

10 РОКІВ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

Академія медичних наук України створена Указом Президента України у 1993 році. АМН - вища наукова медична установа, незалежна у проведенні досліджень і розробці напрямів наукового пошуку в галузі медицини й охорони здоров'я в Україні, їй підпорядковані 36 найбільш значних науково-дослідних інститутів.

Покликана визначати пріоритетні напрямки розвитку медичної науки та здійснювати її комплексний розвиток, проводити фундаментальні дослідження, Академія медичних наук України сприяє переходу справи охорони здоров'я населення України на вищий якісний рівень, здійснює інтеграцію та координацію академічної, вузівської та галузевої науки, бере активну участь у міжнародному і зовнішньоекономічному співробітництві в галузі медицини та охорони здоров'я.

Шановні колеги!

Щиро вітаємо Вас із ювілеєм!

Бажаємо і надалі високо нести прапор української
медичної науки.

Нових Вам наукових злетів, наснаги, успіхів у благородній діяльності в ім'я охорони здоров'я українського народу!

До впровадження Державної Фармакопеї України

УДК 615.076

Жемерова Е.Г., Хованская Н.П.

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

К вопросу контроля микробиологической чистоты лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ. Сообщение 2. Проверка пригодности методик испытания на отдельные виды микроорганизмов

Разработаны схемы проверки пригодности методик испытания на микробиологическую чистоту (испытание на отдельные виды микроорганизмов) при использовании метода прямого посева и метода мембранной фильтрации. В работе изложены методические рекомендации по проведению проверки пригодности методик испытания микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств.

В предыдущем сообщении [1] были предложены методические рекомендации по проверке пригодности методик определения общего числа жизнеспособных аэробных микроорганизмов в соответствии с требованиями раздела 2.6.12 ГФУ. В данной публикации предлагаются рекомендации по проведению проверки пригодности методик испытания на отдельные виды микроорганизмов в соответствии с разделом 2.6.13 Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ).

В разделе 2.6.13 ГФУ [2] описаны методы исследования, которые используются для выявления в лекарственных средствах отдельных видов микроорганизмов: энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий, бактерий семейства Enterobacteriaceae (национальная часть раздела), *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Clostridia*. Поскольку испытание на *Clostridia* проводят в особых случаях и процедура проверки пригодности при проведении данного исследования в ГФУ не описана, приведенные ниже рекомендации относятся ко всем испытаниям, описанным в разделе 2.6.13, за исключением испытания на *Clostridia*.

В соответствии с требованиями ГФУ для проверки пригодности методики испытания на отдельные виды микроорганизмов используют следующие штаммы тест-микроорганизмов:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (NCIMB 9518, CIP 4.83);
- *Escherichia coli* ATCC 8739 (NCIMB 8545, CIP 53.126) или ATCC 25922 (в соответствии с национальной частью статьи 2.6.13 ГФУ);
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (NCIMB 8626, CIP 82.118);

- *Salmonella typhimurium*. Для этого вида рекомендуемый штамм не приводится, допускается использование штамма другого вида рода *Salmonella*, например *Salmonella abony* NCTC 6017 (CIP 80.39). Таким образом, может быть использован любой штамм *Salmonella*, который имеется в коллекции лаборатории.

Тест-микроорганизмы выращивают на жидкой питательной среде. Может быть использована жидкая среда А, описанная в европейской части, или жидкая среда № 1 в соответствии с национальной частью раздела 2.6.13.

Подход Европейской Фармакопеи [3] и ГФУ к проверке пригодности методики испытания на отдельные виды микроорганизмов существенно отличается от ставшего уже привычным подхода Государственной Фармакопеи СССР XI издания [4]. В соответствии с требованиями ГФ XI и USP 24 [5] при проверке пригодности методики испытания на отдельные виды микроорганизмов следует использовать монокультуру того тест-микроорганизма, для выявления которого предназначена проверяемая методика. Так, при проверке пригодности методики испытания на наличие бактерий семейства Enterobacteriaceae используют монокультуру тест-микроорганизма *Escherichia coli*, при проверке пригодности методики испытания на *Staphylococcus aureus* — монокультуру тест-микроорганизма *Staphylococcus aureus* и т.д. В соответствии с Европейской Фармакопеей и ГФУ независимо от вида испытания при проверке пригодности используют смесь, содержащую равные количества указанных выше четырех тест-микроорганизмов. Такой подход является для Украины принципиально новым и поэтому вызывает большие трудности в практической работе.

Все методики испытания на отдельные виды микроорганизмов, приведенные как в европейской, так и в национальной части ГФУ, можно разделить на две группы, отличающиеся пробоподготовкой испытуемого образца. К первой группе относятся те методики испытания, в соответствии с которыми осуществляется непосредственно посев испытуемого препарата в питательную среду. В европейской части ГФУ это методики количественного определения энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий, а также методики испытания на наличие энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий и *Salmonella*; в национальной части — методики количественного определения бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий) и *Escherichia coli*, а также методики испытания на наличие *E. coli* и *Salmonella*.

Ко второй группе относятся методики, в которых предусмотрена предварительная подготовка образца препарата в фосфатном буферном растворе. Это методики испытания на наличие *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* (в соответствии с европейской и национальной частью), а также методика испытания на наличие *E. coli* (европейская часть) и бактерий семейства *Enterobacteriaceae* или энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий (национальная часть).

Принципиальное отличие в подходе к проверке пригодности методик, относящихся к первой и второй группе, заключается в том, что для первой группы при проверке пригодности достаточно доказать, что концентрация препарата в питательной среде не подавляет рост тест-микроорганизмов, для второй же группы необходимо дополнительно подтвердить отсутствие антимикробного действия испытуемого лекарственного средства в фосфатном буферном растворе на стадии пробоподготовки.

В связи с указанными выше различиями рассмотрим отдельно процедуры проверки пригодности при использовании методик, относящихся к первой и второй группам.

Следует отметить, что отличия в предлагаемых схемах проверки пригодности связаны только с процедурой пробоподготовки и не связаны с тем, какие питательные среды используются — по европейской или по национальной части. При проверке пригодности

необходимо использовать те питательные среды, которые предусмотрены в проверяемой методике.

Проверка пригодности методик испытания на отдельные виды тест-микроорганизмов

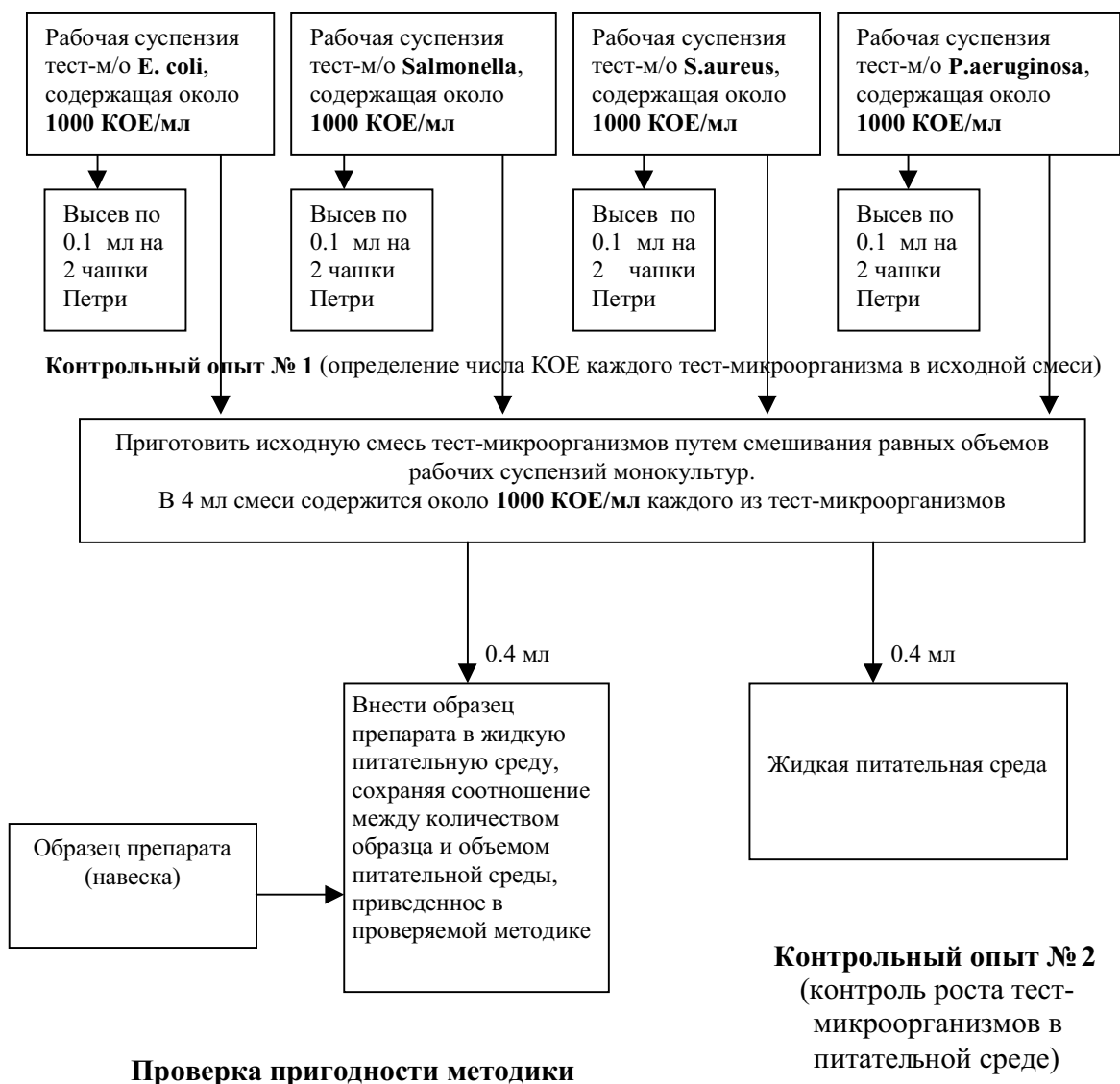
Первый этап исследования не зависит от используемой методики, метода посева и схемы исследования, используемой для проверки пригодности. На этом этапе необходимо приготовить исходную смесь тест-микроорганизмов. Сначала готовят исходную суспензию каждого из тест-микроорганизмов. Для облегчения дальнейших расчетов для каждого тест-микроорганизма целесообразно приготовить исходную суспензию, содержащую около 10^9 КОЕ/мл или 10^8 КОЕ/мл. Для стандартизации исходной суспензии может быть использован нефелометрический метод, возможно также в серии предварительных опытов подобрать методику приготовления исходной суспензии, а затем использовать эту методику в дальнейшей работе. Из исходных суспензий методом последовательных десятикратных разведений в буферном растворе с натрия хлоридом и пептоном готовят рабочие суспензии монокультур, содержащие около 1000 КОЕ/мл. Рабочие суспензии монокультур используют для приготовления исходной смеси суспензий тест-микроорганизмов. Для этого смешивают равные объемы рабочих суспензий монокультур, например, по 10 мл каждой суспензии монокультуры. Таким образом, в 4 мл исходной смеси содержится по 1000 КОЕ/мл каждого из тест-микроорганизмов. Для определения точного числа КОЕ каждого из тест-микроорганизмов в исходной смеси проводят контрольный опыт № 1: из рабочей суспензии каждой монокультуры проводят высев по 0.1 мл на две чашки Петри с плотной питательной средой для выращивания бактерий.

Дальнейшие операции зависят от вида методики и применяемого метода исследования.

Проверка пригодности методик, для которых не предусмотрена предварительная процедура подготовки образца испытуемого препарата в фосфатном буферном растворе (методики первой группы)

Для методик этой группы возможен только один метод посева — прямой. Проверку пригодности рекомендуется проводить в со-

Схема 1



Проверка пригодности методики испытания на микробиологическую чистоту (испытание на отдельные виды микроорганизмов в соответствии с разделом 2.6.13 ГФУ) при использовании метода прямого посева без предварительной подготовки образца для испытания

ответствии со Схемой № 1. Для проверки пригодности методики навеску (или объем) испытуемого лекарственного средства вносят в питательную среду, сохраняя соотношение между массой навески (объемом образца) и объемом питательной среды. К питательной среде, содержащей испытуемое лекарственное средство, прибавляют 0.4 мл исходной смеси тест-микроорганизмов и проводят манипуляции, необходимые для растворения или гомогенизации образца в питательной среде. При этом используемые манипуляции (суспендирование, эмульгирование,

нагревание, механическое встряхивание), применяемые эмульгаторы и инактиваторы (наименование и концентрация) и т.д. должны в точности соответствовать той методике, проверка пригодности которой осуществляется. Питательная среда должна быть такой же, которая используется для первичного посева в соответствии с проверяемой методикой (например, при проверке пригодности методики количественного определения энтеробактерий и некоторых других грамотрицательных бактерий следует использовать лактозный бульон). В контрольном опыте

(контрольный опыт № 2) к питательной среде, не содержащей испытуемое лекарственное средство, прибавляют 0.4 мл исходной смеси тест-микроорганизмов.

Далее проводят операции, предусмотренные проверяемой методикой. Если предусмотрена инкубация в течение 18-48 ч, посе́вы инкубируют, придерживаясь указанных в методике времени и температуры инкубации. Если предусмотрено подращивание в течение 2-5 ч, проводят инкубацию в течение максимального времени (5 ч), а затем осуществляют пересев указанного в методике объема на предписанную методикой питательную среду и инкубируют посе́вы как указано в методике.

При проверке пригодности методики испытания на отдельные виды микроорганизмов наиболее спорным вопросом является вопрос о возможности масштабирования. Основной причиной этого является то, что Фармакопея не указывает ни объем питательной среды, который нужно использовать при проверке пригодности, ни микробную нагрузку в питательных средах, а имеются лишь указания о необходимом количестве тест-микроорганизмов на весь объем питательной среды. В связи с этим мы считаем, что при проверке пригодности методик испытания на отдельные виды микроорганизмов необходимо соблюдать требование Фармакопеи, а именно — на весь объем питательной среды должно приходиться около 100 КОЕ каждого из тест-микроорганизмов.

По нашему мнению, использование масштабирования допустимо, особенно при разработке методик контроля на микробиологическую чистоту, т.к. в этом случае нередко приходится проверять около 10 различных вариантов, что без использования масштабирования ведет к неоправданно большим затратам испытуемого препарата (свыше 100 г препарата может потребоваться только для разработки методики испытания на отдельные виды микроорганизмов) и питательных сред.

Применение масштабирования при использовании Схемы № 1 допустимо, однако в тех случаях, когда на первом этапе исследования используется непродолжительная (от 2 до 5 ч) инкубация, не ведущая к увеличению числа микроорганизмов в питательной среде, считаем необходимым оставить неизменной микробную нагрузку. Наиболее удобно здесь уменьшить навеску испытуемого лекарствен-

ного средства и объем питательной среды в 4 раза: использовать 2.5 г лекарственного средства и 25 мл питательной среды. К 25 мл питательной среды, содержащей испытуемое лекарственное средство, следует прибавить 0.1 мл исходной смеси тест-микроорганизмов. Такая модификация методики позволяет оставить неизменным число КОЕ тест-микроорганизмов, приходящееся на объем образца, который после предварительной инкубации переносят в соответствующую накопительную питательную среду.

Проверка пригодности методик, для которых предусмотрена предварительная процедура подготовки образца испытуемого препарата в фосфатном буферном растворе (методики второй группы).

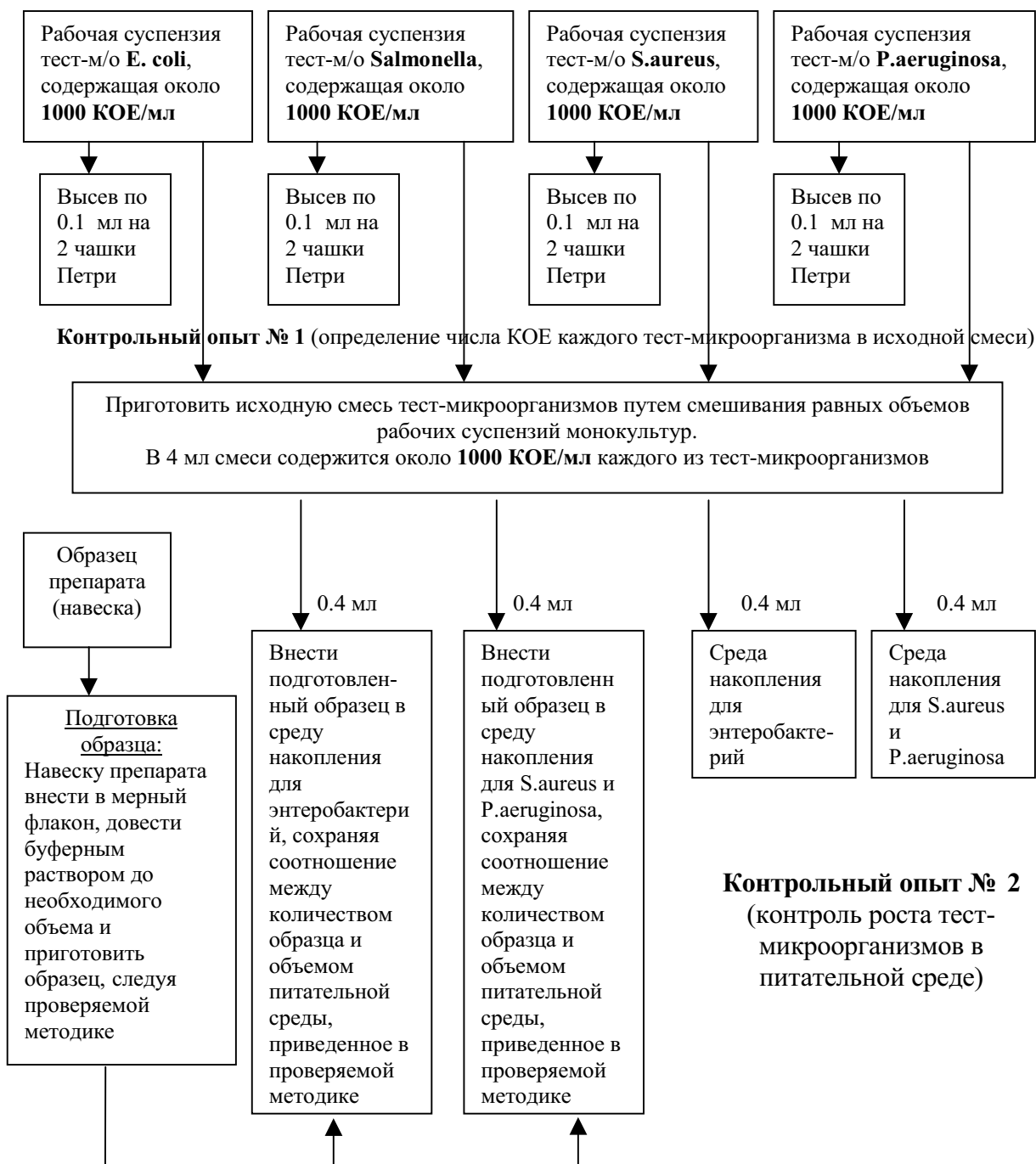
В соответствии с национальной частью раздела 2.6.13 при проведении испытания может быть использован метод прямого посе́ва или метод мембранной фильтрации. В зависимости от применяемого метода схемы исследования имеют ряд отличий.

Метод прямого посе́ва

При проверке пригодности могут быть использованы Схема № 2 или Схема № 3.

При использовании Схемы № 2 для приготовления образца препарата навеску (или объем) испытуемого лекарственного средства вносят в мерный сосуд и доводят до необходимого объема стерильным фосфатным буферным раствором. При подготовке образца соотношение между массой навески (объемом образца) и объемом растворителя, способ подготовки образца (суспендирование, эмульгирование, нагревание, механическое встряхивание), используемые эмульгаторы и инактиваторы (наименование и концентрация) и т.д. должны в точности соответствовать той методике, проверка пригодности которой осуществляется. Подготовленный образец препарата вносят в жидкую питательную среду (питательные среды), сохраняя соотношение между объемом образца и питательной среды. Используют питательные среды, предусмотренные методикой. Наиболее часто при работе по национальной части раздела 2.6.13 с препаратами категории 2 и 3А используют среды накопления для энтеробактерий (среда № 3) и для *S. aureus* и *P. aeruginosa* (среда № 8). К каждой питательной среде, содержащей подготовленный образец препарата, прибавляют 0.4 мл исходной смеси тест-микроорганизмов, то есть по

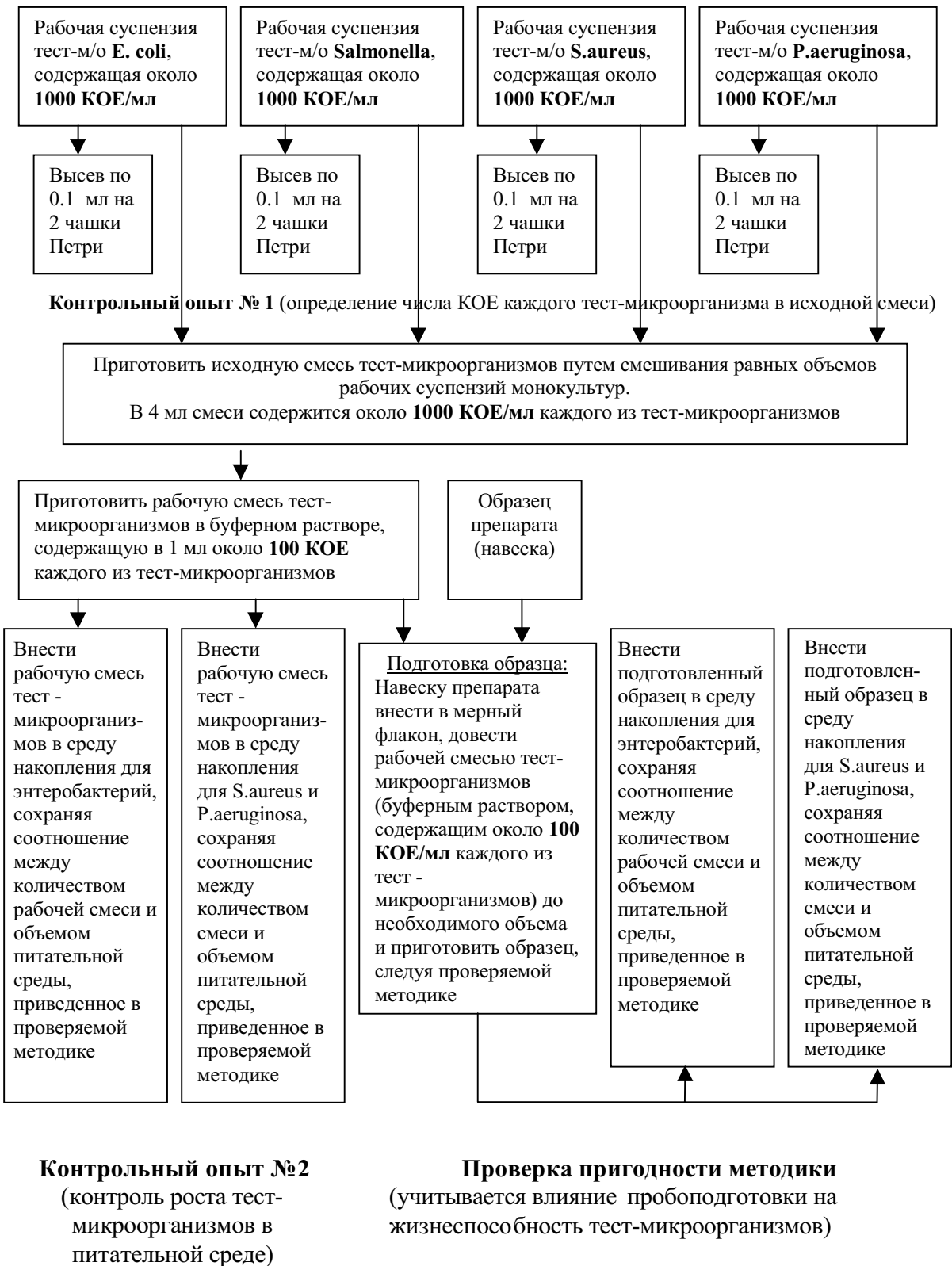
Схема 2



Проверка пригодности методики
(не учитывается влияние пробоподготовки на жизнеспособность тест-микробов)

Проверка пригодности методики испытания на микробиологическую чистоту (испытание на отдельные виды микроорганизмов в соответствии с разделом 2.6.13 ГФУ) при использовании метода прямого посева с предварительной подготовкой образца для испытания

Схема 3



Проверка пригодности методики испытания на микробиологическую чистоту (испытание на отдельные виды микроорганизмов в соответствии с разделом 2.6.13 ГФУ) при использовании метода прямого посева с предварительной подготовкой образца для испытания

100 КОЕ каждого из тест-микроорганизмов на весь объем среды.

Для проведения контрольного опыта № 2 по 0.4 мл исходной смеси тест-микроорганизмов вносят в жидкие питательные среды, не содержащие испытуемого лекарственного средства.

Такая схема исследования формально соответствует крайне скудным указаниям по проверке пригодности методики, имеющимся в Европейской Фармакопее и, соответственно, в ГФУ, однако, она не позволяет учесть влияние пробоподготовки на жизнеспособность микроорганизмов. Положительный результат исследования при использовании данной схемы означает лишь то, что концентрация препарата, создающаяся в питательной среде при проведении испытания, не оказывает антимикробного действия на тест-микроорганизмы. При этом положительный результат будет получен даже в том случае, если в реальных условиях проведения испытания микроорганизмы погибнут на стадии пробоподготовки из-за высокой концентрации препарата в фосфатном буферном растворе. Таким образом, методика, которая формально соответствует критерию пригодности ГФУ, в реальных условиях испытания на отдельные виды микроорганизмов может дать ложноотрицательные результаты.

Использование Схемы № 3 при проверке пригодности методики позволяет учесть влияние пробоподготовки на жизнеспособность микроорганизмов и, следовательно, избежать получения ложноотрицательных результатов при проведении испытания.

Для этого необходимо приготовить рабочую смесь тест-микроорганизмов, содержащую около 100 КОЕ каждого из тест-микроорганизмов в 1 мл. Рабочую смесь готовят в фосфатном буферном растворе из исходной смеси, при этом соотношение исходной смеси и стерильного буферного раствора должно составлять 4:6. Наиболее удобно готовить рабочую смесь в мерном флаконе, например, 40 мл исходной смеси внести в мерный флакон и довести объем до 100 мл стерильным фосфатным буферным раствором. Полученную рабочую смесь используют для приготовления испытуемого образца. Для этого навеску (объем) испытуемого лекарственного средства вносят в мерный сосуд и доводят до необходимого объема рабочей смесью тест-микроорганизмов (стерильным фосфатным буферным раствором, содержащим око-

ло 100 КОЕ каждого из тест-микроорганизмов в 1 мл). При подготовке образца соотношение между массой навески (объемом образца) и объемом растворителя, способ подготовки образца (суспендирование, эмульгирование, нагревание, механическое встряхивание), используемые эмульгаторы и инактиваторы (наименование и концентрация) и т.д. должны в точности соответствовать той методике, проверка пригодности которой осуществляется. Таким образом, приготовленный образец препарата содержит около 100 КОЕ каждого из тест-микроорганизмов в 1 мл образца. Подготовленный образец вносят в жидкие питательные среды, сохраняя соотношения между объемом образца и питательной среды.

Проводят также контрольный опыт № 2. Для этого рабочую смесь тест-микроорганизмов вносят в жидкие питательные среды. При этом объем рабочей смеси должен быть таким же, как объем испытуемого образца, а объемы питательной среды в контроле и опыте должны быть одинаковыми.

