИСН «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» Q2 (R1). Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации медицинских лекарственных средств // Фармация. – 2008. – №4. – С.3-10.
6. Сергеева Е.О. Влияние флавоноидов на механизмы развития окислительного стресса при токсических поражениях печени: Автореф. дис. канд. фармац. наук. – Пятигорск, 2007. – 24 с.
7. Французова С.Б., Кривелевич В.Я., Пархонюк В.П. Фармакодинамика рибоксина (инозина) // Фармакология и токсикология. 1989. Т. 52, №1. С. 115-118.
8. Юргель, Н.В. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / Н.В. Юргель, А.Л. Младенцев. – М., 2007.- 187 с.

* * *

Мичник Олег Викторович – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры технологии лекарств Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фармацевтическая технология, фитоэкстракционные препараты, биофармацевтические исследования. E-mail: vmichnik@gmail.com.

Мичник Людмила Андреевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры технологии лекарств Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: фармацевтическая технология, фитоэкстракционные препараты, биофармацевтические исследования. E-mail: vmichnik@gmail.com.

Скульте Ирина Валерьевна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры биологической химии и микробиологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: биологическая химия, гепатопротекторы, токсические поражения печени. E-mail: skultefarm@yandex.ru.

Сергеева Елена Олеговна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры биологической химии и микробиологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: биологическая химия, гепатопротекторы, токсические поражения печени. E-mail: maklea@yandex.ru.

Тираспольская Светлана Григорьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, старший преподаватель кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: органическая, аналитическая и фармацевтическая химия. E-mail: maklea@yandex.ru.