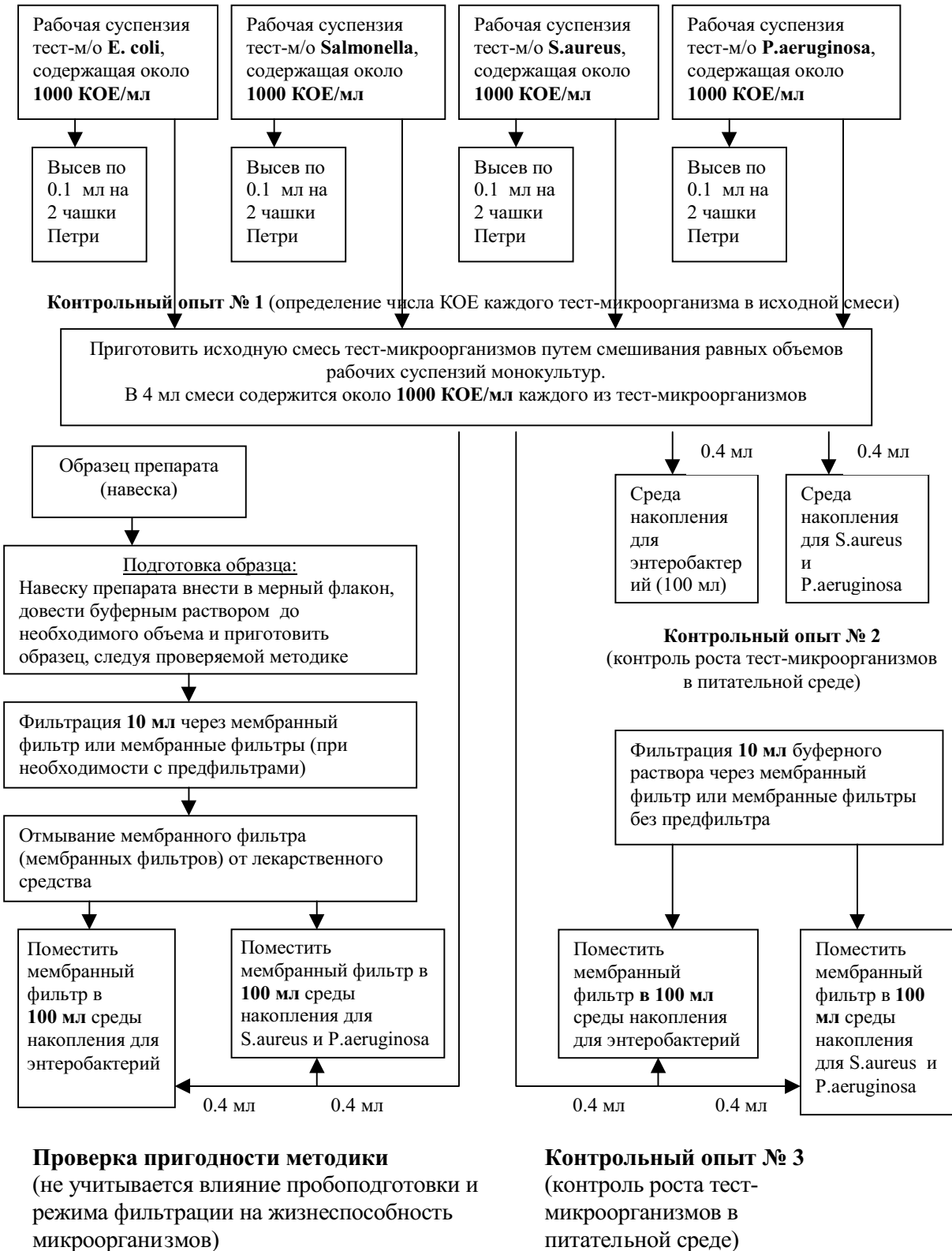
При использовании Схемы № 2 рекомендуем применять масштабирование: при подготовке испытуемого образца навеску препарата уменьшить в 10 раз (например, вместо 10 г использовать 1 г) и соответственно уменьшить объем рабочей смеси тест-микроорганизмов (например, довести объем раствора до 10 мл вместо 100 мл), и затем 1 мл полученного испытуемого образца вносить в питательную среду, сохраняя соотношение между объемом испытуемого образца и питательной среды (например, 1 мл подготовленного образца вносить в 10 мл жидкой питательной среды). Таким образом, на весь объем питательной среды будет приходиться около 100 КОЕ каждого из тест-микроорганизмов. Этот вариант проведения проверки пригодности методики мы считаем оптимальным как при разработке новых методик, так и при проведении апробации.

Возможен также и полномасштабный вариант использования Схемы № 2. При этом следует изменить число микроорганизмов в рабочей смеси тест-микроорганизмов таким образом, чтобы объем испытуемого образца, который переносят в питательную среду, содержал около 100 КОЕ каждого из тест-микроорганизмов (например, 100 КОЕ в 10 мл).

Метод мембранной фильтрации

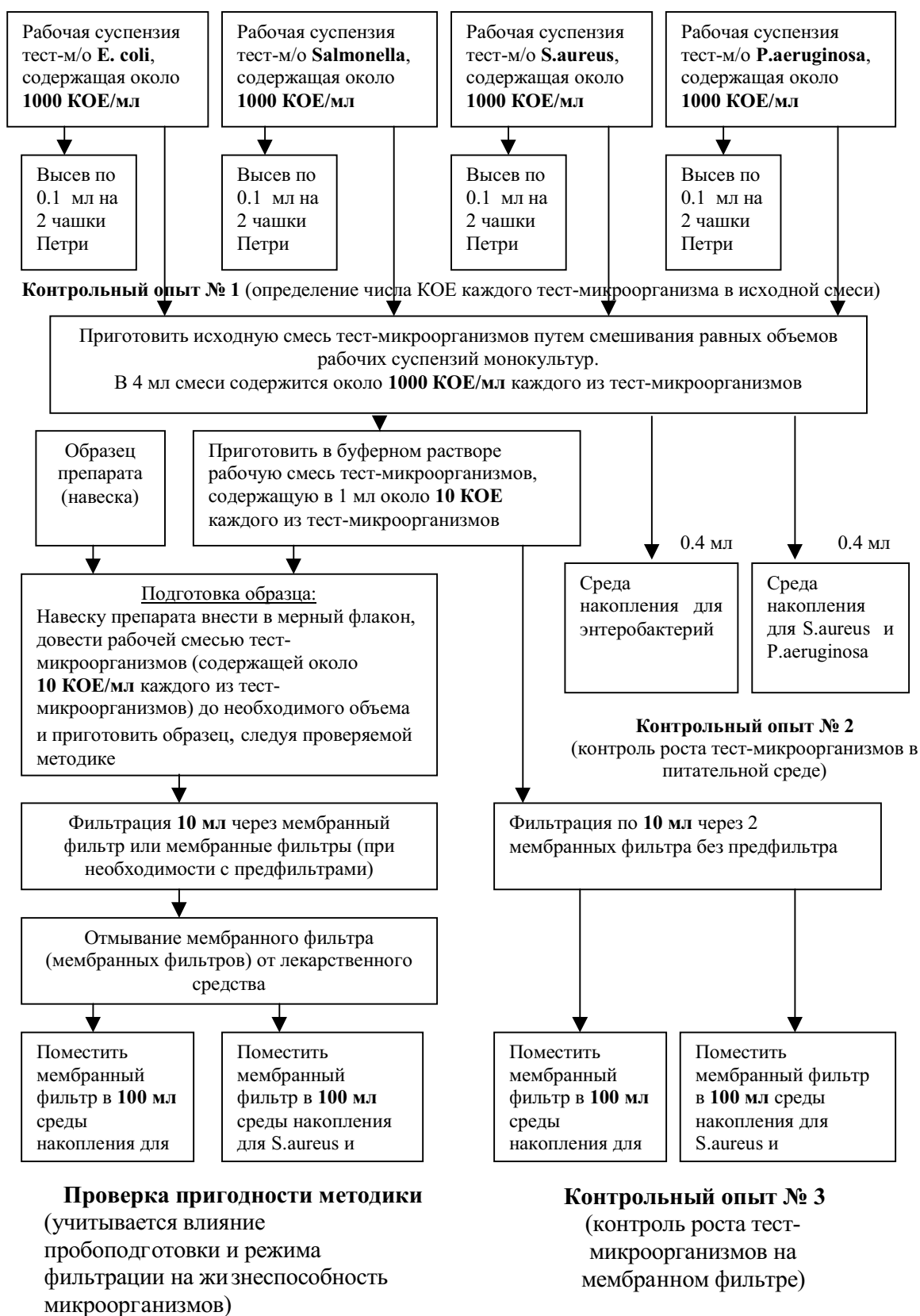
Так же, как и для метода прямого посева здесь возможно использование двух схем ис-

Схема 4



Проверка пригодности методики испытания на микробиологическую чистоту (испытание на отдельные виды микроорганизмов в соответствии с разделом 2.6.13 ГФУ) при использовании метода мембранной фильтрации

Схема 5



Проверка пригодности методики испытания на микробиологическую чистоту (испытание на отдельные виды микроорганизмов в соответствии с разделом 2.6.13 ГФУ) при использовании метода мембранной фильтрации

следования. Схема № 4, которая формально соответствует требованиям Фармакопеи, не позволяет учесть влияние пробоподготовки на жизнеспособность микроорганизмов, что в конечном итоге может привести к ложноотрицательным результатам испытания. Схема № 5 учитывает влияние всех основных факторов, которые могут повлиять на жизнеспособность микроорганизмов в процессе испытания.

При использовании Схемы № 4 готовят образец препарата в стерильном фосфатном буферном растворе, как описано для Схемы № 2. 10 мл подготовленного образца препарата (или другое количество, указанное в методике) фильтруют через мембранный фильтр. Тип мембранного фильтра, скорость фильтрации и материал предфильтра (при условии его использования) должны в точности соответствовать проверяемой методике испытания. После окончания фильтрации проводят все необходимые манипуляции, предусмотренные методикой: удаление или замену предфильтра, отмывание мембранного фильтра, а затем помещают мембранный фильтр в 100 мл (или другой объем, указанный в методике) жидкой питательной среды. Для каждой из двух жидких питательных сред используют отдельный мембранный фильтр. К каждой питательной среде прибавляют по 0.4 мл исходной смеси тест-микроорганизмов, содержащей около 1000 КОЕ в 4 мл.

При использовании данной схемы проводят описанные ниже контрольные опыты. Контрольный опыт № 2 — по 0.4 мл исходной смеси прибавляют к каждой жидкой питательной среде. Контрольный опыт № 3 — 10 мл стерильного фосфатного буферного раствора пропускают через мембранный фильтр, помещают мембранный фильтр в питательную среду и вносят в питательную среду 0.4 мл исходной смеси тест-микроорганизмов. Поскольку, фактически контрольный опыт № 2 и контрольный опыт № 3 дублируют друг друга, может быть проведен только один из них.

Еще раз подчеркиваем, что использование данной схемы исследования фактически только показывает, насколько эффективен использованный режим отмывания мембранных фильтров, но не позволяет учесть все факторы, которые могут повлиять на жизнеспособность микроорганизмов в процессе испытания микробиологической чистоты,

например, влияние пробоподготовки или предварительной фильтрации. Эта схема может быть использована на промежуточном этапе при разработке методики, однако для того, чтобы сделать окончательное заключение о пригодности методики, необходимо использовать Схему № 5.

При использовании Схемы № 5, так же как и при использовании Схемы № 3, необходимо приготовить рабочую смесь тест-микроорганизмов. Рабочую смесь готовят из исходной смеси путем разбавления стерильным фосфатным буферным раствором. Микробная нагрузка в рабочей смеси зависит от объема подготовленного образца, который необходимо пропускать через один мембранный фильтр при проведении испытания. В этом объеме должно содержаться около 100 КОЕ каждого из тест-микроорганизмов. При стандартной методике испытания, когда через мембранный фильтр пропускают 10 мл подготовленного образца препарата, рабочая смесь должна содержать около 100 КОЕ каждого из тест-микроорганизмов в 10 мл. Полученную рабочую смесь используют при подготовке образца, как описано для Схемы № 3.

10 мл подготовленного образца препарата (или другое количество, указанное в методике) фильтруют через мембранный фильтр. Тип мембранного фильтра, скорость фильтрации и материал предфильтра (при условии его использования) должны в точности соответствовать проверяемой методике испытания. После окончания фильтрации проводят все необходимые манипуляции, предусмотренные методикой: удаление или замену предфильтра, отмывание мембранного фильтра, а затем помещают мембранный фильтр в 100 мл (или другой объем, указанный в методике) жидкой питательной среды. Для каждой из двух жидких питательных сред используют отдельный мембранный фильтр.

При использовании данной схемы в дополнение к контрольному опыту № 1 проводят контрольные опыты № 2 и № 3. Контрольный опыт № 2 — по 0.4 мл исходной смеси прибавляют к каждой жидкой питательной среде (контроль роста тест-микроорганизмов в питательной среде). Контрольный опыт № 3 — 10 мл (или другой объем, указанный в методике) рабочей смеси тест-микроорганизмов пропускают через мембранный фильтр и помещают мембранный фильтр в питательную среду (контроль роста тест-микроорганизмов на мембранном фильтре). В отличие от Схе-

мы № 3, необходимы оба контрольных опыта.

Операции, описанные ниже, проводят независимо от использованной схемы исследования.

Все посеы инкубируют в термостате. Продолжительность и температура инкубации жидких питательных сред должны быть такими, как предусмотрено проверяемой методикой испытания. Посевы на чашках Петри (контрольный опыт № 1) инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С от 24 ч. до 48 ч.

По окончании периода инкубации отмечают наличие или отсутствие видимого роста на жидких питательных средах и подсчитывают число колоний каждого тест-микроорганизма, выросших на контрольных чашках, определяя средние арифметические значения для каждой двух параллельных чашек.

Из всех жидких питательных сред делают пересевы на соответствующие плотные дифференциальные среды. Из сред накопления для энтеробактерий делают высевы на питательные среды, предназначенные для идентификации этих тест-микроорганизмов, например, на среды Эндо и ВСА при работе по национальной части раздела. Из сред накопления для золотистого стафилококка и синегнойной палочки — на соответствующие питательные среды для выявления этих микроорганизмов, например, на цетримидный агар или питательную среду № 9 (для выявления *P. aeruginosa*) и агар Байерд-Паркера или среду № 10 (для выявления *S. aureus*). Техника посева должна быть такой, чтобы давать возможность получить рост отдельных колоний на поверхности плотной питательной среды. Инкубируют посеы на плотных дифференциальных средах, отбирают типичные колонии и проводят их микроскопическое изучение. При необходимости могут быть проведены дополнительные биохимические тесты для подтверждения наличия роста каждого из тест-микроорганизмов на плотной питательной среде.

Методика считается пригодной, если для каждого из тест-микроорганизмов подтверждено наличие роста на соответствующей плотной питательной среде.

Выводы

Разработаны схемы проверки пригодности методик испытания на микробиологическую чистоту (испытание на отдельные виды тест-микроорганизмов) при использовании

метода прямого посева и метода мембранной фильтрации.

Предлагаем использовать Схемы № 1, № 3 или № 5 (в зависимости от вида проверяемой методики) при разработке новых методик испытания микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств и проведении апробации методик при проведении предрегистрационного контроля.

Схемы № 2 и № 4 рекомендуется использовать на промежуточных этапах исследований при разработке методик испытания микробиологической чистоты.

Считаем, что только стандартизация методического подхода к проверке пригодности методик контроля микробиологической чистоты лекарственных средств даст возможность получать воспроизводимые результаты в различных лабораториях и давать объективные заключения о пригодности методик при их апробации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жемерова Е.Г., Кобзарь А.И., Хованская Н.П. К вопросу контроля микробиологической чистоты лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ. Сообщение 1. Проверка пригодности методик определения общего числа жизнеспособных аэробных микроорганизмов // Фармаком. — 2002. - № 3. — С. 51-55.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
3. European Pharmacopoeia, 4th ed. - 2002. - P.133-136.
4. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-изд., доп. - М.: Медицина, 1989. — 400 с.
5. The United States Pharmacopoeia, 24 ed. — USPC, 2000. — 2569 p.

Резюме

Жемерова К.Г., Хованська Н.П.

До питання контролю мікробіологічної чистоти лікарських засобів відповідно до вимог ДФУ. Повідомлення 2. Перевірка придатності методик випробування на окремі види мікроорганізмів

Розроблені схеми перевірки придатності методик випробувань на мікробіологічну чистоту (випробування на окремі види мікроорганізмів) при використанні методу прямого висівання і методу мембранної фільтрації. У роботі викладені методичні рекомендації із проведення перевірки придатності методик випробування мікробіологічної чистоти нестерильних лікарських засобів.

Summary

Gemerova E.G., Khovanskaya N.P.

On the matter of drug microbiological purity control in accordance with GFU requirements. Report 2. Control of test on certain microorganism species procedures suitability

The schemes of control of microbiological purity test procedures suitability (test on certain microorganism species) when using the method of direct inoculation on culture media and membrane filtration method were devel-

oped. In this work the methodical recommendations on the microbiological purity of non sterile drugs test procedures suitability control carrying out are stated.

Жемерова Екатерина Георгиевна. Окончила Харьковский государственный университет (1985). И.о. зав. лабораторией микробиологических исследований ГНЦЛС (2002). Вед. науч. сотр.

лаборатории фарманализа ГП "Научно-экспертный фармакопейный центр".

Хованская Наталья Петровна. Окончила Харьковский государственный университет. Работает в ГНЦЛС (с 1970). Зав. лабораторией фармакопейного анализа ГП "Научно-экспертный фармакопейный центр". К.фарм.н. (1992).

Коробов А.И.

д.х.н., профессор химического факультета Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина

Гриздуб А.И.

д.х.н., профессор, зам. директора ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр» по научной работе

Левин М.Г.

д.х.н.

Терно И.С.

к.х.н., ст. науч. сотр. отдела ГФУ ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр»

О проекте общей статьи Государственной Фармакопеи Украины «Статистический анализ результатов химического эксперимента»

Данная статья является национальной и отсутствует в Европейской Фармакопее и других ведущих Фармакопеях. Европейская Фармакопея включает общую статью «5.3. Статистический анализ результатов биологических испытаний и количественных определений» [1] (данная статья будет введена в Дополнение № 1 к ГФУ), полностью посвященную биологическим испытаниям, статистический анализ которых существенно отличается от статистического анализа результатов химических испытаний. В ГФ XI включена общая статья «Статистическая обработка результатов химического эксперимента и биологических испытаний» [2], объединяющая химический и биологический статистический анализ. Однако это совмещение не пошло на пользу статистическому анализу химического эксперимента, ограниченные возможности использования которого остаются слабым звеном отечественных АНД. Таким образом, возникла необходимость в разработке национальной статьи ГФУ, посвященной вопросам статистики результатов химического эксперимента в фармакопейном анализе.

Разработка статьи шла по трем главным направлениям: «традиционный» статистический анализ функции одной случайной переменной, секвенциональный анализ, статисти-

ка функций нескольких случайных переменных.

1. «Традиционный» статистический анализ функции одной случайной переменной

При разработке этого направления проекта статьи за основу была взята общая статья ГФ XI [2], которую модернизировали и расширили с учетом известных руководств по статистике [3-6]. В частности, при рассмотрении метрологических характеристик методик анализа значительное внимание уделено объединению выборок (п. 2.1 и 9.4), введены критерии Кокрена и Бартлета (подразделы 2.1.2 и 2.1.3) для проверки гипотезы равенства дисперсий. Это сделано с целью стимулирования создания надежных аналитических архивов, которые позволяют существенно (и статистически обоснованно) сократить объем эксперимента [7], что особенно важно при серийном анализе в условиях предприятий.

Значительное внимание в проекте статьи уделено расчету и статистической оценке параметров линейной зависимости (раздел 7). Введено понятие значимости коэффициента корреляции (r) и приведены критерии ее оценки (Табл. 11.6), а также дана оценка адекватности линейной модели при помощи остаточной дисперсии s_0^2 . Поскольку линейный

коэффициент корреляции является частным случаем, введен общий индекс корреляции R_c , применимый для любых моделей (в том числе и нелинейных). Данный индекс проще и нагляднее линейного коэффициента корреляции r и особенно удобен при разработке различных критериев.

1.1. Переход на международную терминологию

Важной особенностью проекта данной статьи, по сравнению со статьей ГФ XI, является то, что по всему тексту проекта, в соответствии с [8-9], выражение «погрешность результата» заменено на «неопределенность результата». Это связано с некорректностью прежней формулировки. Погрешности (по ГФ XI - относительные ошибки результатов отдельного определения и среднего результата — $\varepsilon, \bar{\varepsilon}$) — это разности между истинным значением измеряемой величины и значениями, реально наблюдаемыми на практике. Однако величина погрешности как раз и неизвестна при проведении эксперимента (зачем делать эксперимент, если уже известно истинное значение). Получают некоторый доверительный интервал вокруг среднего значения, в котором с определенной вероятностью находится истинное значение. Этот доверительный интервал является не погрешностью результатов (само истинное значение может даже совпадать со средним значением, но это, в принципе, неизвестно), а мерой неопределенности незнания об истинном значении. Например, выражение «погрешность пипетки равна 0.6 %» неверно, поскольку истинное значение объема пипетки может отличаться от паспортного всего лишь на 0.2 %, а производитель гарантирует не более 0.6 % для любой своей пипетки. Если же проведена калибровка пипетки, то мы можем использовать более точное значение объема, уменьшив таким образом неопределенность.

В связи с вышеуказанным, в проекте, по аналогии с международными руководствами по статистике (в частности, [8-9]), принято выражение «неопределенность результата», а не «погрешность результата», а обозначение $\varepsilon, \bar{\varepsilon}$ названо относительными неопределенностями результатов отдельного определения и среднего результата, соответственно (раздел «Принятые обозначения» проекта).

1.2. Относительные величины

Еще одной особенностью проекта данной статьи является введение понятий: относи-

тельная дисперсия (s_r^2), относительное стандартное отклонение (s_r ; RSD), относительное стандартное отклонение среднего результата ($s_{\bar{x},r}$), относительные доверительные интервалы ($\Delta_{x,r}$; $\Delta_{\bar{x},r}$), которые широко применяются в статистическом анализе, но мало описаны в руководствах. В фармакопейном анализе при количественном определении готовых лекарственных средств практически нет необходимости в абсолютных величинах, которые неудобны в расчетах. Например, для таблеток нитроглицерина 0.0005 г, абсолютное стандартное отклонение (s) составляет порядка $10^{-5} - 10^{-6}$ г, а дисперсия (s^2) — порядка $10^{-10} - 10^{-12}$. Оперировать такими величинами неудобно. В то же время, относительное стандартное отклонение составляет порядка 1 %, такого же порядка и его квадрат, что гораздо удобнее. Существенно проще и нагляднее работать и с относительными доверительными интервалами.

1.3. Редакционная переработка

Структура проекта существенно переработана по сравнению с ГФ XI: введены новые разделы и подразделы, дано оглавление. С целью гармонизации формы изложения материала со статьей 5.3. Европейской Фармакопеи по биологической статистике [1], все примеры по разделам 1-7 собраны в одном разделе 9 (исключение составляют, в силу их специфики, расчеты неопределенностей ВЭЖХ-анализа и спектрофотометрического анализа (10.3.2 и 10.3.1) и расчет среднего значения нескольких неравноточных выборок (10.3.3), представленные в разделе 10). Все это существенно упрощает пользование статьей.

Введение новых разделов и подразделов повлекло за собой расширение перечня используемых символов и обозначений, а также изменение некоторых из них по сравнению с ГФ XI (раздел «Принятые обозначения» проекта). Например, после включения обозначения функции плотности вероятности нормального распределения $f(x, \mu, \sigma)$ во избежание путаницы возникла необходимость изменения символа числа степеней свободы (ν вместо f). В связи с введением секвенционального анализа (п. 8 проекта), включено обозначение нулевой и альтернативной гипотез (H_0 ; H_1) и «эффективного» числа степеней свободы (ν_{eff}) (подход Уелча-Сатертуэйта, п. 10.2), а также др.

2. Секвенциональный анализ

Важной особенностью данного проекта является введение нового раздела «Последовательная схема статистического анализа результатов химических измерений» (п. 8 и 9.8 проекта), в котором изложены основные положения секвенционального (последовательного) анализа. Использование этого анализа оправдано в тех случаях, когда каждое измерение является дорогостоящим или трудоемким, и при этом имеется возможность обрабатывать результаты по мере их поступления. При использовании схемы секвенционального анализа сокращается число определений, необходимых для принятия решения. Частный случай последовательной схемы анализа — метод с двукратной выборкой — используется в фармакопейном анализе, например, при контроле однородности дозирования и в тесте «Растворение» [10-11]. В последние годы все более широкое применение находит и использование секвенционального анализа, что обусловлено развитием вычислительной техники и культуры экспериментальных исследований. Введение данного метода в Фармакопею должно стимулировать развитие этого важного направления в контроле качества лекарственных средств.

3. Статистический анализ функции нескольких случайных переменных

Как уже говорилось выше, за основу нами была взята соответствующая общая статья ГФ XI [2]. Однако в процессе работы над данной статьей все более очевидной становилась неактуальность «традиционных» подходов разделов 1-6 для статистической обработки результатов фармакопейного анализа. Главной причиной является то, что «традиционные» разделы 1-6 рассматривают статистический анализ функции только одной случайной переменной и совершенно игнорируют, что этот случай достаточно редко реализуется в фармакопейном анализе, для которого характерна именно статистика функции нескольких случайных переменных.

Подавляющее большинство методик количественного фармакопейного анализа является косвенными, т.е. используют стандартные образцы. Таким образом, определяемая концентрация является функцией, как минимум, двух случайных величин — аналитического сигнала (высота или площадь пика, оптическая плотность и др.) испытуемого и стандартного образца. В рамках статистики функции одной случайной переменной непонятно, как

в данном случае корректно проводить статистическую обработку результатов анализа.

Аналитическая методика обычно состоит из пробоподготовки и конечной аналитической операции, являющихся статистически независимыми по отношению друг к другу. В случае прямых методов анализа эти операции могут быть рандомизованы. В случае же косвенных методов это сделать очень сложно. Если при проведении спектрофотометрии, растворяют навеску в мерной колбе, затем отбирают пипеткой и разбавляют раствор в другой мерной колбе, а затем проводят определение оптической плотности, то для рандомизации всех этапов должны быть измерены оптические плотности $2 \cdot n_m \cdot n_{\text{колба}} \cdot n_{\text{пипетка}} \cdot n_{\text{колба}}$ растворов $n_{\text{сф}}$ раз, где n означает число параллельных определений на каждом этапе. Если принять n равным 3, оптические плотности 162 растворов необходимо измерить по три раза, что практически нереально. В то же время, неопределенности взвешивания и мерной посуды регламентируются соответствующими документами, поэтому, зная экспериментальную неопределенность конечной аналитической операции, можно рассчитать неопределенность всего анализа. Но для этого необходимо использование статистического анализа функций нескольких случайных переменных, который базируется на общих подходах, рассмотренных в главах 1-6, но использует определенные дополнительные допущения.

Как видно, провести корректную статистическую обработку в фармакопейном анализе без статистики функций нескольких случайных переменных невозможно.

Учитывая это, в проект данной статьи включена Глава 10 «Расчет неопределенности функций нескольких случайных переменных».

В разделе 10 описаны два подхода — линейная модель и подход Уэлча-Сатертуэйта. Линейная модель описана, например, в [10] и очень широко применяется в различных приложениях, например в [7, 13-15]. В рамках этой модели достаточно легко решаются многие теоретические и практические вопросы [7, 13-15] (в частности, просто получается взвешенное среднее — уравнение (10.8)), она соответствует принципу прозрачности — возможные сделанные ошибки легко отслеживаются.

Подход Уэлча-Сатертуэйта сложнее линейной модели, применяя его сложно делать

какие-либо прогнозы и использовать архивные данные (в частности, объединение выборок). Данный подход не соответствует принципу прозрачности (в частности, применяя его достаточно сложно отследить сделанные ошибки), но этот подход дает более узкие доверительные интервалы (в частности, Пример 10.3.1) и, возможно, поэтому является основным в различных международных руководствах, в частности, в [8-9].

В разделе 10 приведены основные принципы этих двух подходов и даны примеры наиболее практически важных расчетов: расчет неопределенности ВЭЖХ-анализа готового лекарственного средства (10.3.1), прогноз неопределенности спектрофотометрического анализа готового лекарственного средства (10.3.2), расчет среднего значения нескольких неравноточных выборок (10.3.3). Учитывая существенное отличие статистического анализа нескольких случайных переменных от «традиционного» статистического анализа функции одной случайной переменной, примеры по ней не вынесены в раздел 9, а даны прямо в разделе 10.

Следует отметить пример 10.3.1, в котором подробно рассмотрены расчеты неопределенностей конечной аналитической операции и пробоподготовки, а также суммарной неопределенности анализа с использованием как линейной модели, так и подхода Уэлча-Сатертуэйта. В рамках линейной модели рассмотрено и использование объединенной дисперсии с целью уменьшения неопределенности результатов.

В Примере 10.3.2 рассмотрен прогноз неопределенности спектрофотометрического анализа готового лекарственного средства. Без такого прогноза невозможно проведение корректной валидации аналитических методик. Он позволяет также определить аналитические операции, вносящие наибольший вклад в суммарную неопределенность методики анализа (в рассмотренном примере это пробоподготовка).

В Примере 10.3.3 рассмотрено получение среднего значения нескольких неравноточных выборок. Такая проблема возникает, например, при проведении межлабораторных испытаний или при объединении результатов, полученных разными неравноточными методами (например, титрование и хроматография).

4. Табличный материал

В Приложение (раздел 11), по сравнению

с ГФ XI, добавлено 3 новых таблицы, которые широко используются в фармакопейном химическом анализе:

Табл. 11.3. Процентные точки распределения $\chi^2(P, \nu)$,

Табл. 11.4. Критерий Кокрена,

Табл. 11.6. Процентные точки выборочного коэффициента корреляции r .

«Числовые значения коэффициента Стьюдента $t(p, \nu)$ » (Таблица 11.2) и «Процентные точки распределения Фишера ($F(P, \nu_1, \nu_2)$ – распределения)» (Табл. 11.5) представлены в расширенном виде.

Следует отметить, что Табл. 11.2 и 11.5 уже описаны в общей статье «5.3. Статистический анализ результатов биологических испытаний и количественных определений», однако, представление их очень неудобно для химиков, поэтому целесообразно было дать их в данной общей статье в привычном для химиков виде.

Табличный материал взят из известного источника [16].

Таким образом, в представленном проекте предпринята попытка охватить большинство вопросов статистического анализа результатов химического эксперимента при контроле качества лекарственных средств. В подобном обобщенном виде данный материал не имеет аналогов в других Фармакопеях и не встречается в учебных пособиях по статистике. Авторы надеются, что он окажет помощь пользователям Государственной Фармакопеи Украины.

Авторы выражают благодарность профессору А.Б. Бланку (НИИ «Монокристаллы», г. Харьков) и Центральной лаборатории по анализу качества лекарственных средств МОЗ Украины (г. Киев) за помощь в рецензировании и доработке проекта статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. 5.3. Statistical analysis of results of biological assays and tests // European Pharmacopoeia, 4th Ed. - Strasbourg, 2002. - P. 427-456.
2. Государственная Фармакопея СССР XI: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР - 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1987. - С. 199 - 251.
3. Налимов В.В. Применение математической статистики при анализе вещества. - М.: Физматгиз, 1960.
4. Дюерфель К. Статистика в аналитической химии. - М.: Мир, 1994.
5. Чарыков А.К. Математическая обработка результатов химического анализа. - Ленинград: Химия, 1984. - 168 с.
6. Вальд А. Последовательный анализ. - М.: Физматгиз, 1960.
7. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Доценко Т.Н., Денисенко Н.В. Метрологические аспекты официальных мето-

дик контролю качества лекарственных средств. 3. Выполнение теста «Количественное определение» при одновременном контроле качества нескольких образцов лекарственных средств хроматографическими методами // Фармаком. — 2002. - № 4. — С. 6-14.
 8. Barry N. Taylor, Chris E. Kuyatt. Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results. By and. — NIST Nechnical Note 1297, 1994 Edition (Appendix B).
 9. Quantifying uncertainty in analytical measurements. Eurachem / Citac Guide. Second Edition. Quam: 2000.P1 — 120 p.
 10. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Харків: PIPEГ, 2001. — С. 158-160.
 11. Там же. — С. 153-157.
 12. Шенк Х. Теория инженерного эксперимента. — М.: Мир, 1972. - 380 с.

13. Гризодуб А.И., Левин М.Г., Леонтьев Д.А., Георгиевский В.П. Стандартизация хроматографического анализа лекарственных средств. Сообщение 1. Метрологические аспекты применения высокоэффективной жидкостной хроматографии // Фармаком. - 1995. - № 7. - С. 8-19.
 14. Гризодуб А.И., Подпрудников Ю.В., Федюкина Н.В., Георгиевский В.П. Количественный учет априорно известной информации методом наименьших квадратов // Журн. аналитической химии. - 1993. - Т. 48, № 4. - С. 599-609.
 15. Гризодуб А.И., Левин М.Г., Леонтьев Д.А., Вырова Е.В., Доценко Т.Н., Георгиевский В.П. Аттестация стандартных образцов для количественного хроматографического анализа лекарственных средств // Фармаком. — 1999. - № 2. - С. 46-51.
 16. Большев Л.Н., Смирнов Н.В. Таблицы математической статистики. - Москва: Наука, 1983. - 415 с.

ПРОЕКТ

**СТАТИСТИЧНИЙ АНАЛІЗ
РЕЗУЛЬТАТІВ ХІМІЧНОГО
ЕКСПЕРИМЕНТУ^N**

Зміст

1. ВИБІРКА

- 1.1. Середнє значення та дисперсія
- 1.2. Перевірка однорідності вибірки.
Виключення значень варіант, що випадають
- 1.3. Довірчі інтервали й оцінка їхньої величини
- 1.4. Однобічні та двобічні довірчі інтервали

**2. МЕТРОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ
МЕТОДИКИ АНАЛІЗУ**

- 2.1. Об'єднання вибірок
 - 2.1.1. Об'єднана дисперсія й об'єднане середнє
 - 2.1.2. Критерій Бартлета
 - 2.1.3. Критерій Кокрена
- 2.2. Перевірка наявності значущої систематичної похибки

**3. ПОРІВНЯННЯ ДВОХ МЕТОДИК
АНАЛІЗУ ЗА ВІДТВОРЮВАНІСТЮ**

**4. МЕТРОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА
СЕРЕДЬНОГО РЕЗУЛЬТАТУ**

**5. ПОРІВНЯННЯ СЕРЕДНІХ РЕЗУЛЬТАТІВ
ДВОХ ВИБІРОК**

- 5.1. Розходження дисперсій S_1^2 і S_2^2
статистично невірні

- 5.2. Розходження дисперсій S_1^2 і S_2^2
статистично вірогідно

- 5.3. Відоме точне значення величини А

**6. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ АНАЛІЗУ,
ОДЕРЖАНИХ ЗА ДОПОМОГОЮ
МЕТРОЛОГІЧНО АТЕСТОВАНОЇ
МЕТОДИКИ**

- 6.1. Оцінка збіжності результатів паралельних випробувань
- 6.2. Визначення необхідного числа паралельних випробувань
- 6.3. Гарантія якості продукції

**7. РОЗРАХУНОК І СТАТИСТИЧНА ОЦІНКА
ПАРАМЕТРІВ ЛІНІЙНОЇ ЗАЛЕЖНОСТІ**

**8. ПОСЛІДОВНА СХЕМА
СТАТИСТИЧНОГО АНАЛІЗУ
РЕЗУЛЬТАТІВ ХІМІЧНИХ ВИМІРІВ**

9. ПРИКЛАДИ

- 9.1. Обчислення середнього значення та дисперсії
- 9.2. Перевірка однорідності малої вибірки
- 9.3. Обчислення довірчих інтервалів і невизначеностей вимірів
- 9.4. Перевірка гіпотези рівності дисперсій
 - 9.4.1. Об'єднання результатів вибірок, різних за обсягом
 - 9.4.2. Об'єднання результатів вибірок, рівних за обсягом
- 9.5. Порівняння двох методик аналізу за відтворюваністю
- 9.6. Порівняння середніх результатів двох вибірок

- 9.7. Оцінка якості продукції
 9.8. Контроль вмісту кислоти саліцилової в спирті саліциловому за допомогою секвенціонального аналізу

10. РОЗРАХУНОК НЕВИЗНАЧЕНОСТІ ФУНКЦІЇ ДЕКІЛЬКОХ ВИПАДКОВИХ ЗМІННИХ

- 10.1. Лінійна модель
 10.1.1. Зважене середнє
 10.2. Підхід Уелча-Сатертуейта
 10.3. Приклади розрахунків невизначеності функції декількох змінних
 10.3.1. Розрахунок невизначеності аналізу готового лікарського засобу за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)
 10.3.2. Прогноз невизначеності спектрофотометричного аналізу готового лікарського засобу
 10.3.3. Розрахунок середнього значення декількох нерівноточних вибірок

11. ДОДАТОК

- Таблиця 11.1. Числові значення контрольного критерію $Q(P, n)$
 Таблиця 11.2. Числові значення критерію Стьюдента $t(p, v)$
 Таблиця 11.3. Відсоткові точки розподілу $\chi^2(P, n)$
 Таблиця 11.4. Критерій Кокрена
 Таблиця 11.5. Відсоткові точки розподілу Фішера ($F(P, v_1, v_2)$) – розподіл
 Таблиця 11.6. Відсоткові точки вибіркового коефіцієнта кореляції r

ПРИЙНЯТІ ПОЗНАЧЕННЯ

У цій статті для переважного використання прийняті такі позначення:
 A – вимірювана величина;
 a – вільний член лінійної залежності;
 b – кутовий коефіцієнт лінійної залежності;
 F – критерій Фішера;
 $f(x, \mu, \sigma)$ – функція щільності ймовірності нормального розподілу;
 H_0 – нульова гіпотеза;
 H_1 – альтернативна гіпотеза;
 i – порядковий номер варіанти;
 L – фактор, використовуваний при оцінці збіжності результатів паралельних випробувань;
 m, n – обсяги вибірки;

P – довірна ймовірність без конкретизації постановки завдання;
 P_2, P_1 – довірна ймовірність, відповідно, відповідно при дво- й однобічній постановці завдання;
 Q_1, Q_n – контрольні критерії для ідентифікації грубих похибок;
 R – розмах варіювання;
 R_c – загальний індекс кореляції;
 r – (лінійний) коефіцієнт кореляції;
 $RSD = s_r \cdot 100\%$ – відносне стандартне відхилення, у відсотках;
 $RSD_{\bar{x}} = s_{\bar{x}, r} \cdot 100\%$ – відносне стандартне відхилення середнього результату, у відсотках;
 s – стандартне відхилення;
 s_r – відносне (по відношенню до середнього результату) стандартне відхилення;
 s^2 – дисперсія;
 s_r^2 – відносна дисперсія;
 $S_{\bar{x}}$ – стандартне відхилення середнього результату;

$S_{\bar{x}, r}$ – відносне (по відношенню до середнього результату) стандартне відхилення середнього результату;
 s_{lg} – логарифмічне стандартне відхилення;
 S_{lg}^2 – логарифмічна дисперсія;
 $S_{lg, \bar{x}}$ – логарифмічне стандартне відхилення середнього результату;

S_0^2, S_b^2, S_a^2 – загальна дисперсія та дисперсія коефіцієнтів лінійної залежності;
 t – критерій Стьюдента;
 U – коефіцієнт для розрахунку меж середнього результату гарантії якості аналізованого продукту;
 x, y – поточні координати в рівнянні лінійної залежності;
 X_i, Y_i – значення змінних x та y , обчислені з рівняння лінійної залежності;
 \bar{x}, \bar{y} – середні значення вибірки (координати центра лінійної залежності);
 x_i, y_i – i -та варіанта (i -та пара експериментальних значень x та y);
 $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$ – граничні значення довірчого інтервалу середнього результату;
 $x_i \pm \Delta_{x_i}$ – граничні значення довірчого інтервалу результату одиничного визначення;
 Δ – різниця деяких величин;
 α – рівень значущості, ступінь надійності;
 похибка першого роду (ймовірність прийнят-

тя гіпотези H_1 , у той час як насправді вірна гіпотеза H_0);

β - похибка другого роду (ймовірність прийняття гіпотези H_0 , у той час як насправді вірна гіпотеза H_1);

γ — критична статистика;

Δ_x — напівширина довірчого інтервалу одиничного визначення;

Δ_x^- — напівширина довірчого інтервалу середнього результату;

$\Delta_{x,r}$ — напівширина відносного довірчого інтервалу одиничного визначення;

$\Delta_{x,r}^-$ — напівширина відносного довірчого інтервалу середнього результату;

$\Delta_{As,r}$ — сумарна невизначеність аналізу;

$\Delta_{FAO,r}$ — невизначеність кінцевої аналітичної операції;

$\Delta_{RS,r}$ - невизначеність атестації стандартного зразка;

$\Delta_{SP,r}$ - невизначеність пробопідготовки;

δ — відносна величина систематичної похибки;

$\varepsilon, \bar{\varepsilon}$ — відносні невизначеності, відповідно, результату окремого визначення і середнього результату;

μ — справжнє значення вимірюваної величини;

ν — число ступенів свободи; перемінний обсяг вибірки при послідовному аналізі;

ν_{eff} — «ефективне» число ступенів свободи в підході Уелча-Сатертуейта;

Σ — знак підсумовування (сума);

σ^2 — дисперсія генеральної сукупності;

χ^2 — критерій χ^2 -квадрат.

Метрологічні характеристики методик і результатів, одержуваних при статистичній обробці даних експерименту, дозволяють проводити оцінку та порівняння як експериментальних методик, так і досліджуваних об'єктів, і на цій підставі розв'язувати низку прикладних задач, пов'язаних із визначенням статистичної вірогідності результатів випробування. Зокрема, описані нижче статистичні підходи та метрологічні характеристики використовують при валідації розроблених методик і для оцінки коректності одержаних результатів аналізу.

У главах 1-9 викладені підходи, що застосовують при статистичному аналізі результатів, які є функцією однієї випадкової змінної. Застосування цих підходів для функції декількох випадкових змінних описано в розділі 10. У розділі 11 наведені необхідні статистичні таблиці.

При викладенні матеріалу використовуються терміни, прийняті у статті "Валідація аналітичних методик і випробувань".

1. ВИБІРКА

Терміном «вибірка» позначають сукупність статистично еквівалентних результатів (варіант). Як таку сукупність можна, наприклад, розглядати ряд результатів, одержаних при паралельних випробуваннях вмісту якої-небудь речовини в однорідній за складом пробі. Окремі значення варіант вибірки обсягом n прийнято позначати через x_i ($1 \leq i \leq n$). Упорядкована у порядку зростання вибірка може бути подана у вигляді

$$x_1; x_2; \dots; x_i; \dots; x_{n-1}; x_n \quad (1.1)$$

Результати, одержані при статистичній обробці вибірки, будуть вірогідні лише, якщо ця вибірка однорідна. Перевірка однорідності вибірки обговорюється в розділі 1.2. Але, якщо метою випробувань є перевірка однорідності серії препарату (наприклад, при проведенні випробування "Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу"), оцінюють усі одержані результати (значення варіант) без попередньої перевірки однорідності вибірки.

1.1. Середнє значення та дисперсія. У більшості випадків середнє вибірки \bar{x} є найкращою оцінкою справжнього значення вимірюваної величини μ , якщо його обчислюють як середнє арифметичне усіх варіант:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (1.2)$$

При цьому розкид варіант x_i навколо середнього \bar{x} характеризується величиною стандартного відхилення s . У кількісному хімічному аналізі величина s часто розглядається як міра випадкової похибки, властивій даній методиці аналізу. Квадрат цієї величини s^2 називають дисперсією. Величина дисперсії може розглядатися як міра відтворюваності (збіжності) результатів, поданих у даній вибірці. Обчислення величин s^2 і s проводять за рівняннями 1.5 і 1.6. Іноді для цього попередньо визначають значення відхилень d_i і число ступенів свободи (число незалежних варіант) ν :

$$d_i = x_i - \bar{x} \quad (1.3)$$

$$\nu = n - 1 \quad (1.4)$$

$$s^2 = \frac{\sum_1^n d_i^2}{v} = \frac{\sum_1^n x_i^2 - n \cdot \bar{x}^2}{v} \quad (1.5)$$

$$s = \sqrt{s^2} \quad (1.6)$$

Стандартне відхилення середнього результату $s_{\bar{x}}$ обчислюють за формулою:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (1.7)$$

Звичайно при контролі якості лікарських засобів доцільно використовувати відносні (по відношенню до \bar{x}) величини — відносне стандартне відхилення s_r , відносну дисперсію s_r^2 і відносне стандартне відхилення середнього результату $s_{\bar{x},r}$. Їх обчислюють за формулами:

$$s_r^2 = \frac{s^2}{\bar{x}^2} \quad (1.5a)$$

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} \quad (1.6a)$$

$$s_{\bar{x},r} = \frac{s_r}{\sqrt{n}} \quad (1.7a)$$

Ці відносні величини, у залежності від розв'язуваної задачі, можуть виражатися також і у відсотках до \bar{x}). У цьому разі вони часто позначаються, відповідно, як RSD і RSD_x^- :

$$RSD = s_r \cdot 100 \% \quad (1.6b)$$

$$RSD_x^- = s_{\bar{x},r} \cdot 100 \% \quad (1.7b)$$

У фармакопейному аналізі абсолютні величини звичайно використовують для прямих, а відносні - для непрямих методів аналізу.

Приклад обчислень наведений у розділі 9.1. Якщо при вимірах одержують логарифми шуканих варіант, середнє вибірки обчислюють як середнє геометричне, використовуючи логарифм варіант:

$$\lg \bar{x}_g = \frac{\sum_1^n \lg x_i}{n}, \quad (1.8)$$

звідки:

$$\bar{x}_g = \sqrt[n]{x_1 \cdot x_2 \dots x_n} = \text{antilg}(\lg \bar{x}_g) \quad (1.9)$$

Значення s^2 , s і $s_{\bar{x}}$ у цьому разі також розраховують, виходячи з логарифмів варіант, і позначають відповідно через s_{lg}^2 , s_{lg} і $s_{lg\bar{x}}$.

1.2. Перевірка однорідності вибірки. Виключення значень варіант, що випадають. Як було зазначено вище, значення \bar{x} , s^2 , s і $s_{\bar{x}}$ можуть бути визнані вірогідними, якщо жодна з варіант вибірки не обтяжена грубою похибкою, тобто якщо вибірка однорідна. Виявлення грубих похибок — дуже делікатне завдання, щодо якого в літературі немає єдиної усталеної думки (див. розділ 7.3. статті 5.3. *Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань і кількісних визначень*). Це особливо стосується вибірок зовсім малих за обсягом (3-5 вимірів). Перевірку таких вибірок на однорідність доцільно проводити тільки в тому разі, якщо методика метрологічна атестована (див. розділ 6.1). Нижче наводяться підходи, що найчастіше використовують для перевірки однорідності вибірок малих ($n \leq 10$) та великих ($n > 10$) за обсягом.

Перевірка однорідності вибірок малих за обсягом ($n \leq 10$) здійснюється без попереднього обчислення статистичних характеристик. Із цією метою після подання вибірки у вигляді (1.1) для крайніх варіант x_1 і x_n (які передбачаються такими, що випадають) розраховують значення контрольного критерію Q , виходячи зі значення розмаху варіювання R :

$$R = \begin{cases} |x_1 - x_n| & \text{для } n = 3 \dots 7 \\ |x_1 - x_{n-1}| & \text{для } n = 8 \dots 10 \end{cases} \quad (1.10)$$

$$Q_1 = \frac{|x_1 - x_2|}{R} \quad (1.11a)$$

$$Q_n = \frac{|x_n - x_{n-1}|}{R} \quad (1.11b)$$

Вибірка визнається неоднорідною, якщо хоча б одне з обчислених значень Q_1 чи Q_n перевищує табличне значення $Q(P_i, n)$, знайдене для довірчої імовірності P_i (див. Табл. 11.1 Додатка). Варіанти x_1 або x_n , для яких відповідне значення $Q > Q(P_i, n)$, відкидають, і для одержаної вибірки зменшеного обсягу виконують новий цикл обчислень за рівняннями 1.10 і 1.11 із метою перевірки її однорідності.

При $|x_1 - x_2| < |x_2 - x_3|$ і $|x_n - x_{n-1}| < |x_{n-1} - x_{n-2}|$ рівняння 1.11a і 1.11b приймають вид:

$$Q_1 = \frac{|x_2 - x_3|}{R}; \quad Q_n = \frac{|x_{n-1} - x_{n-2}|}{R}; \quad (1.12)$$

Одержану в кінцевому підсумку однорідну вибірку використовують для обчислення \bar{x} , s^2 , s і $s_{\bar{x}}$.

Приклад обчислень наведений у розділі 9.2.

Для вибірок, великих за обсягом ($n > 10$), перевірку однорідності проводять після попереднього обчислення статистичних характеристик \bar{x} , s^2 , s і $s_{\bar{x}}$. При цьому вибірка визнається однорідною, якщо для усіх варіант (1.3) виконується умова:

$$|d_i| \leq 3s \quad (1.13)$$

Якщо вибірка визнана неоднорідною, варіанти, для яких $|d_i| \leq 3s$, відкидають, як обтяжені грубими похибками з довірчою ймовірністю $P_2 > 99.0\%$. У цьому разі для одержаної вибірки скороченого обсягу повторюють цикл обчислень статистичних характеристик за формулами 1.2-1.7 і знову проводять перевірку однорідності. Обчислення статистичних характеристик вважають закінченим, коли вибірка скороченого об'єму виявляється однорідною.

1.3. Довірчі інтервали й оцінка їх величини.

Якщо випадкова однорідна вибірка кінцевого обсягу n одержана в результаті послідовних вимірів деякої величини A , що має справжнє значення μ , середнє цієї вибірки \bar{x} слід розглядати лише як наближену оцінку A . Вірогідність цієї оцінки характеризується величиною довірчого інтервалу $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$, для якої з заданою довірчою ймовірністю P виконується умова:

$$(\bar{x} - \Delta_{\bar{x}}) \leq \mu \leq (\bar{x} + \Delta_{\bar{x}}) \quad (1.14)$$

Слід зазначити, що даний довірчий інтервал не характеризує (як це нерідко вважається) похибку визначення величини μ , оскільки знайдена величина \bar{x} може бути насправді дуже близькою до справжнього значення μ . Але справжнє значення невідоме. Одержаний довірчий інтервал характеризує ступінь невизначеності наших знань про справжнє значення μ величини A за результатами послідовних вимірів вибірки кінцевого обсягу n .

Розрахунок граничних значень довірчого інтервалу при відомім значенні стандартного відхилення s або для вибірок великих за обсягом проводять за рівнянням:

$$(\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}) = \bar{x} \pm \frac{U(P) \cdot s}{\sqrt{n}}, \quad (1.15)$$

припускаючи, що варіанти, що входять до вибірки, розподілені нормально. При цьому $U(P)$ – табличне значення функції нормального розподілу.

Для вибірок невеликих за обсягом граничні значення довірчого інтервалу розраховують із використанням критерію Стьюдента:

$$(\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}) = \bar{x} \pm \frac{t(P, \nu) \cdot s}{\sqrt{n}} \quad (1.16)$$

або з використанням відносних величин:

$$\left(1 \pm \frac{\Delta_{\bar{x}}}{\bar{x}}\right) = (1 \pm \Delta_{\bar{x},r}) = 1 \pm \frac{t(P, \nu) \cdot s_r}{\sqrt{n}}, \quad (1.16a)$$

де:

$t(P, \nu)$ - табличне значення критерію Стьюдента (див. Табл. 11.2). Розподіл Стьюдента $t(P, \nu)$ є узагальненням нормального розподілу $U(P)$ і переходить у нього при досить великому числі ступенів свободи ν , тобто $t(P, \nu) \rightarrow U(P)$. Із урахуванням цього для уніфікації далі скрізь буде використовуватися більш часто уживані співвідношення (1.16) і (1.16a), навіть якщо йдеться про обробку досить великих вибірок.

Напівширини відносних довірчих інтервалів одиничного ($\Delta_{x,r}$) і середнього ($\Delta_{\bar{x},r}$) результатів часто виражають у відсотках до \bar{x} . У цьому разі у виразі (1.16a) замість величини s_r використовують RSD , а замість 1 беруть 100%, тобто:

$$(100 \pm \Delta_{\bar{x},r} \%) = 100 \pm \frac{t(P, \nu) \cdot RSD}{\sqrt{n}} \quad (1.16b)$$

Якщо при вимірі тією ж самою методикою двох близьких значень A були одержані дві випадкові однорідні вибірки обсягом n і m , то при $m < n$ для вибірки обсягом m справедливий вираз:

$$\bar{x}_{(m)} \pm \Delta_{x(m)} = \bar{x}_{(m)} \pm \frac{t(P, \nu_{(n)}) \cdot S_{(n)}}{\sqrt{m}} \quad (1.17)$$

(індекс означає приналежність величин до вибірки обсягом m або n).

Вираз 1.17 дозволяє оцінити величину довірчого інтервалу середнього $\bar{x}_{(m)}$, знайденого, для вибірки обсягом m . Інакше кажучи, довірчий інтервал середнього $\bar{x}_{(m)}$ вибірки відносно малого обсягу m може бути звужений завдяки використанню відомих величин $s_{(n)}$ і $t(P, \nu_{(n)})$, знайдених раніше для вибірки більшого обсягу n . Більш загальним підходом для звуження довірчого інтервалу є об'єднан-

ня вибірок із розрахунком об'єднаного стандартного відхилення та ступенів свободи за рівняннями (2.1-2.2). Це стандартне відхилення із відповідний об'єднаному числу ступенів свободи критерій Стьюдента підставляються потім у вираз (1.17).

Аналогічно (1.14-1.16) визначають довірчий інтервал окремого визначення. Підставляючи $n=1$ у вираз 1.16, мають:

$$x_i \pm \Delta_x = x_i \pm t(P, \nu) \cdot s \quad (1.18)$$

або, з використанням відносних величин:

$$\frac{x_i}{\bar{x}} \pm \Delta_{x,r} = \frac{x_i}{\bar{x}} \pm t(P, \nu) \cdot s_r \quad (1.18a)$$

Цей інтервал є довірчим інтервалом результату окремого визначення. Для нього з довірчою ймовірністю P виконуються взаємозалежні умови:

$$x_i - \Delta_x \leq \mu \leq x_i + \Delta_x \quad (1.19)$$

$$\mu - \Delta_x \leq x_i \leq \mu + \Delta_x \quad (1.20)$$

Значення $\Delta_{\bar{x}}$ і Δ_x із виразів 1.16 і 1.18 використовують при обчисленні відносних невизначеностей окремої варіанти (ε) і середнього результату (ε), виражаючи ці величини у відсотках:

$$\varepsilon = \Delta_{x,r} \cdot 100 = \frac{\Delta_x}{\bar{x}} \cdot 100 \% \quad (1.21)$$

$$\bar{\varepsilon} = \Delta_{x,r} \cdot 100 = \frac{\Delta_{\bar{x}}}{\bar{x}} \cdot 100 \% \quad (1.21a)$$

Приклад обчислень, наведений у відсотках, 9.3.

Якщо при вимірах одержують логарифми вихідних варіант, вирази (1.16) і (1.18) набувають вигляду:

$$\lg \bar{x} \pm \Delta_{\lg \bar{x}} = \lg \bar{x} \pm \frac{t(P, \nu) \cdot s_{\lg}}{\sqrt{n}} \quad (1.22)$$

$$\lg x_i \pm \Delta_{\lg x} = \lg x_i \pm t(P, \nu) \cdot s_{\lg} \quad (1.23)$$

Потенціювання виразів (1.22) і (1.23) призводить до несиметричних довірчих інтервалів для значень \bar{x} і x_i :

$$\text{anti} \lg(\lg \bar{x} - \Delta_{\lg \bar{x}}) \leq \bar{x} \leq \text{anti} \lg(\lg \bar{x} + \Delta_{\lg \bar{x}}) \quad (1.24)$$

$$\text{anti} \lg(\lg x_i - \Delta_{\lg x}) \leq x_i \leq \text{anti} \lg(\lg x_i + \Delta_{\lg x}), \quad (1.25)$$

де:

$$\Delta_{\lg \bar{x}} = \frac{t(P, \nu) \cdot s_{\lg}}{\sqrt{n}} \quad (1.26)$$

$$\Delta_{\lg x} = t(P, \nu) \cdot s_{\lg} \quad (1.27)$$

При цьому для нижніх і верхніх меж довірчих інтервалів \bar{x} і x_i маємо:

$$\bar{\varepsilon} = \left[\frac{|\text{anti} \lg(\lg \bar{x} \pm \Delta_{\lg \bar{x}}) - \bar{x}|}{\bar{x}} \right] \cdot 100 \% \quad (1.28a)$$

$$\varepsilon = \left[\frac{|\text{anti} \lg(\lg x_i \pm \Delta_{\lg x}) - x_i|}{x_i} \right] \cdot 100 \% \quad (1.28b)$$

1.4. Однобічні та двобічні довірчі інтервали.

Співвідношення (1.14-1.28) характеризують так звані «двобічні» довірчі інтервали. Вони базуються на двобічному t -розподілі та широко застосовуються при оцінці точності методик і поданні результатів. Однак при рішенні питань гарантії якості продукції (див. розділ 6), а також при контролі серійної продукції, зокрема при контролі якості готових лікарських засобів, нерідко виникає необхідність використання так званих «однобічних» довірчих інтервалів. Наприклад, для готового лікарського засобу межі вмісту активного компонента встановлені 90-110 % від номінального. У процесі аналізу одержане середнє значення вмісту $\bar{x} = 94$ % від номінального значення. Нас цікавить, чи не виходить довірчий інтервал за межі вмісту (90-110 %). Очевидно, що в даному разі цей довірчий інтервал може вийти тільки за нижню межу (90 %), але не за нижню й верхню (110 %) межі одночасно. Питання про можливість виходу справжньої величини μ за верхню межу нас у даному разі не цікавить (у зв'язку з його вкрай низькою ймовірністю). Таким чином, справжнє значення μ знаходиться в інтервалі:

$$\bar{x} - \Delta_{\bar{x}} \leq \mu \leq \infty \quad (1.29a)$$

Аналогічний вираз можна записати для випадку, коли \bar{x} перевищує 100 % (наприклад, $\bar{x} = 105$ %):

$$-\infty \leq \mu \leq \bar{x} + \Delta_{\bar{x}} \quad (1.29b)$$

Співвідношення (1.29a-1.29b) характеризують одnobічні довірчі інтервали, оскільки величина μ ними обмежується лише з одного боку. Це відрізняє їх від співвідношення (1.14), де величина μ обмежується з обох боків. Табличні значення критерію Стюдента для одnobічного і двобічного розподілу наведені в Табл. 11.2. Існує таке співвідношення між двобічним (P_2) і одnobічним (P_1) критеріями Стюдента:

$$t[P_2, v] = t[(2P_1 - 1), v] \quad (1.30)$$

Зокрема, одnobічний критерій Стюдента для ймовірності 0.95 (тобто 95 %) збігається із двобічним критерієм Стюдента для ймовірності 0.90 (тобто 90 %).

Таким чином, P_2 – це імовірність того, що математичне сподівання (або справжнє значення) оцінюваної величини знаходиться у двобічно обмежених інтервалах (1.14-1.28), а P_1 – це імовірність того, що воно знаходиться в одnobічно обмежених інтервалах (1.29-1.30). У літературі (зокрема, у таблицях) нерідко використовують величини (які порізно позначаються) $(1-P_2)$ і $(1-P_1)$, що характеризують імовірність того, що математичне сподівання (або справжнє значення) оцінюваної величини виходить за вищезазначені межі. У багатьох випадках такі величини є більш зручними.

2. МЕТРОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДИКИ АНАЛІЗУ

Метрологічні характеристики методики встановлюють шляхом статистичної обробки однієї вибірки або спільної статистичної обробки декількох вибірок із тієї самої генеральної сукупності. Як такі вибірки можуть використовуватися як дані аналітичного архіву лабораторії, так і результати, одержані спеціально при аналізі зразків із відомим вмістом визначуваного компонента μ . Результати статистичної обробки можуть бути подані у вигляді Табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Метрологічні характеристики методу аналізу

μ	v	\bar{x}	s	P	$t(P, v)$	Δ_x	ϵ
1	2	3	4	5	6	7	8

Звичайно простіше використовувати відносні (стосовно μ) величини. Результати статистичної обробки можуть бути представлені в цьому випадку у вигляді Табл. 2.1а.

Таблиця 2.1а

Метрологічні характеристики методики аналізу

μ	v	\bar{X}/μ	s	s_r	P	$t(P, v)$	$\Delta_{x,r}$	ϵ
1	2	3	4	5	6	7	8	9

2.1. ОБ'ЄДНАННЯ ВИБІРОК

2.1.1. Об'єднана дисперсія й об'єднане середнє. Якщо є g вибірок із однієї генеральної сукупності з порядковими номерами k ($1 \leq k \leq g$), розрахунок дисперсії s^2 слід проводити за формулою:

$$s^2 = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} \sum_{i=1}^{i=n_k} d_{ik}^2}{V_t} = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} [(n_k - 1)s_k^2]}{V_t} = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} \left(\sum_{i=1}^{i=n_k} X_{ik}^2 - n_k \bar{X}_k^2 \right)}{V_t} \quad (2.1)$$

або для відносних величин, зважаючи, що $n_k - 1 = n_k$:

$$s_r^2 = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} v_k \cdot s_{k,r}^2}{V_t} \quad (2.1a)$$

$$RSD_{tot}^2 = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} v_k \cdot RSD_k^2}{V_t} \quad (2.1b)$$

При цьому об'єднане число ступенів свободи v_t дорівнює

$$v_t = \sum_{k=1}^g v_k \quad (2.2)$$

де:

- \bar{x}_k – середнє k -тої вибірки;
- n_k – число варіант у k -тій вибірці;
- v_k – число ступенів свободи в k -тій вибірці;
- x_{ik} – i -та варіанта k -тої вибірки;
- s_k^2 – дисперсія k -тої вибірки;
- $s_{k,r}^2$ – відносна дисперсія k -тої вибірки;
- d_{ik} – відхилення i -тої варіанти k -тої вибірки.

Якщо g вибірок із однієї генеральної сукупності з порядковими номерами k ($1 \leq k \leq g$) характеризуються вибірковими середніми значеннями \bar{x}_k , одержаними з n_k варіант, середнє

значення \bar{x} по усіх вибірках обчислюють за формулою:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} n_k \cdot \bar{x}_k}{\sum_{k=1}^{k=g} n_k} \quad (2.3)$$

Необхідною умовою спільної статистичної обробки декількох вибірок є відсутність статистично значущої різниці між окремими значеннями \bar{x}_k (тобто справедливості гіпотези рівності дисперсій). У найпростішому випадку можна обмежитися порівнянням граничних значень s_k^2 із використанням критерію Фішера F , як зазначено в розділі 3. У більш загальному випадку використовують критерії Бартлета та Кокрена.

2.1.2. Критерій Бартлета. Для перевірки гіпотези, що усі $s_{k,r}^2$ належать до однієї генеральної сукупності, використовують вираз, наближено розподілений як χ^2 :

$$\chi^2 = 2.303 \cdot \left(v_i \cdot \lg s^2 - \sum_{k=1}^g v_k \cdot \lg s_k^2 \right) \quad (2.4)$$

При цьому величини s і v_i обчислюють за формулами (2.1) і (2.2). Знайдену в такий спосіб величину χ^2 порівнюють із відсотковою точкою χ^2 -квадрат розподілу $\chi^2(P_i, v_c)$ (Табл. 11.4 Додатка). Якщо є g вибірок, число ступенів свободи для $\chi^2(P_i, v_c)$ береться рівним $v_x = g - 1$. Перевірювана гіпотеза приймається за умови $\chi^2 < \chi^2(P_i, v_x)$. У противному разі, обчислене значення χ^2 коригують за формулою:

$$\chi^{*2} = \chi^2 / C, \quad \text{зде} \quad C = \frac{\left[\sum_{k=1}^g (1/v_k) \right]^{-1} / v_i}{3(g-1)} + 1 \quad (2.5)$$

і знову порівнюють із відсотковою точкою χ^2 -квадрат розподілу $\chi^2(P_i, v_x)$. Якщо $\chi^{*2} > \chi^2(P_i, v_x)$, між деякими стандартними відхиленнями є значущі розходження. У цьому разі необхідно провести аналіз наявних даних, відкинути одне чи декілька значень дисперсії, що найбільш сильно відрізняються від інших, і знову провести тест Бартлета. Слід мати на увазі, що критерій Бартлета (так же як і критерій Кокрена) дуже чутливий до порушення вимоги нормальності. Але саме тому він може бути дуже корисним при формуванні надійних аналітичних архівів.

Описаний критерій Бартлета застосовний лише за умови, що число ступенів свободи у всіх поєднаних дисперсій більше 3 (тобто всі $v_k > 3$). Однак саме цей випадок нерідко і становить найбільший інтерес. Тому Бартлетом була запропонована більш складна модифікація даного критерію, застосовна при будь-яких ступенях свободи. Однак використання її на практиці досить важко без застосування комп'ютерних програм.

2.1.3. Критерій Кокрена. Якщо всі поєднані дисперсії мають однакове число ступенів свободи (тобто $v_1 = v_2 = \dots = v_g = v$), для перевірки гіпотези рівності дисперсій можна застосовувати значно простіший критерій Кокрена зі статистикою:

$$G = \frac{s_{\max}^2}{\sum_{k=1}^g s_k^2} \quad (2.6)$$

$$s_{\max}^2 = \max(s_k^2)$$

Критичні точки критерію Кокрена наведені в Табл. 11.4 Додатка. Розраховане значення G на обраному рівні значущості (95 % або 99 %) не має перевищувати табличне значення. У противному разі гіпотеза рівності дисперсій не може бути прийнята, і формули (2.1-2.2) об'єднання вибірок не є коректними.

В рівняннях (2.4) і (2.6) замість абсолютних дисперсій s_k^2 можуть використовуватися відносні величини $s_{r,k}^2$ та RSD_k . Приклади застосування критеріїв Бартлета і Кокрена наведені в розділі 9.4.

2.2. Перевірка наявності значущої систематичної похибки. За відомого вмісту визначеного компонента μ у зразку слід вирішити питання про наявність статистично значущої систематичної похибки. Для цього обчислюють критерій Стьюдента t :

$$t = \frac{|\mu - \bar{x}| \cdot \sqrt{m}}{s} \quad (2.7)$$

або у відносних величинах:

$$t = \frac{\left| 1 - \frac{\bar{x}}{\mu} \right| \cdot \sqrt{m}}{s_r} \quad (2.7a)$$

Якщо, наприклад, при $P = 95\%$ і $v = m - 1$ реалізується нерівність

$$t > t(P, n), \quad (2.8)$$

одержані даною методикою результати обтяжені систематичною похибкою, відносну величину якої оцінюють за формулою:

$$\delta = \left| 1 - \frac{\bar{x}}{\mu} \right| \cdot 100\% \quad (2.9)$$

Значущі систематичні похибки (тобто похибки, для яких реалізується нерівність 2.8) мають бути обов'язково виключені з результатів аналізу.

Приклад обчислень наведений у розділі 9.4.

При проведенні спільної статистичної обробки декількох вибірок, одержаних при аналізі зразків із різним вмістом визначуваного компонента μ , дані в графах 1, 2, 3, 4, 7 і 8 Табл. 2.1 наводять окремо для кожної вибірки. При цьому у графах 2, 4, 6, 7 в останньому рядку під ризкою наводять узагальнені значення v , s , t , Δ_x .

Якщо для обчислення метрологічних характеристик методики використовують дані аналітичного архіву, значення μ невідоме і, відповідно, заповнюють не всі графи Табл. 2.1.

3. ПОРІВНЯННЯ ДВОХ МЕТОДИК АНАЛІЗУ ЗА ВІДТВОРЮВАНІСТЮ

Таке порівняння проводять шляхом з'ясування значущості розходження вибірових дисперсій аналізу цих двох методик. У більш загальному випадку, даний підхід застосовують для оцінки значущості розходження двох вибірових дисперсій, наприклад, з метою з'ясування, чи можна їх вважати вибіровими оцінками однієї і тієї самої дисперсії генеральної сукупності.

При порівнянні відтворюваності (збіжності) двох методик аналізу з оцінками дисперсій s_1^2 і s_2^2 ($s_1^2 > s_2^2$) обчислюють критерій Фішера F :

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (3.1)$$

Критерій F характеризує при $s > t$ вірогідність розходження між s_1^2 і s_2^2 .

Обчислене значення F порівнюють із табличним значенням $F(\bar{P}, v_1, v_2)$, знайденим при $\bar{P}=99\%$ (див. Табл. 11.5 Додатка).

Якщо

$$F > F(P_1, v_1, v_2), \quad (3.2)$$

розходження дисперсій s_1^2 і s_2^2 визнається статистично значущим з імовірністю \bar{P} , що дозволяє зробити висновок про більш високу відтворюваність другої методики. При

$$F \leq F(P_1, v_1, v_2) \quad (3.3)$$

розходження значень s_1^2 і s_2^2 не може бути визнане значущим, і висновок про розходження відтворюваності (збіжності) методик не можна зробити через недостатній об'єм інформації. Якщо

$$F(P_1=0.95, v_1, v_2) < F < F(P_1=0.99, v_1, v_2), \quad (3.4)$$

доцільно провести подальші експериментальні дослідження для методики із кращою відтворюваністю.

При порівнянні двох методик аналізу результати статистичної обробки можуть бути подані у вигляді Табл. 3.1. Порівняння бажано проводити при $\mu_1 = \mu_2$, $v_1 > 10$ і $v_2 > 10$. Якщо точні значення μ_1 і μ_2 невідомі, величини δ і $t_{обч}$ не визначають.

Якщо при вимірах одержують логарифми вихідних варіант, замість величин μ , \bar{x} і s у Табл. 3.1 наводять величини $lg\mu$, $lg\bar{x}_g$ і s_g . При цьому у графу 8 вносять величину Δ_{lgx} , а у графу 9 – максимальне за абсолютною величиною значення ϵ . Аналогічні заміни проводять при обчисленні t за рівнянням (2.7) і F за рівнянням (3.1).

Приклад обчислень наведений у розділі 9.5.

4. МЕТРОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СЕРЕДНЬОГО РЕЗУЛЬТАТУ

Якщо за допомогою даної методики аналізу (виміру) треба визначити значення деякої величини A , для одержаної експериментально однорідної вибірки обсягом m розраховують величини, необхідні для заповнення Табл. 4.1. Якщо методика має метрологічну атестацію, графи 2, 4, 5, 7, 8 і 9 табл. 4.1 заповнюють на підставі даних Табл. 2.1. Це дозволяє значно звузити межі довірчого інтервалу за рахунок більшого числа ступенів свободи (див. рівняння 1.17).

Якщо $n \leq 15$, а $\frac{m+n}{n} > 1.5$, величини s і v доцільно обчислювати за формулами (2.1) і (2.2).

Таблиця 4.1
Метрологічні характеристики середнього результату

m	ν	\bar{x}	s	s_x	P	$t(P, \nu)$	Δ_x	$\Delta_{\bar{x}}$ або $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$	$\bar{\epsilon}$
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

У багатьох випадках простіше використовувати відносні (по відношенню до \bar{x}) величини. У цьому разі доцільно проводити розрахунки за Табл. 4.1а.

Таблиця 4.1а
Метрологічні характеристики середнього результату

m	ν	\bar{x}	s	s_r	$s_{\bar{x},r}$	P	$t(P, \nu)$	$\Delta_{\bar{x},r}$	$\bar{\epsilon}$
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Таким чином, на підставі виразу (1.14) для вимірюваної величини A за незначущості систематичної похибки з імовірністю P виконується умова:

$$\bar{x} - \Delta_{\bar{x}} \leq A \leq \bar{x} + \Delta_{\bar{x}} \quad (4.1)$$

тобто

$$A = \bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} \quad (4.2)$$

або з використанням відносних величин:

$$\frac{A}{\bar{x}} = 1 \pm \Delta_{\bar{x},r} \quad (4.2a)$$

Якщо при вимірах одержують логарифми вихідних варіант, у графі 9 Табл. 4.1 наводять величину $\Delta_{\lg x}$, а кожну із граф 3, 9 і 10 розбивають на дві (а, б). У графі 3а наводять значення \bar{x}_{gr} у графі 3б — значення $\lg \bar{x}_{gr}$ у графах 9а і 9б — відповідне значення нижньої та верхньої меж довірчого інтервалу для \bar{x}_g (див. рівняння 1.24 і 1.25). Нарешті, у графі 10 наводять максимальне за абсолютною величиною значення ϵ (див. рівняння 1.28а).

5. ПОРІВНЯННЯ СЕРЕДНІХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДВОХ ВИБІРОК

Якщо в результаті вимірів однієї і тієї самої величини A одержані дві вибірки обсягом n_1 і n_2 , причому $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$, може виникнути необхідність перевірки статистичної вірогідності гіпотези:

$$\bar{x}_1 = \bar{x}_2, \quad (5.1)$$

тобто значущості різниці ($\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$).

Така перевірка необхідна, якщо величина A визначалася двома різними методиками з метою їхнього порівняння, або якщо величина A визначалася тією ж самою методикою для двох різних об'єктів, ідентичність яких слід довести. Для перевірки гіпотези (5.1) варто установити, чи існує статистично значуще розходження між дисперсіями s_1^2 і s_2^2 . Ця перевірка проводиться так, як зазначено в розділі 3.

Розглянемо три випадки.

5.1. Розходження дисперсій s_1^2 і s_2^2 статистично незначуще (справедлива нерівність 3.3). У цьому разі середньозважене значення s^2 обчислюють за рівнянням (2.1), а дисперсію S_p^2 різниці $|x_1 - x_2|$ - за рівнянням (5.2):

$$s_p^2 = \frac{s^2(n_1 + n_2)}{n_1 \cdot n_2} \quad (5.2)$$

$$s_p = \sqrt{S_p^2} \quad (5.3)$$

Далі обчислюють критерій Стьюдента:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{S_p} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} \quad (5.4)$$

$$\nu = n_1 + n_2 - 2 \quad (5.5)$$

Якщо при обраному значенні P_2 (наприклад, при $P_2 = 95\%$)

$$t > t(P_2, \nu), \quad (5.6)$$

результат перевірки позитивний - різниця ($\bar{x}_1 - \bar{x}_2$) є значущою, і гіпотезу $\bar{x}_1 = \bar{x}_2$ відкидають. Якщо ні, слід визнати, що ця гіпотеза не суперечить експериментальним даним.

5.2. Розходження значень s_1^2 і s_2^2 статистично значуще (справедлива нерівність 3.2). Якщо $s_1^2 > s_2^2$, дисперсію s_p^2 різниці ($\bar{x}_1 - \bar{x}_2$) знаходять за рівнянням (5.7), а число ступенів свободи ν' — за рівнянням (5.8):

$$s_p^2 = \frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2} \quad (5.7)$$

$$\nu' = (n_1 + n_2 - 2) \cdot \left(0.5 + \frac{s_1^2 \cdot s_2^2}{s_1^4 + s_2^4} \right) \quad (5.8)$$

Отже, у цьому разі:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{S_p} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_2 \cdot s_1^2 + n_1 \cdot s_2^2}} \quad (5.9)$$

Обчислене за рівнянням (5.9) значення t порівнюють із табличним значенням $t(P_2, \nu')$, як це описано вище для випадку 1.

Розгляд проблеми спрощується, коли $n_1 \approx n_2$ і $s_1^2 \gg s_2^2$. Тоді за відсутності систематичної похибки середнє \bar{x}_2 вибірки обсягом n_2 приймають за досить точну оцінку величини A , тобто $\bar{x}_1 = \mu$. Справедливість гіпотези $\bar{x}_1 = \mu$, еквівалентної гіпотезі (5.1), перевіряють за допомогою виразів (2.7) і (2.8), приймаючи $\nu_1 = n_1 - 1$. Гіпотеза (5.1) відхиляється як статистично вірогідна, якщо виконується нерівність (2.8).

5.3. Відоме точне значення величини А. Якщо $A = \mu$, перевіряють дві гіпотези: $\bar{x}_1 = \mu$ і $\bar{x}_2 = \mu$. Перевірку виконують так, як описано в розділі 2 за допомогою виразів (2.7) і (2.8), окремо для кожної з гіпотез. Якщо обидві гіпотези, що перевіряються, статистично вірогідні, слід визнати вірогідною і гіпотезу (5.1). А якщо ні, гіпотеза (5.1) має бути відкинута.

Якщо при вимірах одержують логарифми вихідних варіант, при порівнянні середніх використовують величини $lg \bar{x}_g, S_{lg}^2$ і S_{lg} .

Якщо різниця $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ виявляється значущою, визначають довірчий інтервал для різниці відповідних генеральних середніх $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$

$$\left| \bar{x}_1 - \bar{x}_2 \right| - t(P_2, \nu) \cdot s_p \leq \left| \hat{x}_1 - \hat{x}_2 \right| \leq \left| \bar{x}_1 - \bar{x}_2 \right| + t(P_2, \nu) \cdot S_p \quad (5.10)$$

Приклади розрахунків наведені в розділі 9.6.

6. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ АНАЛІЗУ, ОДЕРЖАНИХ ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТРОЛОГІЧНО АТЕСТОВАНОЇ МЕТОДИКИ

Дана інтерпретація ґрунтується на тому, що для метрологічно атестованої методики відома прийнята оцінка стандартного відхилення.

6.1. Оцінка збіжності результатів паралельних випробувань. При рутинних аналізах звичайно проводиться два-три, рідше чотири паралельних випробування. Варіанти одержаної при цьому упорядкованої вибірки обсягом m , як правило, досить значно відрізняються один від одного. Якщо методика аналізу метрологічно атестована, максимальна різниця результатів двох паралельних випробувань має задовольняти нерівність:

$$\left| x_1 - x_n \right| < L(P, m) \cdot s \quad (6.1)$$

де:

s – прийнята оцінка стандартного відхилення;
 $L(P, m)$ – фактор, обчислений за Пірсоном при $P = 95 \%$.

m	2	3	4
L	2.77	3.31	3.65

Якщо нерівність (6.1) не виконується, слід провести додаткове випробування і знову перевірити, чи задовольняє величина $|x_1 - x_n|$ нерівність (6.1).

Якщо для результатів чотирьох паралельних випробувань нерівність 6.1 не виконується, вважають, що конкретні умови аналізу призвели до зниження відтворюваності методики і прийнята оцінка величини s стосовно даного випадку є заниженою. У цьому разі визначення проводять, як зазначено в розділі 1.2.

6.2. Визначення необхідного числа паралельних випробувань. Якщо необхідно одержати середній результат \bar{x} із відносною невизначеністю $\bar{\epsilon} \leq \Phi$ (де Φ - будь-яке число, наприклад, 2 %), причому методика аналізу метрологічно атестована, необхідне число рівнобіжних визначень m знаходять із рівняння:

$$m \geq \left(\frac{\Delta_x \cdot 100}{\Phi \cdot \bar{x}} \right)^2 \quad (6.2)$$

6.3. Гарантія якості продукції. Описаний нижче підхід застосовний до метрологічно атестованої методики. В іншому разі можуть застосовуватися інші підходи (див. статтю «Валідація аналітичних методик і випробувань»).

Припустимо, що якість продукції регламентується граничними значеннями a_{min} і a_{max} величини A , що визначають за результатами аналізу. Візьмемо, що ймовірність відповідності якості продукції умові:

$$a_{min} < A < a_{max} \quad (6.3)$$

має становити $P_1 \%$.

Нехай величину A знаходять експериментально як середнє вибірки обсягом m , а методика її визначення метрологічно атестована. Тоді умова (6.3) буде виконуватися з імовірністю P_1 , якщо значення $\bar{x} = A$ буде знаходитися в межах:

$$a_{min} + \Delta_{\bar{x}} < A < a_{max} - \Delta_{\bar{x}} \quad (6.4)$$

де:

$$\Delta_A = \frac{U(P_1) \cdot s}{\sqrt{m}} \quad (6.5)$$

Значення коефіцієнта U для ймовірності $P_1 = 95\%$ і $P_1 = 99\%$, відповідно, дорівнюють 1.65 і 2.33.

Інакше кажучи, для гарантії якості спостережувані межі змін величини A на практиці слід обмежити значеннями:

$$A_{min} = a_{min} + \Delta_A = A_{min} + \frac{U(P_1) \cdot s}{\sqrt{m}} \quad (6.6)$$

$$A_{max} = a_{max} - \Delta_A = A_{max} - \frac{U(P_1) \cdot s}{\sqrt{m}} \quad (6.7)$$

Навпаки, якщо задані значення A_{min} і A_{max} , значення a_{min} і a_{max} , що входять до нерівності (6.3), можуть бути знайдені шляхом розв'язування рівнянь (6.6) і (6.7). Нарешті, якщо задані пари значень A_{min} , a_{min} і A_{max} , a_{max} , рівняння (6.6) і (6.7) можуть бути розв'язані відносно m . Це може бути використане для оцінки необхідного числа паралельних випробувань величини A .

Якщо при вимірах одержують логарифми вихідних варіант, описані в розділі 6, обчислення проводять із використанням величин $\lg \bar{x}_i$, $\lg x_i$, s_{\lg} та ін.

Приклади розрахунків наведені в розділі 9.7.

7. РОЗРАХУНОК І СТАТИСТИЧНА ОЦІНКА ПАРАМЕТРІВ ЛІНІЙНОЇ ЗАЛЕЖНОСТІ

При використанні ряду хімічних і фізико-хімічних методів кількісного аналізу безпосередньому виміру піддається деяка величина y , що є лінійною функцією шуканої концентрації (кількості) x визначуваної речовини або елемента. Інакше кажучи, в основі таких методів аналізу лежить існування лінійної залежності:

$$y = bx + a, \quad (7.1)$$

де:

- y — вимірювана величина;
- x — концентрація (кількість) визначуваної речовини або елемента;
- b — кутовий коефіцієнт лінійної залежності;
- a — вільний член лінійної залежності.

Для використання залежності (7.1) в аналітичних цілях, тобто для визначення конкретної величини x за вимірним значенням y , слід заздалегідь знайти числові значення констант

b і a , тобто провести калібрування. Іноді константи функції (7.1) мають той чи інший фізичний зміст, і їх значення мають оцінюватися з урахуванням відповідного довірчого інтервалу. Якщо калібрування проведене, і значення констант a і b визначені, величину x знаходять за вимірним значенням y_i :

$$x_i = \frac{1}{b} y_i - \frac{a}{b} \quad (7.2)$$

При калібруванні величину x розглядають як аргумент, а величину y — як функцію. Наявність лінійної залежності між x і y не завжди є очевидною. Через це експериментальні дані, одержані при калібруванні, у першу чергу використовують для оцінки жорсткості, тобто ступеня не випадковості лінійного зв'язку між x і y , і лише потім визначають значення констант a і b та їх довірчі інтервали. У першому наближенні судити про жорсткість лінійного зв'язку між змінними x і y можна за величиною лінійного коефіцієнта кореляції (або просто, коефіцієнта кореляції) r , що обчислюють за формулою:

$$r = \frac{m \sum_1^m x_i y_i - \sum_1^m x_i \cdot \sum_1^m y_i}{\sqrt{\left[m \cdot \sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i \right)^2 \right] \left[m \cdot \sum_1^m y_i^2 - \left(\sum_1^m y_i \right)^2 \right]}}, \quad (7.3)$$

виходячи з експериментальних даних.

Лінійний коефіцієнт кореляції може змінюватися від -1 до $+1$. Позитивні значення r вказують на збільшення, негативні — на зменшення y із збільшенням x .

Лінійний коефіцієнт кореляції r є окремим випадком загального індексу кореляції R_c , який застосовний також і для нелінійних залежностей між величинами y і x :

$$R_c = \sqrt{1 - \frac{s_0^2}{s_y^2}}, \quad (7.3a)$$

де:

- s_0 - залишкове стандартне відхилення (рівняння 7.7),
- s_y - стандартне відхилення величин y_i відносно середнього значення \bar{y} (рівняння 7.15); розраховують із використанням рівняння (1.5).

Рівняння (7.3a), у силу своєї простоти і наочності, звичайно використовують замість співвідношення (7.3a), у разі, якщо знак коефіцієнта кореляції не має значення.

Чим ближче абсолютна величина $|r|$ до одиниці, тим менш випадкова спостережувана лінійна залежність між змінними x і y .

Коефіцієнт кореляції r використовують звичайно для виявлення стохастичного взаємозв'язку між величинами, функціональна залежність між якими може бути і відсутня. Коефіцієнт кореляції є значущим, якщо його величина для даної ймовірності P і числа ступенів свободи ν перевищує значення, наведені в Табл. 11.6. В іншому разі не можна говорити про існування значущих залежностей (7.1-7.2).

Значущість коефіцієнта кореляції є обов'язковою, але не достатньою умовою використання рівнянь (7.1-7.2) для аналітичних цілей (див. нижче). В аналітичній хімії в більшості випадків використовують лінійні залежності з коефіцієнтом кореляції $|r| \geq 0.98$ (при відповідності вимогам Табл. 11.6) і лише при аналізі слідових кількостей розглядають лінійні залежності з коефіцієнтом кореляції $|r| \geq 0.9$.

Коефіцієнти a і b та інші метрологічні характеристики залежності (7.1) розраховують із використанням методу найменших квадратів за експериментально вимірними значеннями змінної y для заданих значень аргументу x . Нехай у результаті експерименту знайдені представлені в Табл. 7.1 пари значень аргументу x і функції y .

Таблиця 7.1

i	x_i	y_i
1	x_1	y_1
2	x_2	y_2
...
m	x_m	y_m

Якщо величини y_i мають однакову невизначеність (а таке допущення звичайно виконується для досить вузького діапазону варіювання величин y_i):

$$b = \frac{m \cdot \sum_1^m x_i y_i - \sum_1^m x_i \cdot \sum_1^m y_i}{m \cdot \sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i\right)^2} \quad (7.4)$$

$$a = \frac{\sum_1^m y_i - b \cdot \sum_1^m x_i}{m} \quad (7.5)$$

$$\nu = m - 2 \quad (7.6)$$

Якщо одержані значення коефіцієнтів a і b використовувати для обчислення значень y за заданими в Табл. 7.1 значеннями аргументу x

згідно з залежністю (7.1), обчислені значення у позначають через Y_1, Y_2, \dots, Y_n . Розкид значень y_i відносно значень Y_i характеризує величина залишкової дисперсії s_0^2 , яку розраховують за рівнянням:

$$s_0^2 = \frac{\sum_1^m (y_i - Y_i)^2}{\nu} = \frac{\sum_1^m y_i^2 - a \sum_1^m y_i - b \sum_1^m x_i y_i}{\nu} \quad (7.7)$$

Для того, щоб рівняння (7.1-7.2) адекватно описували експериментальні дані, необхідно, щоб залишкова дисперсія s_0^2 не відрізнялася значущо за критерієм Фішера (співвідношення 3.1-3.4) від дисперсії відтворюваності (збіжності) величин y_i . Остання може бути знайдена експериментально або спрогнозована (див. розділ 10) із паспортних даних обладнання.

У свою чергу дисперсії констант b і a розраховують за рівняннями:

$$s_b^2 = \frac{m s_0^2}{m \sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i\right)^2} \quad (7.8)$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{m} \sum_1^m x_i^2 \quad (7.9)$$

Стандартні відхилення s_b і s_a і величини Δ_b і Δ_a , необхідні для оцінки довірчих інтервалів констант, розраховують за рівняннями:

$$s_b = \sqrt{s_b^2} \quad (7.10)$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2} \quad (7.11)$$

$$\Delta_b = t(P_2; \nu) \cdot s_b \quad (7.12)$$

$$\Delta_a = t(P_2; \nu) \cdot s_a \quad (7.13)$$

Коефіцієнти a і b мають значущо відрізнятися від нуля, тобто перевищувати, відповідно, величини Δ_a і Δ_b .

Рівняння (7.1) із константами a і b обов'язково задовольняє точка з координатами \bar{x} і \bar{y} , називана центром калібрувальної кривої:

$$\bar{x} = \frac{\sum_1^m x_i}{m} \quad (7.14)$$

$$\bar{y} = \frac{\sum_1^m y_i}{m} \quad (7.15)$$

Найменші відхилення значень y_i від значень Y_i спостерігаються в околі центра кривої. Стандартні відхилення s_y і s_x величин y і x , роз-

рахованих відповідно за рівняннями (7.1) і (7.2), виходячи з відомих значень x і y , визначають з урахуванням віддалення останніх від координат центра кривої:

$$s_y = \sqrt{s_0^2 \left[\frac{1}{m} + \frac{m(x - \bar{x})^2}{m \sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i \right)^2} \right]} \quad (7.16)$$

$$s_x = \sqrt{\frac{s_0^2}{b^2} \left[\frac{1}{n_j} + \frac{1}{m} + \frac{m(\bar{y}_j - \bar{y})^2}{b^2 \left[m \sum_1^m x_i^2 - \left(\sum_1^m x_i \right)^2 \right]} \right]} \quad (7.17)$$

де:

\bar{y}_j — середнє значення;

n_j — число варіант, використаних при визначенні \bar{y}_j .

При $x = \bar{x}$ і $\bar{y}_j = \bar{y}$:

$$s_y = \sqrt{\frac{s_0^2}{m}}, \quad (7.16a)$$

$$s_x = \sqrt{\frac{s_0^2}{b^2} \left[\frac{1}{n_j} + \frac{1}{m} \right]}$$

Із урахуванням значень s_y і s_x можуть бути знайдені значення величин Δ_y і Δ_x :

$$\Delta_y = s_y \cdot t(P_2; \nu) \quad (7.18)$$

$$\Delta_x = s_x \cdot t(P_2; \nu) \quad (7.19)$$

Значення s_x і Δ_x , знайдені при $n_j = 1$, є характеристиками відтворюваності (збіжності) аналітичної методики, якщо x — концентрація, а y — функція x .

Звичайно результати статистичної обробки методом найменших квадратів зводять у Табл. 7.2.

8. ПОСЛІДОВНА СХЕМА СТАТИСТИЧНОГО АНАЛІЗУ РЕЗУЛЬТАТІВ ХІМІЧНИХ ВИМІРІВ

Традиційно у фармакопейному аналізі переважають методи статистичного аналізу з фіксованим обсягом вибірки. Поряд із цим в останні роки все ширше застосовують методи так званого послідовного (секвенціонального) аналізу¹. Використання цих методів має сенс, якщо виконання кожного аналізу дороге, трудомістке або тривале, і при цьому є

можливість аналізувати результати послідовно, у міру їх надходження.

Окремим випадком послідовної схеми є метод перевірки із дворазовою вибіркою. Такий метод застосовують у фармакопейному аналізі, наприклад, при контролі однорідності дозування: береться перша вибірка, і за одержаними результатами партія або визнається придатною, або бракується, або приймається рішення аналізувати іншу вибірку. Така схема дозволяє заощадити (у середньому) число спостережень, необхідне для ухвалення рішення. Ще економічніша послідовна схема у загальному вигляді. За даними² коефіцієнт вигоди при зіставленні з традиційними схемами (фіксований обсяг вибірки) коливається між двома і трьома.

Послідовний критерій для розрізнення двох простих гіпотез

H_0 : вибірка витягнута з генеральної сукупності $f(x, \mu_0, \sigma)$;

H_1 : вибірка витягнута з генеральної сукупності $f(x, \mu_1, \sigma)$

запропонований Вальдом³ (тут $f(x, \mu, \sigma)$ — функція щільності ймовірності нормального розподілу). Критична статистика $\gamma^{(n)}$ (n - число спостережень) має вигляд:

$$\gamma^{(n)} = \sum_{i=1}^n \ln \frac{f(x_i, \mu_1, \sigma)}{f(x_i, \mu_2, \sigma)} \quad n=1,2,\dots \quad (8.1)$$

Область можливих значень критичної статистики розбивають на три (а не на дві, як у разі вибірок фіксованого обсягу) частини:

1) область прийняття гіпотези H_0

$$\gamma^{(n)} \leq \ln \frac{\beta}{1-\alpha}, \quad (8.2)$$

2) область прийняття гіпотези H_1

$$\gamma^{(n)} \geq \ln \frac{1-\beta}{\alpha}, \quad (8.3)$$

3) область продовження спостережень:

$$\ln \frac{\beta}{1-\alpha} < \gamma^{(n)} < \ln \frac{1-\beta}{\alpha} \quad (8.4)$$

де:

α - похибка першого роду (ймовірність прийняття гіпотези H_1 , у той час як насправді вірна гіпотеза H_0);

β - похибка другого роду (ймовірність прийняття гіпотези H_0 , у той час як насправді вірна гіпотеза H_1).

Якщо результати n випробувань розглядати як випадкову вибірку з генеральної сукупності, що підкоряється нормальному розподілу з дисперсією σ^2 (яка передбачається відомою з попередніх експериментів), то:

$$\gamma^{(n)} = \frac{\mu_1 - \mu_0}{\sigma^2} \sum x_i + \frac{n}{2\sigma^2} (\mu_0^2 - \mu_1^2) \quad (8.5)$$

Якщо значення критичної статистики, обчислене на кроці n , потрапляє в область 1, приймається гіпотеза H_0 ; якщо воно потрапляє в область 2, приймається гіпотеза H_1 ; якщо значення критичної статистики потрапляє в область 3, проводиться ще один вимір. Доведено, що з імовірністю 1 цей процес закінчується прийняттям однієї з двох альтернативних гіпотез.

Критерій Вальда є оптимальним у тому сенсі, що серед усіх послідовних критеріїв він вимагає мінімального середнього числа випробувань при заданих значеннях похибки першого і другого роду.

На практиці обчислення можуть бути організовані в такий спосіб. На графік наносять чотири прямі, що задають рівняннями, у яких n – номер випробування.

$$T_0 = a_0 + bn \quad (8.6a)$$

$$T_1 = a_1 + bn \quad (8.6b)$$

$$T'_0 = a'_0 + b'n \quad (8.6c)$$

$$T'_1 = a'_1 + b'n \quad (8.6d)$$

де:

$$a_0 = a'_0 = \frac{\sigma}{\delta_\mu} \ln \frac{\beta}{1 - \frac{\alpha}{2}} \quad (8.7a)$$

$$a_1 = a'_1 = \frac{\sigma}{\delta_\mu} \ln \frac{1 - \beta}{\frac{\alpha}{2}} \quad (8.7b)$$

де:

- σ - стандартне відхилення методу, що передбачається відомим;
- b і b' - верхня та нижня межі вмісту аналізованої речовини в зразку;

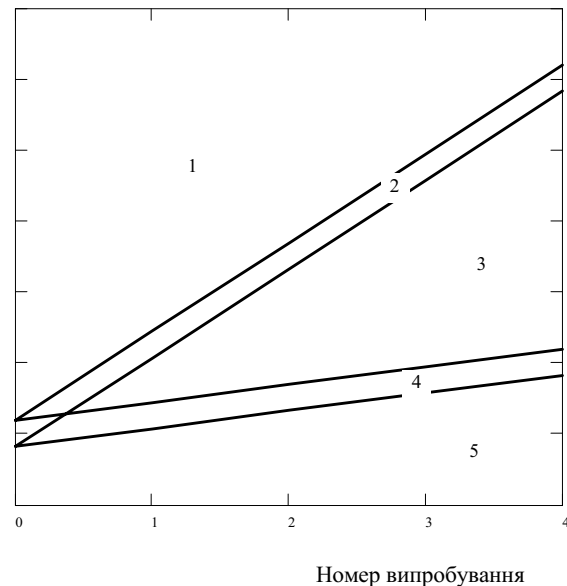
$\delta_\mu = |\mu_2 - \mu_1|$ – різниця середніх генеральних сукупностей $f(x, \mu_0, \sigma)$ і $f(x, \mu_1, \sigma)$; δ_μ задається експериментатором і характеризує здатність методу розрізняти ці генеральні сукупності.

Прямі (8.6a-8.6d) розбивають площину на 5 областей (див. Рис. 8.1). Область 3 – це об-

ласть прийняття гіпотези H_0 ; області 1 і 5 – області прийняття гіпотези H_1 ; області 2 і 4 – області продовження спостережень. Чим менше σ і більше δ_μ , тим більш вузькими є області 2 і 4, і тим швидше сходиться метод.

Випробування проводять послідовно. Після кожного випробування по осі ординат відкладається накопичувальна сума одержаних результатів. У залежності від того, де знаходиться чергова точка, приймається одне із трьох можливих рішень: якщо точка знаходиться в області 3, це означає, що зразок витримує випробування; якщо точка знаходиться в області 1 або 5 це означає, що зразок не витримує випробування; якщо точка знаходиться в області 2 або 4, випробування мають бути продовжені.

Рисунок 8.1.



Практична організація схеми послідовних випробувань

Конкретніше застосування секвенціонального аналізу описано у Прикладі 9.8.

9. ПРИКЛАДИ

Приклад 9.1. Обчислення середнього значення та дисперсії. При визначенні вмісту стрептоциду в лініменті стрептоциду були одержані такі дані.

Таблиця 9.1

i	1	2	3	4	5
$x_i, \%$	9.52	9.55	9.83	10.12	10.33

$$n = 5; v = n-1 = 5-1 = 4$$

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} = \frac{9.52+9.55+9.83+10.12+10.33}{5} = 9.87$$

$$d_i = |x_i - \bar{x}| = |x_i - 9.87| \text{ тобто}$$

$$d_1 = |9.52 - 9.87| = 0.35 \text{ та ін.}$$

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n d_i}{v} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - n\bar{x}^2}{v} =$$

$$= \frac{(9.52^2 + 9.55^2 + 9.83^2 + 10.12^2 + 10.33^2) - 5 \cdot 9.87^2}{4} =$$

$$= 0.1252$$

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{0.1252} = 0.3538$$

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} = \frac{0.3538}{9.87} = 0.03585$$

$$RSD = s_r \cdot 100 = 3.59 \%$$

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0.3538}{\sqrt{5}} = 0.1582$$

$$s_{\bar{x},r} = \frac{s_{\bar{x}}}{\bar{x}} = \frac{0.1582}{9.87} = 0.01603$$

$$RSD_{\bar{x}} = s_{\bar{x},r} \cdot 100 = 1.60 \%$$

Приклад 9.2. Перевірка однорідності вибірки малого обсягу. При проведенні дев'яти ($n=9$) визначень вмісту загального азоту у плазмі крові щурів були одержані такі дані (у порядку зростання):

Таблиця 9.2

i	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$x_i, \%$	0.62	0.81	0.83	0.86	0.87	0.90	0.94	0.98	0.99

За рівняннями 1.10 і 1.11а обчислюємо:

$$R = |x_1 - x_{n-1}| = |0.62 - 0.98| = 0.36$$

$$Q_1 = \frac{|x_1 - x_2|}{R} = \frac{|0.62 - 0.81|}{0.36} = 0.53$$

За Таблицею 11.1 Додатка обчислюємо:

$$Q(9;95\%) = 0.46 < Q_1 = 0.53$$

$$Q(9;99\%) = 0.55 > Q_1 = 0.53$$

Отже, гіпотеза про те, що значення $x_1 = 0.62$ має бути виключене з розглядуваної сукупності результатів вимірів як обтяжене грубою похибкою, може бути прийнята з довірчою ймовірністю 95 %, але має бути відкинута, якщо обране значення довірчої ймовірності дорівнює 99 %.

Приклад 9.3. Обчислення довірчих інтервалів і невизначеностей вимірів. У результаті визначення вмісту хінону у стандартному зразку хінгідрону були одержані такі дані ($n=10$).

Обчислення за формулами (1.2, 1.4 – 1.7) дали такі результати:

$$\bar{x} = 49.96 ; v = 9; s^2 = 0.01366; s = 0.1169;$$

$$s_{\bar{x}} = 0.03696$$

Довірчі інтервали результату окремого визначення і середнього результату при $P_2 = 90 \%$ одержуємо відповідно до (1.18) і (1.16):

$$x_i \pm \Delta x = x_i \pm t(P_2, v) \cdot s = x_i \pm t(90\%, 9) \cdot s =$$

$$= x_i \pm 1.83 \cdot 0.1169 = x_i \pm 0.21$$

$$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = \bar{x} \pm \frac{t(P_2, v) \cdot s}{\sqrt{n}} = 49.96 \pm$$

$$\pm \frac{1.83 \cdot 0.1169}{\sqrt{10}} = 49.96 \pm 0.07$$

Тоді відносні невизначеності ε і $\bar{\varepsilon}$, відповідно (1.21) і (1.21), дорівнюють:

$$\varepsilon = \frac{\Delta x}{x} \cdot 100\% = \frac{0.21}{49.96} \cdot 100\% = 0.42 \%$$

$$\bar{\varepsilon} = \frac{\Delta \bar{x}}{\bar{x}} \cdot 100\% = \frac{0.07}{49.96} \cdot 100\% = 0.14 \%$$

Позначаючи істинний вміст хінону в хінгідроні через μ , можна вважати, що з 90 % довірчою ймовірністю справедливі нерівності:

$$\mu - 0.21 \leq x_i \leq \mu + 0.21$$

$$x_i - 0.21 \leq \mu \leq x_i + 0.21 \text{ (при будь-якому } i)$$

$$\mu - 0.07 \leq \bar{x} \leq \mu + 0.07; \quad \bar{x} - 0.07 \leq \mu \leq \bar{x} + 0.07$$

(при $n = 10$)

Приклад 9.4. Перевірка гіпотези рівності дисперсій

9.4.1. Об'єднання результатів вибірок, різних за обсягом. У процесі проведення внутрішньолабораторних досліджень невизначеності методики титрування субстанції кислоти ацетилсаліцилової чотирма (тобто $g = 4, v_x = 3$) різними аналітиками одержані середні значення \bar{x}_i і відносні стандартні відхилення ($RSD_i\%$) для зазначеного числа випробувань (n_i), які представлені в Табл. 9.4

Таблиця 9.4

вибірка	\bar{x}_k	$RSD_k\%$	n_k	v_k	v_t	RSD_{tot}^2	$RSD_{tot}\%$	χ^2	C	χ^{*2}	Табличне $\chi^2(P_1=95\%, v_\chi=3)$
1	99.9	0.3	5	4	25	0.552	0.74	4.62	1.072	4.31	7.815
2	99.4	0.8	7	6							
3	99.2	0.7	9	8							
4	99.3	0.9	8	7							

Результати розрахунків поміщають в Таблицю

Чи можна вважати дані RSD_k вибітками з однієї генеральної сукупності та які об'єднане \bar{x} і RSD_{tot} ?

Спочатку перевіряють гіпотезу рівності дисперсій, тобто що всі RSD_k є вибітками з однієї генеральної сукупності.

Величини v_t обчислюють за формулою (2.2):

$$v_t = \sum_{k=1}^g v_k = 4 + 6 + 8 + 7 = 25$$

RSD_{tot}^2 обчислюють за формулою (2.1):

$$RSD_{tot}^2 = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} v_k \cdot RSD_k^2}{v_t} = \frac{4 \cdot 0.3^2 + 6 \cdot 0.8^2 + 8 \cdot 0.7^2 + 7 \cdot 0.9^2}{25} = 0.552$$

χ^2 обчислюють за формулою (2.4):

$$\chi^2 = 2.303 \cdot \left(v_t \cdot \lg RSD_{tot}^2 - \sum_{k=1}^g v_k \cdot \lg RSD_k^2 \right) = 2.303 \cdot (25 \lg 0.552 - (4 \cdot \lg 0.09 + 6 \lg 0.64 + 8 \lg 0.49 + 7 \cdot \lg 0.81)) = 4.62$$

Табличне значення (за таблицею 11.4) $\chi^2(P_1 = 0.95, v_\chi = 3) = 7.815 > 4.62$.

Таким чином, значення χ^2 менше критичного, тому можна прийняти гіпотезу про рівність дисперсій.

Значення χ^{*2} менше критичного, і тому немає необхідності в розрахунку коригувального фактора C і величини χ^{*2} . Для ілюстрації ці величини обчислюють за формулою (2.5):

$$C = \frac{[(1/4) + (1/6) + (1/8) + (1/7)] - (1/25)}{3 \cdot (4-1)} + 1 = 1.072$$

$$\chi^{*2} = \chi^2 / C = 4.62 / 1.072 = 4.31$$

Як видно, значення χ^{*2} менше критичного значення (7.815), що підтверджує гіпотезу про рівність дисперсій.

Розраховують об'єднане RSD_{tot} :

$$RSD_{tot} = \sqrt{RSD_{tot}^2} = \sqrt{0.552} = 0.74\%$$

Об'єднане середнє \bar{x} за всім чотирма вибітками обчислюють за формулою (2.3):

$$\bar{x} = \frac{99.9 \cdot 5 + 99.4 \cdot 7 + 99.2 \cdot 9 + 99.3 \cdot 8}{5 + 7 + 9 + 8} = 99.4\%$$

Таким чином, за даними внутрішньолабораторних випробувань, відносно стандартне відхилення титрування субстанції кислоти ацетилсаліцилової дорівнює 0.74 %, а її вміст – 99.4 %.

9.4.2. Об'єднання результатів вибірок, однакових за обсягом. При аналізі методом ВЕРХ 5 різних серій (тобто $g = 5$) лікарського засобу одержані такі значення відносних стандартних відхилень ($RSD_i\%$) площ піків при 3-кратному (тобто $n = 3$) хроматографуванні розчинів кожної серії:

1.08 %; 0.60 %; 0.43 %, 1.59 % і 0.71 %.

Чи можна поєднувати дані вибірки (результати аналізу 5 серій) і яке об'єднане відносно стандартне відхилення?

Оскільки в нашому випадку число ступенів свободи для всіх 5 вибірок (серій) однаково і дорівнює $v = n - 1 = 3 - 1 = 2$, для перевірки гіпотези рівності дисперсій застосовують критерій Кокрена (див. розділ 2.1.3 і Табл. 11.4). При $s_{max} = 1.59\%$, $v = 2$, $g = 5$, і співвідношення (2.6) дає:

$$G = \frac{s_{max}^2}{\sum_{k=1}^g s_k^2} = \frac{1.59^2}{1.08^2 + 0.60^2 + 0.43^2 + 1.59^2 + 0.71^2} = 0.533 < 0.684 = G(P = 0.95; 2; 5)$$

Як видно, розраховане значення G менше табличного на 95 % рівні значущості. Отже, дані вибірки можна об'єднати.

Об'єднане число ступенів свободи обчислюють за формулою (2.2):

$$v_t = \sum_{k=1}^g v_k = 5 \cdot 2 = 10$$

Об'єднане відносне стандартне відхилення (RSD_{tot}) обчислюють за формулою (2.1b):

$$RSD_{tot}^2 = \frac{\sum_{k=1}^{k=g} v_k \cdot RSD_k^2}{v_t} = \frac{2 \cdot (1.08^2 + 0.60^2 + 0.43^2 + 1.59^2 + 0.71^2)}{10} = 0.9510$$

Звідси $RSD_{tot} = \sqrt{0.9510} = 0.98$

Приклад 9.5. Порівняння двох методик аналізу за відтворюваністю (збіжністю). Нехай для двох вибірок аналітичних даних (1 і 2), що характеризують, наприклад, різні методики аналізу, одержані метрологічні характеристики, наведені в графах 1—10 Табл. 9.5.

Для заповнення графи 10 обчислюють значення t_1 і t_2 :

$$t_1 = \frac{|\mu - \bar{x}_1| \sqrt{m_1}}{s_1} = \frac{|100 - 100.13| \cdot \sqrt{20+1}}{0.464} = 1.28$$

$$t_2 = \frac{|\mu - \bar{x}_2| \sqrt{m_2}}{s_2} = \frac{|100 - 98.01| \cdot \sqrt{15+1}}{0.110} = 72.36$$

Оскільки $t_1 = 1.28 < t_{1(95\%, 20)} = 2.09$, гіпотеза $|\mu_1 - \bar{x}_1| \neq 0$ може бути відкинута, що дозволяє вважати результати вибірки 1 вірними від систематичної похибки.

Навпаки, оскільки $t_2 = 72.36 \gg t_{2(95\%, 15)} = 2.13$, гіпотезу $|\mu_2 - \bar{x}_2| \neq 0$ визнають статистично вірогідною, що свідчить про наявність систематичної похибки в результатах вибірки 2. У графу 13 вносять:

$$\delta_2 = \frac{|\mu_1 - \bar{x}_2|}{\mu_1} \cdot 100\% = \frac{|100 - 98.01|}{100} \cdot 100\% = 1.99\%$$

Заповнюють графи 11 і 12:

$$F(99\%; 20; 15) = 3.36$$

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} = \frac{0.215}{0.012} = 17.92$$

$$F = \frac{s_2^2}{s_1^2} = \frac{0.31}{0.25} = 1.24 < F(99\%, 5, 7) = 7.46$$

Отже, при $P_i = 99\%$ гіпотезу про розходження дисперсій s_1^2 і s_2^2 слід визнати статистично вірогідною.

Висновки:

а) результати, одержані з використанням першої методики, є правильними, тобто вони не обтяжені систематичною похибкою;

б) результати, одержані з використанням другої методики, обтяжені систематичною похибкою;

в) за відтворюваністю друга методика істотно краща за першу методику.

Приклад 9.6. Порівняння середніх результатів двох вибірок. При визначенні вмісту основної речовини у двох зразках препарату, виготовлених за різною технологією, одержані метрологічні характеристики середніх результатів, наведені в Табл. 9.6. Слід вирі-

Таблиця 9.5

Вибірка	μ	ν	\bar{x} , %	s	P_2 , %	$t(P_2, \nu)$ (табл.)	Δx	ε	$t_{обч}$	$F(P_1, \nu_1, \nu_2)$ (табл.) $P=99\%$	$F_{обч}$	δ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	100	20	100.13	0.464	95	2.09	0.97	0.97	1.28	3.36	17.92	-
2	100	15	98.01	0.110	95	2.13	0.23	0.24	72.36	3.36	17.92	1.99

Таблиця 9.6

Зразок	n	ν	\bar{x} , (%)	s	$S_{\bar{x}}$	P_2 , (%)	$t(P_2, \nu)$	Δx	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$, (%)
0	1	2	3	5	6	7	8	9	10	11
1	8	7	99.10	0.50	0.18	95	2.36	1.18	0.42	0.42
2	6	5	98.33	0.56	0.23	95	2.57	1.44	0.59	0.60

шити, чи є перший зразок за даним показником кращим у порівнянні з другим зразком. Оскільки

$$F = \frac{s_2^2}{s_1^2} = \frac{0.31}{0.25} = 1.24 < F(99\%, 5, 7) = 7.46,$$

згідно з нерівністю 3.3 статистично вірогідне розходження величин s_1^2 і s_2^2 відсутнє. Отже, гіпотеза $\bar{x}_1 = \bar{x}_2$ (5.1) перевіряється за допомогою рівнянь (2.1), (2.2), (5.2) й (5.3).

$$s = \frac{\sum_{k=1}^g [(n_k - 1) \cdot s_k^2]}{\sum_{k=1}^g (n_k - 1)} = \frac{v_1 s_1^2 + v_2 s_2^2}{v_1 + v_2} = \frac{7 \cdot 0.25 + 5 \cdot 0.31}{7 + 5} = 0.275$$

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{0.275} = 0.524$$

$$s_p^2 = \frac{s^2(n_1 + n_2)}{n_1 \cdot n_2} = \frac{0.275(8 + 6)}{8 \cdot 6} = 0.0802$$

$$s_p = \sqrt{s_p^2} = \sqrt{0.0802} = 0.283$$

$$v = n_1 + n_2 - 2 = 8 + 6 - 2 = 12$$

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_p} = \frac{|99.10 - 98.33|}{0.283} = 2.72$$

$$t = 2.72 > t(95\%; 12) = 2.18$$

$$t = 2.72 < t(99\%; 12) = 3.08$$

Отже, із довірчою ймовірністю $P_2 = 95\%$ гіпотеза $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$ може бути прийнята (тобто перший зразок краще другого за вмістом основної речовини). Однак з довірчою ймовірністю $P_2 = 99\%$ прийняти цю гіпотезу не можна через недостатність інформації.

Якщо гіпотеза $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$ прийнята, визначають довірчий інтервал різниці генеральних середніх $\hat{x}_1 - \hat{x}_2$ (рівняння 5.10):

$$|\bar{x}_1 - \bar{x}_2| - t(P_2, v) \cdot s_p \leq \hat{x}_1 - \hat{x}_2 \leq |\bar{x}_1 - \bar{x}_2| + t(P_2, v) \cdot s_p$$

$$(P_2 = 95\%; v = 12)$$

$$|99.10 - 98.33| - 2.18 \cdot 0.283 \leq \hat{x}_1 - \hat{x}_2 \leq |99.10 - 98.33| + 2.18 \cdot 0.283$$

$$0.15 \leq \hat{x}_1 - \hat{x}_2 \leq 1.39$$

Приклад 9.7. Оцінка якості продукції. Розглянемо дані Табл. 9.6, що належать до вибір-

ки 1, як метрологічну характеристику використовуваної метрологічно атестованої методики аналізу.

а) Нехай $a_{min} = 98\%$, $a_{max} = 100.50\%$. Тоді для випробовуваного зразка продукту середній результат аналізу \bar{A} при проведенні трьох паралельних випробувань ($m=3$) має знаходитися в межах:

$$a_{min} + \frac{U(P_1) \cdot s}{\sqrt{m}} < A < a_{max} - \frac{U(P_1) \cdot s}{\sqrt{m}}$$

При $P_1 = 99\%$:

$$98 + \frac{2.33 \cdot 0.464}{\sqrt{3}} < A < 100.5 - \frac{2.33 \cdot 0.464}{\sqrt{3}};$$

$$98.62 < A < 99.88$$

При $P_1 = 95\%$:

$$98 + \frac{1.65 \cdot 0.464}{\sqrt{3}} < A < 100.5 - \frac{1.65 \cdot 0.464}{\sqrt{3}};$$

$$98.44 < A < 100.06$$

б) Реальний середній результат аналізу зразка випробовуваного препарату $A = 99\%$ (при $m = 3$). Тоді визначення меж a_{min} і a_{max} , гарантовано характеризуючих якість даного зразка із заданою довірчою ймовірністю P_1 , проводять, виходячи з рівняння (6.6) або (6.7), вважаючи $A_{min} = A_{max} = A$.

$$a_{min} = A - \frac{U(P_1) \cdot s}{\sqrt{m}}$$

$$a_{max} = A + \frac{U(P_1) \cdot s}{\sqrt{m}}$$

При $P_1 = 99\%$:

$$a_{min} = 99 - \frac{2.33 \cdot 0.464}{\sqrt{3}} = 98.38\%$$

$$a_{max} = 99 + \frac{2.33 \cdot 0.464}{\sqrt{3}} = 99.62\%$$

При $P_1 = 95\%$:

$$a_{min} = 99 - \frac{1.65 \cdot 0.464}{\sqrt{3}} = 98.56\%$$

$$a_{max} = 99 + \frac{1.65 \cdot 0.464}{\sqrt{3}} = 99.64\%$$

Одержані значення a_{min} і a_{max} близькі до меж довірчого інтервалу

$$A \pm \Delta \bar{x} = A \pm \frac{\Delta x}{\sqrt{m}} = 99 \pm \frac{0.97}{\sqrt{3}} = 99 \pm 0.56$$

Приклад 9.8. Контроль вмісту кислоти саліцилової в спирті саліциловому за допомогою

секвенціонального аналізу. Визначення вмісту кислоти саліцилової (КС, $M = 138.12$) у 2 % спирті саліциловому проводять шляхом титрування розчином лугу спиртовим із молярною концентрацією 0.1000. Для титрування беруть проби по 5 мл. На титрування йде V мл лугу. Результати титрування (x – знайдений вміст КС у відсотках до номінального вмісту) двох різних зразків наведені в Табл. 9.8

Попередні дослідження показали, що $\sigma = 0.5\%$. Межі вмісту кислоти саліцилової $b = 90\%$ і $b' = 110\%$.

Звичайно приймають $\alpha = \beta = 0.05$. Нехай розходження генеральних середніх $\delta_\mu = 2$.

Рівняння (8.7a) і (8.7b) дають:

$$\begin{aligned} a_0 = a'_0 &= \frac{\sigma}{\delta_\mu} \ln \frac{\beta}{1-\frac{\alpha}{2}} = \frac{0.5}{2} \ln \frac{0.05}{1-(0.05/2)} = \\ &= 0.25 \cdot \ln 0.0513 = -0.25 \cdot 2.97 = -0.743 \\ a_1 = a'_1 &= \frac{\sigma}{\delta_\mu} \ln \frac{1-\beta}{\frac{\alpha}{2}} = \frac{0.5}{2} \cdot \ln \frac{1-0.05}{(0.05/2)} = \\ &= 0.25 \cdot \ln 38 = 0.25 \cdot 3.64 = 0.909 \end{aligned}$$

Для зручності представлення на кривій (щоб накопичувальні суми змінювалися в неширокому діапазоні) відніmemo від величин b і b' деяку величину, наприклад, 85 %. Цю саму величину відніmemo і від кожного результату x (див. Табл. 9.8).

Тоді рівняння (8.6a-8.6d) матимуть вигляд:

$$T_0 = -0.743 + 5 \cdot n$$

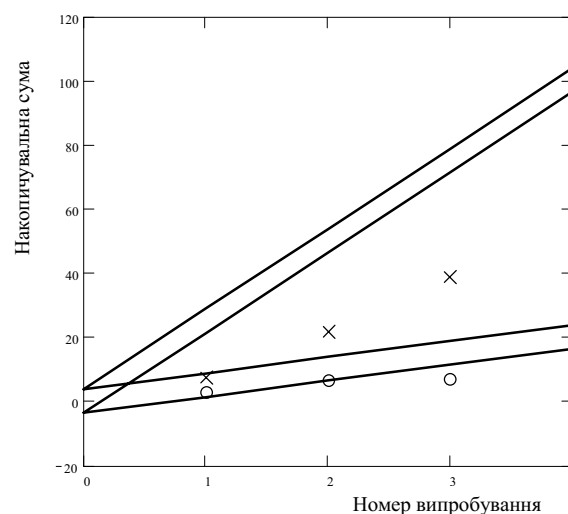
$$T_1 = 0.909 + 5 \cdot n$$

$$T'_0 = -0.743 + 25 \cdot n$$

$$T'_1 = 0.909 + 25 \cdot n$$

Дані рівняння утворюють коридори, показані на Рис. 9.1. Накопичувальні суми результатів титрувань (див. Табл.) позначені хрестиками.

Рисунок до прикладу 9.8.



Результати титрування 2 % спирту саліцилового розчином лугу спиртовим
Хрестиками позначені результати для зразка 1, кружечками – для зразка 2.

Для зразка 1 перший результат знаходиться в області нижнього коридору, це означає, що випробування слід продовжити. Другий результат знаходиться в області позитивних рішень, що дає підставу зробити висновок, що зразок витримує випробування. Третє випробування у цьому разі не потрібне; відповідний результат показаний для більшої наочності рисунка. Перший результат для зразка 2 (кружечки) указує на необхідність продовжити випробування; другий знову виявляється в тій самій області – у нижньої межі. Третій результат знаходиться в області негативних рішень – зразок не витримує випробування.

10. РОЗРАХУНОК НЕВИЗНАЧЕНОСТІ ФУНКЦІЇ ДЕКИЛЬКОХ ВИПАДКОВИХ ЗМІННИХ

Наведені в попередніх розділах розрахунки довірчих інтервалів невизначеності методик аналізу застосовні лише в тому разі, якщо вимірювана величина (концентрація, вміст та ін.) є функцією тільки однієї випадкової змінної. Така ситуація звичайно виникає при використанні прямих методів аналізу (титрування, визначення сульфатної золи, важких

Таблиця 9.8

№	Зразок 1				Зразок 2			
	V , мл	x %	$x-85$	$\Sigma(x-85)$	V , мл	x %	$x-85$	$\Sigma(x-85)$
1	6.71	92.68	7.68	7.68	6.40	88.26	3.26	3.26
2	7.20	99.45	14.45	22.12	6.40	88.40	3.40	6.66
3	7.08	97.79	12.79	34.91	6.20	85.77	0.77	7.43

металів та ін). Однак більшість методик кількісного визначення у фармакопейному аналізі є непрямими, тобто використовують стандартні зразки. Отже, вимірювана величина є функцією, як мінімум, двох випадкових змінних — аналітичних сигналів (оптична густина, висота або площа піка та ін.) випробовуваного і стандартного зразків. Крім того, нерідко виникає проблема прогнозування невизначеності аналітичної методики, що складається з декількох стадій (зважування, розведення, кінцева аналітична операція), кожна з яких є по відношенню до іншої випадковою величиною.

Таким чином, виникає загальна проблема оцінки невизначеності непрямо вимірюваної величини, яка залежить від декількох вимірюваних величин, зокрема, як розраховувати невизначеність всієї аналітичної методики, якщо відомі невизначеності окремих її складових (стадій)?

Якщо вимірювана у випробуванні величина y є функцією n незалежних випадкових величин x_i , тобто

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_n), \quad (10.1)$$

і число ступенів свободи величин x_i однакові або досить великі (> 30 , щоб можна було застосовувати статистику Гауса, а не Стюдента), дисперсія величини y зв'язана з дисперсіями величин x_i співвідношенням (правило поширення невизначеностей):

$$s_y^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \cdot s_{x_i}^2 \quad (10.2)$$

Однак на практиці ступені свободи величин x_i звичайно невеликі та не рівні один одному. Крім того, звичайно інтерес являють не самі дисперсії (стандартні відхилення), а довірчі інтервали, розрахувати які, використовуючи рівняння (10.2) при невеликих і неоднакових ступенях свободи, неможливо. Тому для розрахунку невизначеності величини y (Δ_y) запропоновані різні підходи, серед яких можна виділити два основних: лінійна модель і підхід Уелча-Сатертуейта.

10.1. ЛІНІЙНА МОДЕЛЬ

Якщо випадкові змінні x_i статистично незалежні, довірчий інтервал невизначеності функції Δ_y зв'язаний із довірчими інтервалами змінних Δ_{x_i} співвідношенням (довірчі інтервали беруть для тієї самої імовірності):

$$\Delta_y^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \cdot \Delta_{x_i}^2 \quad (10.3)$$

Дане співвідношення є узагальненням співвідношення (10.2).

У фармакопейному аналізі вимірювана величина y являє собою звичайно добуток або частку випадкових і сталих величин (мас наважок, розведень, оптичних густин або площ піків та ін.), тобто (K - певна константа):

$$y = \frac{K \cdot x_1 \cdot x_2 \cdot \dots \cdot x_m}{x_{m+1} \cdot x_{m+2} \cdot \dots \cdot x_n} \quad (10.4)$$

У цьому разі співвідношення (11.2) набуває вигляду:

$$\Delta_{y,r}^2 = \sum_{i=1}^n \Delta_{x_i,r}^2, \quad (10.5)$$

де використані відносні довірчі інтервали.

Співвідношення (10.5) застосовне при будь-яких ступенях свободи (у тому числі і нескінченних) для величин x_i . Його перевагою є простота та наочність. Використання абсолютних довірчих інтервалів призводить до набагато більш громіздких виразів, тому рекомендується використовувати відносні величини.

При проведенні фармакопейного аналізу в сумарній невизначеності ($\Delta_{As,r}$) аналізу звичайно завжди можна виділити такі типи невизначеностей: невизначеність пробопідготовки ($\Delta_{SP,r}$), невизначеність кінцевої аналітичної операції ($\Delta_{FAO,r}$) і невизначеність атестації стандартного зразка ($\Delta_{RS,r}$). Величина $\Delta_{RS,r}$ звичайно настільки мала, що нею можна знехтувати. Із огляду на це, а також на те, що аналіз проводиться і для випробовуваного розчину (індекс «*smr*»), і для розчину порівняння (індекс «*st*»), вираз (10.5) можна навести у вигляді:

$$\Delta_{As,r} = \sqrt{[(\Delta_{SP,r}^{smr})^2 + (\Delta_{SP,r}^{st})^2] + [(\Delta_{FAO,r}^{smr})^2 + (\Delta_{FAO,r}^{st})^2]} \quad (10.6)$$

При цьому кожний із доданків обчислюють із вхідних до нього компонентів за формулою (10.5).

Якщо число ступенів свободи величин x_i однакове або досить велике (> 30), вираз (10.5) дає:

$$s_{y,r}^2 = \sum_{i=1}^n s_{xi,r}^2 \quad (10.7)$$

Це саме співвідношення за тих самих умов одержують із виразу (10.2).

10.1.1. ЗВАЖЕНЕ СЕРЕДНЄ

Слід зазначити, що в рамках лінійної моделі (10.3) можна одержати зважене середнє декількох нерівноточних вибірок різних генеральних сукупностей, використовуючи як ваги квадрати відповідних довірчих інтервалів. Якщо мають g вибірових середніх \bar{x}_k різних генеральних сукупностей, одержаних із невизначеностями $\Delta_{x,k}$, середнє цих вибірок \bar{x} визначають із співвідношення:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{k=1}^g (1/\Delta_{x,k}^2) \cdot \bar{x}_k}{\sum_{k=1}^g (1/\Delta_{x,k}^2)} \quad (10.8)$$

Абсолютний довірчий інтервал Δ_x цього зваженого середнього визначається із співвідношення:

$$\Delta_x^2 = \frac{1}{\sum_{k=1}^g (1/\Delta_{x,k}^2)} \quad (10.8a)$$

Якщо число ступенів свободи вибірових середніх \bar{x}_k однакове або досить велике (> 30), вираз (10.8) дає:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{k=1}^g (1/s_{x,k}^2) \cdot \bar{x}_k}{\sum_{k=1}^g (1/s_{x,k}^2)} \quad (10.9)$$

$$s_x^2 = \frac{1}{\sum_{k=1}^g (1/s_{x,k}^2)} \quad (10.9a)$$

де:

$s_{x,k}^2$ - дисперсія одиничного результату k -тої вибірки.

Відзначимо, що окремий випадок (10.9) набагато менш застосовний, ніж загальне співвідношення (10.8).

Вибіркові середні \bar{x}_k звичайно близькі між собою і до зваженого середнього \bar{x} , тому у

співвідношеннях (10.8) і (10.8a) замість абсолютних довірчих інтервалів можуть бути використані відносні довірчі інтервали, а у співвідношеннях (10.9) і (10.9a) замість абсолютних дисперсій – відносні дисперсії.

Якщо вибірки являють собою, наприклад, результати аналізу тієї самої речовини в різних лабораторіях, іноді виникає необхідність оцінити середню невизначеність аналізу цієї речовини по всіх лабораторіях. У цьому разі не зовсім коректно яким-небудь чином усереднювати довірчі інтервали $\Delta_{x,k}$, оскільки вони залежать від числа аналізів і теоретично можуть бути одержані як завгодно малими збільшенням числа випробувань. Більш коректно оцінювати міжвибірове відносне стандартне відхилення. Для цього можуть бути використані співвідношення (2.1b) і (2.2). Слід зазначити, що в цьому разі одержане міжвибірове відносне стандартне відхилення не є оцінкою деякого «генерального стандартного відхилення», а являє собою просто середню величину.

10.2. ПІДХІД УЕЛЧА-САТЕРТУЕЙТА

За цим підходом дисперсію величини y (s_y^2) розраховують за співвідношенням (10.2), не зважаючи на розходження у ступенях свободи (v_i) величин x_i . Для одержаної дисперсії s_y^2 розраховують деяке «ефективне» число ступенів свободи v_{eff} (яке звичайно є дробовим), на основі якого потім за таблицями для заданої імовірності інтерполяцією знаходять коефіцієнт Стьюдента. На основі його далі звичайним шляхом розраховують довірчий інтервал величини y (Δ_y).

$$v_{eff} = \frac{s_y^4}{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^4 \cdot s_{xi}^4 / v_i} \quad (10.10)$$

У фармакопейному аналізі для визначуваної величини y звичайно виконується рівняння (10.4). У цьому разі за підходом Уелча-Сатертуейта співвідношення (10.2) переходить у вираз (10.7), і співвідношення (10.10) набирає більш простого вигляду:

$$v_{eff} = \frac{s_{y,r}^4}{\sum_{i=1}^n \frac{s_{xi,r}^4}{v_i}} \quad (10.11)$$

де величину $s_{y,r}^4$ розраховують із співвідношення (10.7).

Підхід Уелча-Сатертуейта звичайно дає більш вузькі довірчі інтервали, ніж лінійна модель. Однак він набагато складніший у застосуванні і не дозволяє виділити невизначеність різних етапів (із наступними рекомендаціями щодо їх мінімізації) так просто, як лінійна модель у формі виразу (10.6).

При прогнозі невизначеності аналізу використовують генеральні величини (із нескінченним числом ступенів свободи). У цьому разі підхід Уелча-Сатертуейта збігається з лінійною моделлю.

10.3. ПРИКЛАДИ РОЗРАХУНКІВ НЕВИЗНАЧЕНОСТІ ФУНКЦІЇ ДЕКИЛЬКОХ ЗМІННИХ

10.3.1. Розрахунок невизначеності випробування готового лікарського засобу методом вискоелективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)

У таблетці із середньою масою 0.50 г міститься 0.050 г речовини А. У процесі проведення кількісного визначення методом ВЕРХ наважку $m = 0.5052$ г порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять розчинником до позначки. Паралельно готують розчин порівняння: 0.0508 г стандартного зразка поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять об'єм розчину розчинником до позначки. Попеременно хроматографують випробовуваний розчин і розчин порівняння, одержуючи по 5 хроматограм кожного розчину. Нижче наведені площі одержаних піків (Табл 10.1)

10.3.1.1. Кінцева аналітична операція

Розраховують середні значення, вміст речовини А в одній таблетці і відносні стандартні відхилення площ піків для випробовуваного розчину і розчину порівняння в кінцевій аналітичній операції.

а) Середні значення площ піків:

Випробовуваний розчин: $(13957605 + 13806804 + 13924245 + 13715195 + 14059478) / 5 = 13892665$.

Розчин порівняння: $(14240777 + 14102192 + 14316388 + 14205217 + 14409585) / 5 = 14254832$.

б) Вміст аналізованої речовини А, у грамах, у перерахунку на середню масу таблетки:

$$X = \frac{S \cdot m \cdot 50 \cdot 0.5}{S^{st} \cdot m_{st} \cdot 50} = \frac{13892665 \cdot 0.0508 \cdot 50}{14254832 \cdot 0.5052 \cdot 50} \cdot 0.5 = 0.0490$$

с) Відносні стандартні відхилення площ піків:

Випробовуваний розчин:

$$RSD = \frac{100}{13846665} \cdot \sqrt{\frac{(13957605 - 13892665)^2 + (13806804 - 13892665)^2 + (13924245 - 13892665)^2 + (13715195 - 13892665)^2 + (14059478 - 13892665)^2}{5}} = 0.97 \%$$

Аналогічно для розчину порівняння: $RSD^{st} = 0.81\%$.

10.3.1.2. Сумарна невизначеність пробопідготовки $\Delta_{sp,r}$

Відповідно до статті «Валідація аналітичних методик і випробувань», невизначеності не мають перевищувати для:

- мірної колби місткістю 50 мл — 0.17 %;
- зважування на аналітичних вагах - 0.2 мг (0.0002 г), що становить:
 - $1000.0002 / 0.5052 = 0.04 \%$ для випробовуваного зразка;
 - $1000.0002 / 0.0508 = 0.39 \%$ для стандартного зразка.

Дані невизначеності можна вважати довірчими інтервалами для ймовірності 95 %.

Сумарну невизначеність пробопідготовки обчислюють за формулою (10.5):

$$\Delta_{sp,r} = \sqrt{(0.04^2 + 0.39^2) + (0.17^2 + 0.17^2)} = 0.46 \%$$

Відзначимо, що такий розрахунок є коректним для обох підходів — лінійної моделі та

Таблиця 10.1

	Площі піків (S і S_{st}) для хроматограм				
	1	2	3	4	5
Випробовуваний розчин	13957605	13806804	13924245	13715195	14059478
Розчин порівняння	14240777	14102192	14316388	14205217	14409585

підходу Уелча-Сатертуейта: оскільки число ступенів свободи для кожного члена тут нескінченне, використовується статистика Гауса.

10.3.1.3. Розрахунок сумарної невизначеності аналізу $\Delta_{As,r}$

Даний розрахунок різниться для лінійної моделі та підходу Уелча-Сатертуейта.

а). Лінійна модель

Загальний випадок. Розраховують невизначеність кінцевої аналітичної операції $\Delta_{FAO,r}$ для випробовуваного розчину та розчину порівняння. При розрахунку довірчих інтервалів використовують однобічний коефіцієнт Стюдента для ймовірності 95 % (= 90 % для двобічного розподілу), що для числа ступенів свободи $5 - 1 = 4$ дорівнює 2.13. Довірчі інтервали розраховують для середнього із 5 результатів, тому в знаменнику маємо $\sqrt{5}$:

$$\Delta_{FAO,r}^{smp} = \frac{1}{\sqrt{5}} \cdot t(90\%, 4) \cdot RSD = \frac{1}{\sqrt{5}} \cdot 2.13 \cdot 0.97 = 0.92\%$$

$$\Delta_{FAO,r}^{st} = \frac{1}{\sqrt{5}} \cdot t(90\%, 4) \cdot RSD_{st} = \frac{1}{\sqrt{5}} \cdot 2.13 \cdot 0.81 = 0.77\%$$

Сумарна невизначеність кінцевої аналітичної операції:

$$\begin{aligned} \Delta_{FAO,r} &= \sqrt{(\Delta_{FAO,r}^{smp})^2 + (\Delta_{FAO,r}^{st})^2} = \\ &= \sqrt{(0.92)^2 + (0.77)^2} = 1.20\% \end{aligned}$$

Використовуючи рівняння (10.6), розраховують сумарну невизначеність аналізу $\Delta_{As,r}$:

$$\Delta_{As,r} = \sqrt{0.46^2 + 1.20^2} = 1.29\%$$

Використання об'єданого стандартного відхилення. Сумарну невизначеність аналізу можна зменшити за рахунок використання об'єданого стандартного відхилення для кінцевої аналітичної операції. Для цього слід врахувати, що RSD і RSD_{st} звичайно є вибірковими величинами тієї самої генеральної сукупності.

Перевіряють спочатку із використанням критерію Фішера (див. Розділ 2.1) гіпотезу про рівність дисперсій:

$$\frac{RSD^2}{RSD_{st}^2} = \frac{0.97^2}{0.81^2} = 1.434 < 6.388 = F(P_1 = 95\%; 4; 4)$$

Як видно, розраховане значення відношення дисперсій значно нижче табличного значення F -критерію на 95 % рівні значущості. Тому

можна прийняти гіпотезу про рівність дисперсій і використати формули розділу 2 для об'єднання вибірок.

Розраховують об'єдане стандартне відхилення за рівнянням (2.1b):

$$RSD_{tot} = \sqrt{[(0.97)^2 + (0.81)^2] / 2} = 0.89\%$$

Згідно (2.2) RSD_{tot} має число ступенів свободи $2(5-1) = 8$. Коефіцієнт Стюдента для даного числа ступенів свободи й однобічної ймовірності 0.95 дорівнює 1.86.

Тоді довірчі інтервали невизначеності кінцевої аналітичної операції для випробовуваного і стандартного розчинів будуть дорівнювати:

$$\begin{aligned} \Delta_{FAO,r}^{smp} &= \Delta_{FAO,r}^{st} = \frac{1}{\sqrt{5}} \cdot t(90\%; 8) \cdot RSD = \\ &= \frac{1}{\sqrt{5}} \cdot 1.86 \cdot 0.89 = 0.74\% \end{aligned}$$

Сумарна невизначеність кінцевої аналітичної операції дорівнює:

$$\begin{aligned} \Delta_{FAO,r} &= \sqrt{(\Delta_{FAO,r}^{smp})^2 + (\Delta_{FAO,r}^{st})^2} = \\ &= \sqrt{(0.74)^2 + (0.74)^2} = 1.05\% \end{aligned}$$

Використовуючи рівняння (10.6), розраховують сумарну невизначеність аналізу $\Delta_{As,r}$:

$$\Delta_{As,r} = \sqrt{0.46^2 + 1.05^2} = 1.15\%$$

Як бачимо, дана величина менша за одержану для звичайного випадку (1.29 %).

в) Підхід Уелча-Сатертуейта

Знаходять стандартне відхилення пробопідготовки з довірчого інтервалу $\Delta_{SP,r} = 0.83\%$, використовуючи коефіцієнт Гауса 1.65 для однобічної ймовірності 0.95 (оскільки число ступенів свободи нескінченне — як для генеральної сукупності):

$$s_{SP,r} = 0.39 / 1.65 = 0.24\%$$

Із співвідношення (10.5) знайдене стандартне відхилення всієї аналітичної методики (RSD^2 і $(RSD^{st})^2$) ділять на 5 як для дисперсій середнього результату:

$$\begin{aligned} s_{As,r} &= \sqrt{s_{SP,r}^2 + \frac{1}{5}[RSD^2 + (RSD^{st})^2]} = \\ &= \sqrt{0.24^2 + \frac{1}{5} \cdot (0.97^2 + 0.81^2)} = 0.61 \end{aligned}$$

Знаходять ефективне число ступенів свободи v_{eff} . При цьому для RSD і RSD^{st} число ступенів свободи дорівнює $5-1 = 4$, а для $s_{SP,r}$ - нескінченність.

$$v_{eff} = \frac{s_{As,r}^4}{\frac{s_{SP,r}^4}{\infty} + \frac{RSD^4}{5^2 \cdot 4} + \frac{(RSD^{st})^4}{5^2 \cdot 4}} = \frac{0.61^4}{0 + \frac{1}{100} \cdot (0.97^4 + 0.81^4)} = 10.5$$

За Табл. 11.2 знаходять коефіцієнт Стюдента для числа ступенів свободи 10.5 і однобічної імовірності 0.95. Це 1.81 (інтерполяція). Тоді довірчий інтервал всієї аналітичної методики становить:

$$\Delta_{As,r} = 1.770.61 = 1.10 \%$$

Як бачимо, довірчий інтервал менший, як для лінійної моделі (1.29 % або 1.15 %).

10.3.2. Прогноз невизначеності спектрофотометричного аналізу готового лікарського засобу

За таких прогнозів завжди використовуються генеральні величини, тому застосовується статистика Гауса. Звичайно використовується коефіцієнт Гауса 1.65 для однобічної імовірності 0.95.

При проведенні спектрофотометричного кількісного визначення готового лікарського засобу беруть номінальні наважки близько $m = 0.50$ г (ГЛС) і близько $m_{st} = 0.050$ г (стандартний зразок). Використовують однакові розведення для випробовуваного розчину і розчину порівняння: наважка > 50 мл (мірна колба); 1 мл (піпетка) одержаного розчину > 100 мл (мірна колба). Спектрофотометрична невизначеність оптичної густини (за паспортом приладу) $s_r = 0.2 \%$, кюветна невизначеність (експериментально знайдена) $s_{cell,r} = 0.1 \%$. Передбачається, що буде проводитися 3-кратний вимір оптичної густини випробовуваного розчину та розчину порівняння з вийманням кювети. Слід провести прогноз невизначеності аналізу.

1) Спочатку знаходять невизначеність пробопідготовки. Згідно із статтею «*Валідація аналітичних методик і випробувань*» невизначеність не мають перевищувати для:

- зважування на аналітичних вагах - 0.2 мг (0.0002 г), що становить $100 \cdot 0.0002 / 0.5 = 0.04 \%$ для випробовуваного зразка і $100 \cdot 0.0002 / 0.050 = 0.40 \%$ для стандартного зразка;
- мірної колби місткістю 50 мл - 0.17 %;
- мірної колби місткістю 100 мл - 0.12 %;
- піпетки місткістю 1 мл - 0.6 %.

Повна невизначеність пробопідготовки становить (із урахуванням випробовуваного розчину та розчину порівняння):

$$\Delta_{SP,r} = \sqrt{(0.04^2 + 0.04^2) + (0.40^2 + 0.40^2) + (0.17^2 + 0.17^2) + (0.12^2 + 0.12^2) + (0.6^2 + 0.6^2)} = 1.06 \%$$

Отже основний внесок у невизначеність пробопідготовки вносить піпетка малого об'єму (0.6%) і мала наважка 0.05 г (0.4 %).

2) Знаходять невизначеність кінцевої аналітичної операції (спектрофотометрії). Коефіцієнт 2 враховує наявність випробовуваного розчину і розчину порівняння:

$$\Delta_{FAO,r} = 1.65 \cdot \sqrt{\frac{2 \cdot (s_{A,r}^2 + s_{cell,r}^2)}{3}} = 1.65 \cdot \sqrt{\frac{2 \cdot (0.2^2 + 0.1^2)}{3}} = 0.30 \%$$

3) Обчислюють за формулою (10.6) повну прогнозовану невизначеність аналізу:

$$\Delta_{As,r} = \sqrt{1.060^2 + 0.30^2} = 1.10 \%$$

Як бачимо, основний внесок у повну невизначеність аналізу вносить пробопідготовка (1.06 %).

10.3.3. Розрахунок середнього значення декількох нерівноточних вибірок

У результаті міжлабораторного експерименту отримані такі результати кількісного аналізу деякого готового лікарського засобу.

Лабораторія	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
\bar{x}_k % абс	10.8	10.6	11.2	11.1	10.9	11.1	10.5	10.8	11.0	11.2
$\Delta_{\bar{x},k}$ % абс.	0.32	0.21	0.65	0.45	0.25	0.32	0.19	0.34	0.42	0.58

Яке середнє значення вмісту діючої речовини має лікарський засіб за даними міжлабораторного експерименту?

Результати аналізу в різних лабораторіях не можна вважати вибірками з однієї генеральної сукупності, навіть якщо вони отримані з використанням одного методу, наприклад, ВЕРХ. Це пов'язано з тим, що точнісні характеристики приладів у різних лабораторіях різні. Зокрема, хроматографи можуть мати істотно різні генеральні дисперсії збіжності хроматографічного сигналу, пов'язані як із приладовими факторами, так і з відмінностями колонок і умов аналізу. Тому рівняння (2.3) тут не застосовне. Не застосовне і рівняння (10.9) – число ступенів свободи, як правило, невелике і не однакове. Тому застосовують співвідношення (10.8):

$$\bar{x} = \frac{\frac{10.8}{0.32^2} + \frac{10.6}{0.21^2} + \frac{11.2}{0.65^2} + \frac{11.1}{0.45^2} + \frac{10.9}{0.25^2} + \frac{11.1}{0.32^2}}{\frac{1}{0.32^2} + \frac{1}{0.21^2} + \frac{1}{0.65^2} + \frac{1}{0.45^2} + \frac{1}{0.25^2} + \frac{1}{0.32^2}}$$

$$\begin{aligned} & + \frac{11.1}{0.32^2} + \frac{10.5}{0.19^2} + \frac{10.8}{0.34^2} + \frac{11.0}{0.42^2} + \frac{11.2}{0.58^2} = \\ & + \frac{1}{0.32^2} + \frac{1}{0.19^2} + \frac{1}{0.34^2} + \frac{1}{0.42^2} + \frac{1}{0.58^2} = \\ & = 10.77 \% \end{aligned}$$

Для порівняння: звичайне (незважене) середнє значення, обчислене за формулою (1.2) становитиме 11.92 %, тобто на $100 \cdot (11.92 - 10.77) / 10.77 = 1.4$ % вище.

Відповідно до співвідношення (10.8a), абсолютний довірчий інтервал цього зваженого середнього дорівнює:

$$\Delta_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{1}{110.51}} = 0.095\%$$

Як видно, ця величина суттєво менше будь-якого окремого довірчого інтервалу $\Delta_{\bar{x},k}$.

11. ДОДАТОК¹

Таблиця 11.1

Числові значення контрольного критерію $Q(P, n)$

n	Q		
	P = 90%	P = 95%	P = 99%
3	0.89	0.94	0.99
4	0.68	0.77	0.89
5	0.56	0.64	0.76
6	0.48	0.56	0.70
7	0.43	0.51	0.64
8	0.40	0.48	0.58
9	0.38	0.46	0.55

¹Большев Л.Н., Смирнов Н.В. Таблицы математической статистики. -М.: Наука, 1983. - 415 с.

Таблиця 11.2

Числові значення коефіцієнта Стьюдента $t(P, \nu)$

$P_1 \rightarrow$	Імовірність P_1 або P_2					
	95 %	97.5 %	99 %	99.5 %	99.9 %	99.95 %
$P_2 \rightarrow$	90 %	95 %	98 %	99 %	99.8 %	99.9 %
Число ступенів свободи $\nu \downarrow$	Значення $t(P, \nu)$					
1	6.3138	12.7062	31.8205	63.6567	318.31	636.619
2	2.9200	4.3027	6.9646	9.9248	22.3271	31.5991
3	2.3534	3.1824	4.5407	5.8409	10.2145	12.9240
4	2.1318	2.7764	3.7469	4.6041	7.1732	8.6103
5	2.0150	2.5706	3.3649	4.0321	5.8934	6.8688
6	1.9432	2.4469	3.1427	3.7074	5.2076	5.9588
7	1.8946	2.3646	2.9980	3.4995	4.7853	5.4079
8	1.8595	2.3060	2.8965	3.5554	4.5008	5.0413
9	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498	4.2968	4.7809
10	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693	4.1437	5.5869
11	1.7956	2.2010	2.7181	3.1058	4.0247	4.4370
12	1.7823	2.1788	2.6810	3.0545	3.9296	4.3178
13	1.7709	2.1604	2.6503	3.0123	3.8520	4.2208
14	1.7613	2.1448	2.6245	2.9768	3.7874	4.1405
15	1.7530	2.1314	2.6025	2.9467	3.7328	4.0728
16	1.7459	2.1199	2.5835	2.9208	3.6862	4.0150
17	1.7396	2.1098	2.5669	2.8982	3.6458	3.9651
18	1.7341	2.1009	2.5524	2.8784	3.6105	3.9216
19	1.7291	2.0930	2.5395	2.8609	3.5794	3.8834
20	1.7247	2.0860	2.5280	2.8453	3.5518	3.8495
21	1.7207	2.0796	2.5176	2.8314	3.5272	3.8193
22	1.7171	2.0739	2.5083	2.8188	3.5050	3.7921
23	1.7139	2.0687	2.4999	2.8073	3.4850	3.7676
24	1.7109	2.0639	2.4922	2.7969	3.4668	3.7454
25	1.7081	2.0595	2.4851	2.7874	3.4502	3.7251
26	1.7056	2.0555	2.4786	2.7787	3.4350	3.7066
27	1.7033	2.0518	2.4727	2.7707	3.4210	3.6896
28	1.7011	2.0484	2.4671	2.7633	3.4082	3.6739
29	1.6991	2.0452	2.4620	2.7564	3.3962	3.6594
30	1.6973	2.0423	2.4573	2.7500	3.3852	3.6460
40	1.6839	2.0211	2.4233	2.7045	3.3069	3.5510
50	1.6759	2.0086	2.4033	2.6778	3.2614	3.4960
100	1.6602	1.9840	2.3642	2.6259	3.1737	3.3905
∞	1.6479	1.9647	2.3338	2.5857	3.1066	3.3101

P_1 – імовірність знаходження справжнього значення величини (μ) в інтервалі $\bar{x} - \Delta_x \leq \mu \leq \infty$ або $-\infty \leq \mu \leq \bar{x} + \Delta_x$ (од-
нобічний розподіл)

P_2 – імовірність знаходження справжнього значення величини (μ) в інтервалі $\bar{x} - \Delta_x \leq \mu \leq \bar{x} + \Delta_x$ (двобічний роз-
поділ)

Віссоткові точки розподілу $\chi^2(P_i, \nu)$

Таблиця 11.3

ν	$P_i = 95 \%$	$P_i = 99 \%$	ν	$P_i = 95 \%$	$P_i = 99 \%$
1	3.841	6.635	11	19.675	24.725
2	5.991	9.210	12	21.026	26.217
3	7.815	11.345	13	22.362	27.688
4	9.488	13.277	14	23.685	29.141
5	11.070	15.086	15	24.996	30.578
6	12.592	16.812	16	26.296	32.000
7	14.067	18.475	20	31.410	37.566
8	15.507	20.090	25	37.652	44.314
9	16.919	21.666	30	43.773	50.892
10	18.307	23.209	40	55.758	63.691

P_i - імовірність того, що оцінюване значення χ^2 не перевищує табличне. Це оцінюване значення розглядається як значуще ($P_i = 95 \%$) або високозначуще ($P_i = 99 \%$).

Таблиця 11.4

Критерій Кокрена. Критичні точки статистики $G = \frac{S_{max}^2}{\sum_{k=1}^g S_k^2}$ побудованої за g незалежними оцінками дисперсії (S_k^2), кожна з яких має ν ступенів свободи

$\nu \rightarrow g \downarrow$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	16	36	
$G(P = 95 \%)$													
2	0.9985	0.9750	0.9392	0.9057	0.8772	0.8534	0.8332	0.8159	0.8010	0.7880	0.7341	0.6602	0.5000
3	0.9669	0.8709	0.7977	0.7457	0.7071	0.6771	0.6530	0.6333	0.6167	0.6025	0.5466	0.4748	0.3333
4	0.9065	0.7679	0.6841	0.6287	0.5895	0.5598	0.5365	0.5175	0.5017	0.4884	0.4366	0.3720	0.2500
5	0.8412	0.6838	0.5981	0.5440	0.5063	0.4783	0.4564	0.4387	0.4241	0.4118	0.3645	0.3066	0.2000
6	0.7808	0.6161	0.5321	0.4803	0.4447	0.4184	0.3980	0.3817	0.3682	0.3568	0.3135	0.2612	0.1667
7	0.7271	0.5612	0.4800	0.4307	0.3974	0.3726	0.3535	0.3384	0.3259	0.3154	0.2756	0.2278	0.1429
8	0.6798	0.5157	0.4377	0.3910	0.3595	0.3362	0.3185	0.3043	0.2926	0.2829	0.2462	0.2022	0.1250
9	0.6385	0.4775	0.4027	0.3584	0.3286	0.3067	0.2901	0.2768	0.2659	0.2568	0.2226	0.1820	0.1111
10	0.6020	0.4450	0.3733	0.3311	0.3029	0.2823	0.2666	0.2541	0.2439	0.2353	0.2032	0.1655	0.1000
12	0.5410	0.3924	0.3264	0.2880	0.2624	0.2439	0.2299	0.2187	0.2098	0.2020	0.1737	0.1403	0.0833
15	0.4709	0.3346	0.2758	0.2419	0.2195	0.2034	0.1911	0.1815	0.1736	0.1671	0.1429	0.1144	0.0667
20	0.3894	0.2705	0.2205	0.1921	0.1735	0.1602	0.1501	0.1422	0.1357	0.1303	0.1108	0.0879	0.0500
24	0.3434	0.2354	0.1907	0.1656	0.1493	0.1374	0.1286	0.1216	0.1160	0.1113	0.0912	0.0743	0.0417
30	0.2929	0.1980	0.1593	0.1377	0.1237	0.1137	0.1061	0.1002	0.0958	0.0921	0.0771	0.0604	0.0333
40	0.2370	0.1576	0.1259	0.1082	0.0968	0.0887	0.0827	0.0780	0.0745	0.0713	0.0595	0.0462	0.0250
60	0.1737	0.1131	0.0895	0.0765	0.0682	0.0623	0.0583	0.0552	0.0520	0.0497	0.0411	0.0316	0.0167
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
$G(P = 99 \%)$													
2	0.9999	0.9950	0.9794	0.9586	0.9373	0.9172	0.8988	0.8823	0.8674	0.8539	0.7949	0.7067	0.5000
3	0.9933	0.9423	0.8831	0.8335	0.7933	0.7606	0.7335	0.7107	0.6912	0.6743	0.6059	0.5153	0.3333
4	0.9676	0.8643	0.7814	0.7212	0.6761	0.6410	0.6129	0.5897	0.5702	0.5536	0.4884	0.4057	0.2500
5	0.9279	0.7885	0.6957	0.6329	0.5875	0.5531	0.5259	0.5037	0.4854	0.4697	0.4094	0.3351	0.2000
6	0.8828	0.7218	0.6258	0.5635	0.5195	0.4866	0.4608	0.4401	0.4229	0.4081	0.3529	0.2858	0.1667
7	0.8376	0.6644	0.5685	0.5080	0.4659	0.4347	0.4105	0.3911	0.3751	0.3616	0.3105	0.2494	0.1429
8	0.7945	0.6152	0.5209	0.4627	0.4226	0.3932	0.3704	0.3522	0.3373	0.3248	0.2779	0.2214	0.1250
9	0.7544	0.5727	0.4810	0.4251	0.3870	0.3592	0.3378	0.3207	0.3067	0.2950	0.2514	0.1992	0.1111
10	0.7175	0.5358	0.4469	0.3934	0.3572	0.3308	0.3106	0.2945	0.2813	0.2704	0.2297	0.1811	0.1000
12	0.6528	0.4751	0.3919	0.3428	0.3099	0.2861	0.2680	0.2535	0.2419	0.2320	0.1961	0.1535	0.0833
15	0.5747	0.4069	0.3317	0.2882	0.2593	0.2386	0.2228	0.2104	0.2002	0.1918	0.1612	0.1251	0.0667
20	0.4799	0.3297	0.2654	0.2288	0.2048	0.1877	0.1748	0.1646	0.1567	0.1501	0.1248	0.0960	0.0500
24	0.4247	0.2871	0.2295	0.1970	0.1759	0.1608	0.1495	0.1406	0.1338	0.1283	0.1060	0.0810	0.0417
30	0.3632	0.2412	0.1913	0.1635	0.1454	0.1327	0.1232	0.1157	0.1100	0.1054	0.0867	0.0658	0.0333
40	0.2940	0.1915	0.1508	0.1281	0.1135	0.1033	0.0957	0.0898	0.0853	0.0816	0.0668	0.0503	0.0250
60	0.2151	0.1371	0.1069	0.0902	0.0796	0.0721	0.0668	0.0625	0.0594	0.0567	0.0461	0.0344	0.0167
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

$s_{max}^2 = \max(s_k^2)$;

P - імовірність того, що всі g оцінок дисперсії є вибірковими значеннями тієї самої генеральної сукупності. Гіпотеза рівності дисперсій може бути значущою ($P = 95 \%$) або високозначущою ($P = 99 \%$).

Таблиця 11.5

Віссоткові точки розподілу Фішера ($F(P_i, v_1, v_2)$ - розподіл)

$v_1 \rightarrow$ $v_2 \downarrow$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	∞
$P_i = 95\%$																
1	161.5	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	246.0	248.0	249.1	250.1	254.3
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.39	19.4	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.50
3	10.13	9.552	9.277	9.117	9.014	8.941	8.887	8.845	8.812	8.786	8.745	8.703	8.660	8.639	8.617	8.527
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.912	5.858	5.803	5.774	5.746	5.628
5	6.608	5.786	5.410	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.773	4.735	4.678	4.619	4.558	4.527	4.496	4.365
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.000	3.938	3.874	3.842	3.808	3.669
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.575	3.511	3.445	3.411	3.376	3.230
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.688	3.581	3.501	3.438	3.388	3.347	3.284	3.218	3.150	3.115	3.079	2.928
9	5.117	4.257	3.827	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.073	3.006	2.937	2.901	2.864	2.707
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.136	3.072	3.020	2.978	2.913	2.845	2.774	2.737	2.700	2.538
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.687	2.617	2.544	2.506	2.466	2.296
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.475	2.403	2.328	2.288	2.247	2.066
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.278	2.203	2.124	2.083	2.039	1.843
25	4.242	3.385	2.991	2.759	2.603	2.490	2.405	2.337	2.282	2.236	2.165	2.089	2.007	1.964	1.919	1.711
30	4.171	3.316	2.922	2.690	2.534	2.421	2.334	2.266	2.211	2.165	2.092	2.015	1.932	1.887	1.841	1.622
50	4.034	3.183	2.790	2.557	2.400	2.286	2.208	2.130	2.082	2.026	1.952	1.871	1.784	1.747	1.697	1.438
∞	3.841	2.996	2.605	2.372	2.214	2.099	2.010	1.938	1.880	1.831	1.752	1.666	1.571	1.517	1.459	1.000
$P_i = 99\%$																
1	4052	5000	5403	5625	5764	5859	5928	5981	6023	6056	6106	6157	6209	6235	6261	6366
2	98.50	99.00	99.17	99.25	99.30	99.33	99.36	99.37	99.39	99.40	99.42	99.43	99.45	99.46	99.47	99.50
3	34.12	30.82	29.46	28.71	28.24	27.91	27.67	27.49	27.35	27.23	27.05	26.87	26.69	26.60	26.51	26.13
4	21.20	18.00	16.69	15.98	15.52	15.21	14.98	14.80	14.66	14.55	14.37	14.20	14.02	13.93	13.84	13.46
5	16.26	13.27	12.06	11.39	10.97	10.67	10.46	10.29	10.16	10.05	9.888	9.722	9.553	9.467	9.379	9.020
6	13.75	10.93	9.780	9.148	8.746	8.466	8.260	8.102	7.976	7.874	7.718	7.559	7.396	7.313	7.229	6.880
7	12.25	9.547	8.451	7.847	7.460	7.191	6.993	6.840	6.719	6.620	6.469	6.314	6.155	6.074	5.992	5.650
8	11.26	8.649	7.591	7.006	6.632	6.371	6.178	6.029	5.911	5.814	5.667	5.515	5.359	5.279	5.198	4.859
9	10.56	8.022	6.992	6.422	6.057	5.802	5.613	5.467	5.351	5.257	5.111	4.962	4.808	4.729	4.649	4.311
10	10.04	7.559	6.552	5.994	5.636	5.386	5.200	5.057	4.942	4.849	4.706	4.558	4.405	4.327	4.247	3.909
12	9.330	6.927	5.953	5.412	5.064	4.821	4.640	4.499	4.388	4.296	4.155	4.010	3.858	3.781	3.701	3.361
15	8.683	6.359	5.417	4.893	4.556	4.318	4.142	4.004	3.895	3.805	3.666	3.522	3.372	3.294	3.214	2.868
20	8.096	5.849	4.938	4.431	4.103	3.871	3.699	3.564	3.457	3.368	3.231	3.088	2.938	2.859	2.779	2.421
25	7.770	5.568	4.675	4.177	3.855	3.627	3.457	3.324	3.217	3.129	2.993	2.850	2.699	2.620	2.538	2.169
30	7.562	5.390	4.510	4.018	3.699	3.473	3.305	3.173	3.067	2.979	2.843	2.700	2.549	2.469	2.386	2.006
50	7.171	5.057	4.199	3.720	3.408	3.186	3.038	2.890	2.803	2.698	2.536	2.419	2.265	2.202	2.116	1.683
∞	6.635	4.605	3.782	3.319	3.017	2.802	2.639	2.511	2.407	2.321	2.185	2.039	1.878	1.791	1.696	1.000

P_i - імовірність того, що оцінюване значення F не перевищує табличне.

Це оцінюване значення розглядається як значуще ($P_i = 95\%$) або високозначуще ($P_i = 99\%$)

Таблиця 11.6

Відсоткові точки вибіркового коефіцієнта кореляції r

$P_1 \rightarrow$	Імовірність P_1 або P_2					
	95 %	97.5 %	99 %	99.5 %	99.75 %	99.95 %
$P_2 \rightarrow$	90 %	95 %	98 %	99 %	99.5 %	99.9 %
Число ступенів свободи $\nu \downarrow$	Значення $R(P, \nu)$					
1	0.9877	0.99692	0.999507	0.999877	0.999969	0.999999
2	0.900	0.9500	0.9800	0.99000	0.99500	0.999000
3	0.805	0.878	0.9343	0.9587	0.9740	0.99114
4	0.729	0.811	0.882	0.9172	0.9417	0.9741
5	0.669	0.754	0.833	0.875	0.9056	0.9509
6	0.621	0.707	0.789	0.834	0.870	0.9249
7	0.582	0.666	0.750	0.798	0.836	0.898
8	0.549	0.632	0.715	0.765	0.805	0.872
9	0.521	0.602	0.685	0.735	0.776	0.847
10	0.497	0.576	0.658	0.708	0.750	0.823
11	0.476	0.553	0.634	0.684	0.726	0.801
12	0.457	0.532	0.612	0.661	0.703	0.780
13	0.441	0.514	0.592	0.641	0.683	0.760
14	0.426	0.497	0.574	0.623	0.664	0.742
15	0.412	0.482	0.558	0.606	0.647	0.725
16	0.400	0.468	0.543	0.590	0.631	0.708
17	0.389	0.456	0.529	0.575	0.616	0.693
18	0.378	0.444	0.516	0.561	0.602	0.679
19	0.369	0.433	0.503	0.549	0.589	0.665
20	0.360	0.423	0.492	0.537	0.576	0.652
25	0.323	0.381	0.445	0.487	0.524	0.597
30	0.296	0.349	0.409	0.449	0.484	0.554
35	0.275	0.325	0.381	0.418	0.452	0.519
40	0.257	0.304	0.358	0.393	0.425	0.490
45	0.243	0.288	0.338	0.372	0.403	0.465
50	0.231	0.273	0.322	0.354	0.384	0.443
60	0.211	0.250	0.295	0.325	0.352	0.408
70	0.195	0.232	0.274	0.302	0.327	0.380
80	0.183	0.217	0.257	0.283	0.307	0.357
90	0.173	0.205	0.242	0.267	0.290	0.338
100	0.164	0.195	0.230	0.254	0.276	0.321

 P_1 - імовірність того, що $r < R$ або $-R < r$ (однобічний критерій), P_2 - імовірність того, що коефіцієнт кореляції r знаходиться в інтервалі $-R < r < R$ (двобічний критерій)Вибірковий коефіцієнт кореляції r значущо (з надійністю P_1 або P_2) відрізняється від нуля, якщо його абсолютна величина $|r|$ перевищує табличне значення $R(P, n)$

Товмасын Е.К.

к.б.н., руководитель группы "Общие статьи на лекарственные формы и фармако-технологические тесты" отдела ГФУ ГП "Научно-экспертный фармакопейный центр"

Общие статьи на лекарственные формы и субстанции в Дополнении к Государственной Фармакопее Украины

В 2003 году предполагается издание Дополнения 1 к Государственной Фармакопее Украины (ГФУ) 1-го изд., введенной в действие с 01.10.2001 года. Наряду с разделом «Общие статьи на лекарственные формы», по аналогии с Европейской Фармакопеей (ЕФ) 4-го изд. (2002 г), отдельно в Дополнение 1 будет введен раздел «Общие монографии», куда войдут новые статьи «Продукты ферментации», «Экстракты» и «Субстанции для фармацевтического применения». В раздел «Общие статьи на лекарственные формы» Дополнения 1 планируется включить следующие общие статьи:

- новые:
 - Лекарственные средства для орошения
 - Жидкие лекарственные средства для наружного применения
- пересмотренные:
 - Глазные лекарственные средства
 - Ушные лекарственные средства
 - Назальные лекарственные средства
 - Лекарственные средства для вагинального применения
 - Лекарственные средства для ректального применения
 - Жидкие лекарственные средства для орального применения
 - Гранулы
 - Порошки для орального применения
 - Таблетки.

Субстанции для фармацевтического применения

Статья «Субстанции» была включена в ГФУ 1-го изд. в качестве национальной, поскольку на момент издания ГФУ в ЕФ такая статья отсутствовала. К изданию Дополнения 1 подготовлена новая, гармонизованная с ЕФ 4-го изд., статья. Рассматриваемая статья, как и большинство статей ГФУ, состоит из двух частей: первая часть представляет собой адаптированный перевод соответствующей статьи ЕФ, вторая часть - национальная. По существу, статья ЕФ включает практически все основные моменты, приведенные в национальной статье «Субстанции» ГФУ 1-го изд., однако мы посчитали целесообразным сохра-

нить национальную часть, включив в нее практически всю прежнюю статью и исключив только ту информацию, которая приведена в европейской части. В национальную часть статьи введено несколько уточнений для реализации требований европейской части в условиях производства в Украине. Следует отметить, что национальная часть статьи, в основном, посвящена обсуждению показателей качества, обычно включаемых в аналитическую нормативную документацию (АНД).

Принципиальное отличие статьи «Субстанции» ГФУ 1-го изд. и статьи, предполагаемой к изданию в Дополнении 1, связано с испытанием *«Сопутствующие примеси»*. Как и в действующей статье ГФУ, в новой статье данное испытание контролирует технологические примеси (полупродукты и побочные продукты), продукты разложения, а также, в некоторых случаях, посторонние примеси. Обычно этим испытанием не контролируются неорганические примеси и остаточные количества органических растворителей. Все примеси, содержание которых превышает 0.1 %, следует идентифицировать. В рамках теста «Сопутствующие примеси» по действующей статье контролируются *конкретно указываемые и неконкретизируемые (неназываемые) примеси*.

В отличие от приведенного разделения примесей, ЕФ вводит понятие *«квалифицируемые примеси»* и *«другие обнаруживаемые примеси»*. Квалифицируемыми примесями названы примеси, содержание которых превышает 0.1 %. Однако, если суточная доза потребления субстанции превышает 2 г, порог квалификации уменьшается до 0.05 %. Квалифицируемыми также являются токсичные или фармакологически активные примеси, содержание которых меньше 0.1 %. Эти примеси могут контролироваться отдельно. «Другими обнаруживаемыми примесями» (по ГФУ «неназываемые») названы примеси, содержание которых менее 0.1 %, кроме тех, которые указаны выше.

Для субстанций, применяемых только в ветеринарии, порог квалификации составля-

ет 0.5 %. Однако уведомлять уполномоченные органы о наличии примесей следует уже при содержании 0.1 %, а идентифицировать примеси - начиная с 0.2 %.

Указанные требования не распространяются на биологические, биотехнологические продукты, радиофармацевтические препараты, растительное и животное сырье.

В национальной части оставлена обычная суммарная регламентация сопутствующих примесей на уровне 2 %.

Как уже отмечалось, в разделе «Общие монографии» взамен отдельных статей «Настойки» и «Экстракты» вводится статья «Экстракты», в которой приведены требования как к экстрактам, так и настойкам. Проект статьи, а так же комментарии к ней будут опубликованы в журнале «Фармаком».

Проект статьи «Продукты ферментации» уже был опубликован в журнале «Фармаком» (№ 2, 2002). В статье приведены общие требования к процессам производства и к выделению продуктов ферментации. В связи с вынесением в ЕФ 4-го изд. данной статьи в раздел «Общие монографии», в монографиях на аминокислоты исключен раздел «Производство», поскольку все субстанции, полученные в результате процесса, включающего стадии ферментации, независимо от наличия указания на это в монографии, должны выдерживать требования статьи «Продукты ферментации». Это уточнение включено также в статью «Субстанции для фармацевтического применения».

Раздел «Общие монографии» далее будет пополнен другими статьями ЕФ 4-го изд., к числу которых относятся «Продукты рекомбинантной ДНК-технологии», «Продукты с риском присутствия агентов, переносящих спонгиформную энцефалопатию животных», «Радиофармацевтические препараты» и др.

Жидкие лекарственные средства для наружного применения - различные по вязкости лекарственные средства, предназначенные для применения на коже (включая кожу головы) или ногтях с целью получения местного или трансдермального действия. Они могут быть растворами, суспензиями и эмульсиями. К ним относятся шампуни, кожные пены и лосьоны. В европейской части статьи в разделе «Испытания» приведены испытания по определению массы или объема содержимого контейнера и на стерильность. В национальной части статьи, по аналогии с другими статьями на лекарственные формы,

приводится перечень показателей качества, обычно контролируемых для этих препаратов: описание, идентификация, рН, объем содержимого контейнера (для многодозовых контейнеров), однородность содержания (для суспензий и эмульсий в однодозовых контейнерах), однородность массы, сопутствующие примеси, микробиологическая чистота (если препарат нестерилизован), плотность и вязкость (для вязких препаратов), седиментационная устойчивость суспензий, количественное определение.

Лекарственные средства для орошения - стерильные водные лекарственные средства большого объема, предназначенные для орошения полостей тела, ран и поверхностей, например, во время хирургических операций. В европейской части статьи в разделе «Испытания» указаны испытания по определению массы или объема содержимого контейнера, тесты на стерильность, бактериальные эндотоксины или пирогены. В национальной части приводится перечень показателей качества, которые обычно контролируют. В этих препаратах дополнительно следует контролировать прозрачность и наличие механических включений.

Глазные лекарственные средства

- В классификацию глазных лекарственных средств введены порошки для приготовления глазных капель и примочек - сухие, стерильные лекарственные средства, которые растворяют или суспендируют непосредственно перед применением в предписанной стерильной жидкости. Для препаратов в однодозовых контейнерах вводятся испытания «Однородность содержания» (2.9.6, тест В) (для препаратов с содержанием действующего вещества 2 мг или менее 2 %) и «Однородность массы» (2.9.5).

- Для всех жидких и мягких глазных лекарственных средств в однодозовых контейнерах введено испытание «Масса или объем содержимого контейнера» (2.9.28) (указанное фармако-технологическое испытание будет включено в Дополнение 1). Испытание предназначено для определения массы или объема жидких (растворов, эмульсий и суспензий) и мягких лекарственных средств только в **однодозовых** контейнерах, используемых полностью или частично. В то время как для многодозовых контейнеров, как и прежде, по требованиям национальной части соответствующих статей, следует проводить испыта-

ние по определению объема содержимого контейнера.

- Для глазных вставок введено испытание на «Однородность содержания» (2.9.6, тест А), независимо от содержания в них действующего вещества, а также приведены уточнения по разделу «Маркировка».

Особое внимание следует обратить на испытание «Однородность содержания». Это испытание было введено в статью ЕФ 4-го изд. для всех глазных лекарственных средств с содержанием действующего вещества 2 мг или менее 2 %. Однако в дополнении ЕФ 4.4 данное испытание исключено и оставлено только для порошков для приготовления глазных капель и примочек, а также для глазных вставок. В национальной части общей статьи на глазные лекарственные средства, как и практически во всех статьях на дозированные лекарственные формы, где в европейскую часть включен тест на однородность содержания, в перечень показателей качества также вводится данное испытание и отдельно приводится ссылка на статью «2.9.6. Однородность содержания действующего вещества в единице дозированного лекарственного средства». Это связано с тем, что при производстве лекарственных средств не в условиях надлежащей производственной практики (GMP), они должны выдерживать требования испытания однородности содержания по национальной части соответствующей статьи. Для глазных лекарственных средств испытание следует проводить для порошков для приготовления глазных капель и примочек, а также для глазных капель в виде суспензий в однодозовых контейнерах, независимо от содержания в них действующих веществ.

Из национальной части данной статьи, как и других статей, исключены разделы «Упаковка» и «Хранение», поскольку они мало информативны и являются повторением информации, уже приведенной в европейской части статьи.

Ушные лекарственные средства

- В раздел «Испытания» для ушных лекарственных средств в однодозовых контейнерах с содержанием действующего вещества 2 мг или менее 2 % введено испытание «Однородность содержания» (2.9.6, тест В), а также испытание «Однородность массы» (2.9.5).

- Для ушных промывок в однодозовых контейнерах введено испытание «Масса или объем содержимого контейнера».

- Ранее в статьях ГФУ на дозированные лекарственные формы все препараты, вводимые путем распыления, были названы «аэрозолями». Поскольку в утвержденном Приказом МЗ Украины № 235 от 26.06.2002 года «Классификаторе лекарственных форм», проводится разделение «распыляющихся» лекарственных средств на аэрозоли и спреи, в статьях ГФУ «Ушные лекарственные средства» и «Назальные лекарственные средства» введен термин «спрей». Определение аэрозолей и требования к ним в равной степени относятся и к спреям, за исключением конкретных требований, предъявляемых к аэрозолям - лекарственным средствам, находящимся под давлением.

- В национальную часть статьи введено испытание «Однородность содержания» для ушных капель в виде суспензий и эмульсий.

Назальные лекарственные средства

- Для ушных промывок в однодозовых контейнерах введено испытание «Масса или объем содержимого контейнера».

- Из национальной части раздела «Испытания» исключено уточнение, связанное с требованием контроля однородности массы, однородности содержания, размера частиц, устойчивости суспензий только для назальных капель системного действия. Указанные испытания, за исключением однородности массы, следует проводить для всех назальных капель, выпускаемых в виде суспензий и эмульсий. В европейской части статьи в разделе «Испытания» указано, что испытания на однородность массы и содержания, а также на однородность дозирования для дозированных аэрозолей и спреев, проводятся в том случае, если это препараты системного действия. Данное уточнение, по-видимому, связано с тем, что, как правило, назальные лекарственные средства системного действия в однодозовых контейнерах относятся к списку сильнодействующих препаратов.

Лекарственные средства для вагинального применения

- В классификацию введены:
 - вагинальные растворы, эмульсии и суспензии,
 - таблетки для приготовления вагинальных растворов и суспензий,

- мягкие лекарственные средства для вагинального применения.

Определение лекарственной формы «вагинальные тампоны» в связи с наличием на рынке огромного перечня гигиенических вагинальных тампонов уточнено: вагинальные медицинские тампоны. Для каждой введенной лекарственной формы приведены разделы «Определение», если необходимо, «Производство» и «Испытания».

- Из названия пессариев исключили слово «литые», так как приготовление пессариев литьем является наиболее распространенным, но отнюдь не единственно возможным методом приготовления. В соответствии с этим расширен раздел «Производство». В ходе производства, в необходимых случаях, проводят испытание «Стойкость суппозиториев и пессариев к разрушению» (2.9.24) (испытание включено в Дополнение 1).

- Для жидких и мягких лекарственных средств введено испытание «Масса или объем содержимого контейнера».

- Следует обратить внимание, что хотя на необходимость проведения в определенных случаях испытания «Определение времени размягчения липофильных суппозиториев» (2.9.22) (испытание будет введено в Дополнение 1) указано в разделе «Производство» для ректальных суппозиториев, данное испытание, в равной степени, применимо и к пессариям, приготовленным на липофильной основе. Данное требование отражено в национальной части статьи «Лекарственные средства для вагинального применения», в связи с чем исключено испытание «Время полной деформации».

Лекарственные средства для ректального применения

- В классификацию к ректальным растворам и суспензиям добавлены также и эмульсии.

- Для жидких и мягких лекарственных средств введено испытание «Масса или объем содержимого контейнера».

- В разделе «Производство» ректальных суппозиториев введено требование о проведении, в необходимых случаях, испытаний определение времени размягчения липофильных суппозиториев (2.9.22) и/или стойкость суппозиториев к разрушению (2.9.24). Для суппозиториев, содержащих диспергированные частицы, при производстве контролируется размер частиц.

- Для ректальных растворов, суспензий и эмульсий исключены испытания «Однород-

ность содержания» и «Однородность массы».

- Поскольку в европейской части статьи уже имеется указание о проведении испытания по определению времени размягчения липофильных суппозиториев» (2.9.22) и в Дополнение 1 введен этот тест, из национальной части исключено приложение «Определение времени полной деформации».

- Из национальной части исключено указание о применении метода ручного выкатывания суппозиториев, поскольку этот метод практически не используется ни в аптечной, ни в производственной практике.

Жидкие лекарственные средства для орального применения

- Введена классификация этих препаратов:
 - оральные растворы, эмульсии и суспензии,

- порошки и гранулы для приготовления оральных растворов и суспензий,

- оральные капли,

- порошки для приготовления оральных капель,

- сиропы,

- порошки и гранулы для приготовления сиропов.

Вводятся определения каждого типа лекарственной формы, испытания и, если необходимо, указания по маркировке.

- Для всех жидких лекарственных средств для орального применения введены испытания «Масса или объем содержимого контейнера», а также «Однородность массы доз, извлекаемых из многодозовых контейнеров» (2.9.27) (данное испытание также включено в Дополнение 1).

- Для жидких лекарственных средств для орального применения в виде эмульсий и суспензий, а также для порошков для приготовления оральных капель, растворов, эмульсий и суспензий, сиропов в однодозовых контейнерах в гармонизованной с ЕФ части приведено требование по однородности содержания, однако в национальной части вновь указывается на необходимость проведения испытания по соответствующим критериям, независимо от содержания в препарате действующего вещества.

- Из национальной части исключены разделы «Хранение» и «Сиропы».

Гранулы

• Введено испытание *«Однородность массы доз, извлекаемых из многодозовых контейнеров» (2.9.27)*.

• Из испытания «Однородность содержание» исключено уточнение о непроведении указанного испытания для поливитаминных препаратов и препаратов, содержащих микроэлементы. Это лишь редакционная правка, поскольку данное уточнение присутствует в статье 2.9.6 (ГФУ, с. 158). Эта правка введена также в статьи «Порошки для орального применения» и «Таблетки».

• Для гранул с модифицированным высвобождением и кишечнорастворимых гранул введено испытание *«Растворение» (2.9.3)*.

Порошки для орального применения

• Исключено испытание *«Измельченность»*.

• Введено испытание *«Однородность массы доз, извлекаемых из многодозовых контейнеров» (2.9.27)*.

Таблетки

• Во вводную часть статьи введено указание о *нераспространении требований данной статьи на леденцы, оральные лиофилизаты, пасты и жевательные резинки*.

• В классификацию введены *таблетки, диспергирующиеся в ротовой полости*, представляющие собой таблетки без оболочки, которые помещают в полость рта, где они прежде, чем быть проглочены, должны быстро диспергироваться. Эти таблетки должны распадаться в течение не более 3 мин.

• В раздел «Производство» внесено исправление: меры по обеспечению необходимой прочности и устойчивости таблеток к раздавливанию и истиранию, предпринимаются при производстве самих **таблеток**, а не только **ядра**. Для разделяемых таблеток, вводится уточнение о необходимости представления компетентным уполномоченным органам данных, подтверждающих, что отдельные разделенные части таблетки выдерживают требования испытания *«Однородность содержания действующего вещества в единице дозированного лекарственного средства» (2.9.6, тест А)* или *«Однородность массы для единицы дозированного лекарственного средства» (2.9.5)*.

• В разделе «Испытания» для испытания «Однородность содержания» внесено уточнение о том, что таблетки, покрытые оболочкой, за исключением пленочной оболочки, должны выдерживать испытание однородности содержания действующего вещества в единице дозированного лекарственного средства (тест А), независимо от содержания в них действующего вещества или веществ.

• Для таблеток, покрытых оболочкой, введен раздел *«Производство»*, в котором приведена информация о возможности контроля однородности содержания или однородности массы таблеток, за исключением таблеток, покрытых пленочной оболочкой, путем контроля ядер таблеток.

• Для таблеток, приготовленных из гранул и частиц, предварительно покрытых кишечнорастворимой оболочкой, введено испытание *«Растворение»*.

• В связи с появлением в Дополнении ЕФ 4.1 статьи «Оромукосные лекарственные средства», в разделе «Таблетки для применения в полости рта», введена ссылка на указанную общую статью и, соответственно, на необходимость выполнения требований этой статьи.

Обращаем внимание, что из национальной части всех статей на дозирование лекарственной формы исключен раздел *«Маркировка»*, так как требования к маркировке регулируются отраслевыми стандартами и приказами.

В отделе ГФУ ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр» группой «Общие статьи на лекарственные формы и фармако-технологические тесты» ведутся работы по разработке проектов статей «Палочки», «Жевательные резинки медицинские», «Трансдермальные пластыри», «Лекарственные средства для ингаляций» и др., а также по пересмотру действующих статей «Лекарственные средства для парентерального применения» и «Мягкие лекарственные средства для местного применения». На стадии разработки находится и ряд статей раздела «Общие монографии» и статьи по фармако-технологическим испытаниям.

Замечания и предложения по статьям на лекарственные формы можно направлять в адрес ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр» (отдел ГФУ) или журнала «Фармаком».

Фітохімічні дослідження

УДК 615.012.014.

Безчаснюк Е.М., Дячок В.В., Кучер О.В., Бойко В.А.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»
Государственный университет «Львовская Политехника»

Математическая модель процесса экстрагирования из растительного сырья

Построена математическая модель процесса экстрагирования из растительного сырья. На конкретном примере показан механизм применения этой модели. С ее помощью разработана стадия экстрагирования технологического процесса производства фиточаев: желудочного, слабительного и противогеморроидального.

При изучении экстрагирования из растительного сырья традиционно допускается, что последнее представляет собой однородную клеточную среду, через которую происходит диффузия, характеризующаяся кинетической константой — коэффициентом массопередачи. Согласно этому представлению и разрабатываются математические модели [3,6].

Однако, обычно процессу экстрагирования предшествует сушка, при которой удаляется влага из свободного внутреннего объема твердого тела (растительного сырья). Впоследствии, при экстрагировании этот объем заполняется экстрагентом, который проникает в клетку сквозь клеточную оболочку, растворяет там целевой компонент и создает условия для диффузии последнего к внешней границе раздела фаз, а затем и в основной объем экстрагента. Таким образом, движения целевого компонента состоит из таких стадий: диффузия через клеточную оболочку; диффузия через свободный объем твердого тела; переход вещества с поверхности твердого тела в основной объем экстрагента.

Исходя из вышеизложенного, следует предположить, что основное сопротивление переходу целевого вещества в основную массу экстрагента оказывает клеточная оболочка. Поэтому областью определения концентрации целевого компонента C есть свободный объем клетки V , а концентрация раствора в свободном объеме частицы твердого тела незначительно превышает концентрацию основной массы экстрагента C_1 .

При этом количество вещества, которое извлекается из твердого тела за определенный промежуток времени t , определяется выражением:

$$-V \frac{dC}{dt} = k \cdot F_0 \cdot \varepsilon \cdot (C - C_1), \quad (1)$$

где k — коэффициент массопередачи, м/с;
 F_0 — площадь внешней поверхности частицы твердого тела, м²;
 ε — порозность частицы твердого тела;
 V — свободный объем клетки, м³.

Порозность ε — это отношение объема пустот в частице твердой фазы к ее полному объему:

$$\varepsilon = \frac{U_0}{U}$$

U_0 определяли путем взвешивания определенного количества частиц твердой фазы (выборки частиц) до и после пропитки частиц водой.

Согласно уравнению материального баланса, количество вещества, извлеченное из твердого тела за определенный промежуток времени, определяется уравнением:

$$W \cdot (C_1 - C_n) = V \cdot (C_0 - C), \quad (2)$$

где W — объем экстрагента, м³;

C_n — начальная концентрация экстрагента ($C_n = 0$), кг/м³;

C_0 — начальная концентрация целевого компонента в клетках твердого тела, кг/м³.

В условиях равновесия $C = C_1 = C_{1p}$, поэтому уравнение материального баланса будет иметь вид:

$$W \cdot C_{1p} = V \cdot (C_0 - C_{1p}) \quad (3)$$

где C_{1p} — равновесная концентрация экстрагента, кг/м³.

Решим систему, которая включает уравнения (1), (2), (3). Для этого определим из уравнения (2) концентрацию C , продифференцируем полученное выражение по времени и подставим результат в уравнение (1). Получим:

$$\frac{V}{\beta} \cdot \frac{dC_1}{dt} = k \cdot F_0 \cdot \varepsilon \left[(C_0 - C_1) \cdot \left(1 + \frac{1}{\beta} \right) \right], \quad (4)$$

где:

$$\beta = \frac{V}{W} \quad (5)$$

После разделения переменных и интегрирования имеем:

$$-\frac{1}{1 + \frac{1}{\beta}} - \ln \left[(C_0 - C_1) \cdot \left(1 + \frac{1}{\beta} \right) \right] = \frac{k \cdot \beta \cdot F_0 \cdot \varepsilon}{V} \cdot t + A \quad (6)$$

Постоянную интегрирования A находим из начальных условий при $t = 0, C_1 = 0$:

$$A = -\frac{1}{1 + \frac{1}{\beta}} \cdot \ln C_0 \quad (7)$$

Из уравнений (6) и (7) после незначительных математических преобразований получим:

$$-\ln \left[\left(1 - \frac{C_1}{C_0} \right) \cdot \left(1 + \frac{1}{\beta} \right) \right] = \frac{k \cdot F_0 \cdot \varepsilon \cdot (\beta + 1)}{V} \cdot t \quad (8)$$

Или, определив из уравнения (3) концентрацию C_0 и подставив ее значение в уравнение (8), после потенцирования, получим конечное уравнение:

$$1 - \frac{C_1}{C_{1p}} = \exp \left[-\frac{k \cdot F_0 \cdot \varepsilon \cdot (\beta + 1)}{V} \cdot t \right] \quad (9)$$

Данное уравнение в логарифмических координатах описывает прямую линию, по характеру которой можно определить механизм процесса экстрагирования, а по известному значению тангенса угла наклона - коэффициент массопередачи k .

Принципиально возможны два пути экстрагирования сборов лекарственного растительного сырья, при которых:

- экстрагированию подвергают каждый вид растительного сырья отдельно;
- экстрагированию подвергают смесь растительного сырья.

Как показали результаты экспериментального исследования, конечное количество экстрагированных веществ одинаково. Но при реализации второго варианта решается проблема дозирования и перемешивания отдельных составляющих компонентов при получении конечного продукта производства (лекарственного фиточая). Это имеет большое значение при производстве, так как уменьша-

ется количество технологических операций, а вместе с тем и дополнительные потери, в особенности, тех компонентов, которые входят в состав фиточая в незначительных количествах.

В качестве объектов исследования выбрали смеси лекарственных трав, входящие в состав фиточая: слабительного, желудочного и противогеморроидального. Фиточай слабительный состоит из коры крушины - 3 ч., листьев крапивы - 2 ч., травы тысячелистника - 1 ч.; фиточай желудочный - из коры крушины - 3 ч., листьев крапивы - 3 ч., листьев мяты - 2 ч., корневищ с корнями валерианы - 1 ч., корневищ аира - 1 ч.; фиточай противогеморроидальный - из листьев сенны - 1 ч., коры крушины - 1 ч., травы тысячелистника - 1 ч., плодов кориандра - 1 ч., корней солодки - 1 ч.

Кинетику экстрагирования вышеназванных объектов изучали в аппарате с мешалкой, снабженном роторно-пульсационным устройством, при температуре $(90 \pm 5)^\circ \text{C}$. В качестве экстрагента использовали воду питьевую. Соотношение фаз (твердое тело - жидкость) составляло 1:25. Полученные результаты кинетики экстрагирования смесей растительного сырья представлены в Табл. 1 и на Рис. 1. Подставляя эти значения в логарифмических координатах в полученное конечное уравнение, имеем:

$$\lg \left(1 - \frac{C_1}{C_{1p}} \right) = -k^* \cdot t, \quad (10)$$

где:

$$k^* = \frac{0.434 \cdot k \cdot F_0 \cdot \varepsilon \cdot (\beta + 1)}{V} \quad (11)$$

(см. уравнение (8))

Получили три прямые (Рис. 2), с помощью которых определили значение k^* - тангенс угла наклона (Табл. 1).

Из уравнений (2) и (5) находим β :

$$\beta = \frac{C_{1p}}{C_0 - C_{1p}} \quad (12)$$

Если частицам твердой фазы придать форму шара, тогда для одной частицы:

$$F_0 \cdot \varepsilon = \frac{3 \cdot U_0}{R} \quad (13)$$

Для всей массы экстрагированного сырья:

$$F_0 \cdot \varepsilon = \frac{3 \cdot U_0 \cdot G}{R \cdot g}, \quad (14)$$

Таблица 1

Результаты изучения кинетики экстрагирования смеси растительного сырья

Название фиточая	Показатели	Время экстрагирования t , [с]					
		150	300	450	600	1200	2400
желудочный	C_t ; [кг/м ³]	7.10	11.25	12.76	13.80	14.30	14.80
	$\lg(1-C_t/C_{1p})$	-0.27	-0.61	-0.83	-1.10	-1.30	-
слабительный	C_t ; [кг/м ³]	7.60	12.47	14.20	15.02	15.80	17.30
	$\lg(1-C_t/C_{1p})$	-0.25	-0.55	-0.74	-0.88	-1.06	-
противогеморроидальный	C_t ; [кг/м ³]	3.60	5.80	7.80	9.40	11.19	11.25
	$\lg(1-C_t/C_{1p})$	-0.15	-0.27	-0.42	-0.61	-1.32	-

где G – масса твердой фазы, загруженной на экстракцию, кг;

g – масса одной частицы, кг;

\bar{R} – средний радиус частицы твердой фазы, м.

Для определения \bar{R} и g был выполнен статистический анализ (функция распределения частиц по размерам).

Тогда конечное уравнение определения коэффициента массопередачи k будет иметь вид:

$$k = \frac{k^* \cdot \beta \cdot W \cdot \bar{R} \cdot g}{1.304 \cdot U_0 \cdot G \cdot (\beta + 1)} \quad (15)$$

Экспериментальные величины и результаты расчетов приведены в Табл. 2.

Таким образом, в условиях данных экспериментов процесс экстрагирования лимитируется внешней диффузией. Это подтверждается тем, что: во – первых, прямые, приведенные на Рис. 2 аналогичны прямой, представленной на Рис. 3; во – вторых, коэффициенты массопередачи, приведенные в Табл. 2, являются величинами одного порядка; в – третьих, на кинетику процесса существенно влияет скорость перемешивания.

Описанный процесс экстрагирования нашел применение в технологии производства слабительного, желудочного и противогеморроидального фиточаев. На способ получения вышеназванных препаратов получены патенты Украины [6,7,8].

Вывод

Построена математическая модель процесса экстрагирования растительного сырья и на конкретном примере показан механизм ее использования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксельруд Г.А., Лысянский В.М. Экстрагирование (система твердое тело – жидкость). – Ленинград: Химия, 1974. – 286 с.
2. Езау К. Анатомия семян. (Пер. с английского) – Т. 1, 2. – М.: Мир, 1980. – С. 53-58.
3. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья. – М.: Медицина, 1976. – 208 с.
4. Романков П.Г., Курочкина М.И. Экстрагирование из твердых материалов. – Ленинград: Химия, 1983. – С. 110-162.
5. Семенішин Є. М., Троцький В.І., Кобильник І.В., Грибик Є.М., Максимович Я.А. Кінетика екстрагування компонентів із лікарської сировини // Фармац. журн. - 1991. - № 5. - С. 60-62.
6. Пат. 38567 А Україна, МПК А 61К 37/78. Спосіб одержання лікувально-профілактичного фіточаю проносної дії / Привалова Є.Г., Безчаснюк О.М., Відюкова О.І. – 15 с.
7. Пат. 37828 А Україна, МПК А 61К 35/78. Спосіб одержання фіточаю для лікування і профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту / Привалова Є.Г., Безчаснюк О.М., Відюкова О.І. – 15 с.
8. Пат. 42192 А Україна, МПК А 61К 35/78. Спосіб одержання лікувально-профілактичного протигеморoidalного фіточаю / Привалова Є.Г., Безчаснюк О.М., Кучер О.В. та ін. – 15 с.

Резюме

Безчаснюк О.М., Дячок В.В., Кучер О.В., Бойко В.А.

Математична модель процесу екстрагування із рослинної сировини

Побудована математична модель процесу екстрагування із рослинної сировини. На конкретному прикладі

Таблица 2

Экспериментальные величины и результаты расчетов коэффициента массопередачи процесса экстрагирования

Название фиточая	U_0 , [м ³]	β	\bar{R} , [м]	g , [кг]	k^* , [с ⁻¹]	k , [м/с]
желудочный	$8.29 \cdot 10^{-9}$	0.050	$1.5 \cdot 10^{-3}$	$1.06 \cdot 10^{-8}$	$1.82 \cdot 10^{-3}$	$2.55 \cdot 10^{-9}$
слабительный	$9.15 \cdot 10^{-9}$	0.049	$1.5 \cdot 10^{-3}$	$1.13 \cdot 10^{-8}$	$1.75 \cdot 10^{-3}$	$2.32 \cdot 10^{-9}$
противогеморроидальный	$9.74 \cdot 10^{-9}$	0.050	$1.5 \cdot 10^{-3}$	$1.17 \cdot 10^{-8}$	$1.26 \cdot 10^{-3}$	$1.59 \cdot 10^{-9}$

показаний механізм застосування цієї моделі. Із її допомогою розроблена стадія екстрагування технологічного процесу виробництва фіточаїв: шлункового, проносного, протигемороїдального.

Summary

Bezchasnyuk E.M., Dyachok V.V., Kucher O.V., Boyko V.A.

Mathematical model of extracting from plant raw material process

A mathematical model of extracting from plant raw material process was defined. A mechanism of this model using was demonstrated by the specific example. With the help of this model the extraction stage of stomachal, laxative and antihemorrhoidal phyto-teas manufacturing technological process was developed.

Безчаснюк Елена Михайловна. Окончила Харьковский государственный университет им. Горького (1986). Ст. науч. сотрудник лаборатории технологии фитохимических производств (ЛТФП) ГП ГНЦАС. К. фарм. н. (1996).

Дячок Василий Владимирович (р. 1963). Окончил Львовский политехнический институт (1986). Директор по науке АО «Галичфарм» (1999). К. т. н. (1994).

Кучер Ольга Викторовна. Окончила Харьковский государственный фармацевтический институт (1989). Мл. науч. сотрудник ЛТФП ГП ГНЦАС.

Бойко Валерий Анатольевич. Окончил Харьковский политехнический институт (1994). Инженер I категории ЛТФП ГП ГНЦАС.

УДК 615.322: 615.356: 677.115.083

Ємельянова І. В., Ковальов В.М., Журавель І.О.

Національний фармацевтичний університет

Динаміка накопичення суми ліпофільних сполук в екстрактах грінделії розчепіреної

Проведено дослідження динаміки накопичення суми ліпофільних речовин в надземній частині грінделії розчепіреної, заготовленої на різних стадіях вегетації: розетки, вегетація, бутонізація, цвітіння та плодоношення. Виявлено динаміку накопичення різних ліпофільних сполук: насичених та ненасичених жирних кислот, каротиноїдів, хлорофілів і токоферолів та встановлена залежність їх накопичення від фази вегетації рослини.

У виробничих програмах провідних фармацевтичних компаній світу фітопрепарати займають одне із ведучих місць [15, 19]. Більше 40 % лікарських засобів, що використовуються у медицині, - препарати рослинного походження [14]. Фітопрепарати високо оцінюються медиками та пацієнтами завдяки їх позитивним властивостям: м'якості впливу, надійності, відсутності небажаних побічних ефектів і навантаження на організм, можливості тривалого застосування та ін. [10, 12, 14, 18]. Крім того, ці препарати більш м'яко включаються до процесів метаболізму клітин і за своїм біологічним ефектом наближаються до дії природних метаболітів, які беруть участь у процесах внутрішнього обміну [4, 17].

Останнім часом приділяється велика увага дослідженню ліпофільних екстрактів, що одержані з лікарських рослин, і розробці на їхній основі лікарських препаратів із різною біологічною активністю. Це обумовлено, поперше, комплексним використанням лікарської сировини, по-друге, тим, що ліпофільні фракції містять фенольні сполуки, ліпіди, хлорофіли, жиророзчинні вітаміни, стерини, які у залежності від складу та структури окремих компонентів, виявляють різні види біологіч-

ної дії. На їх основі створено і використовується в медичній практиці багато лікарських препаратів [2, 3, 19].

Рослинні екстракти, які одержують із використанням органічних розчинників, істотно відрізняються від екстрактів, одержаних із використанням рослинних олій, більш багатим хімічним складом. Вони містять флавоноїди, кумарини, гліколіпіди, фосфоліпіди, стероли, тритерпеноїди та ін. Їхня біологічна активність більш виражена, а спектр фармакологічної дії набагато ширше. Ці екстракти виявляють протизапальну, болезаспокійливу, протиопікову, ранозагоювальну, антиалергічну, протимікробну та противірусну дії [5, 9, 11, 20, 21].

Тому нами продовжується вивчення ліпофільних екстрактів, одержаних із грінделії розчепіреної [7, 8]. Задачею дослідження стало вивчення динаміки накопичення суми ліпофільних сполук: насичених та ненасичених жирних кислот, а також хлорофілів та каротиноїдів у надземній частині грінделії розчепіреної на різних фазах вегетації.

Жирні кислоти - обов'язкові компоненти ліпофільних екстрактів, тому що ці речовини завжди беруть участь у процесі біосинтезу

жирів та входять до складу рослинних клітин. Жирні кислоти виявляють F-вітамінну, репаративну та ін. активність, а також забезпечують фармакологічний ефект ряду лікарських препаратів [1, 4, 11].

Каротиноїди та токоферолі відносяться до групи жиророзчинних вітамінів. Каротиноїди регулюють процеси обміну речовин, виявляють епітелізуючу, протизапальну, анальгетичну, імуномодулюючу та канцеропротекторну дії, через що екстракти, збагачені їх сумішшю, застосовуються для лікування різних захворювань у педіатрії, гінекології, офтальмології, онкології [1, 4]. Токоферолі є активними антиоксидантами. Вони захищають від окиснення інші речовини, беруть участь в окисно-відновних реакціях, регулюють обмінні процеси [4].

Експериментальна частина

Для одержання ліпофільних екстрактів грінделії розчепіреної використовували сировину, заготовлену у 2001 році у Харківській області на різних стадіях вегетації рослини: надземну частину - у фазі утворення розеток, пагони довжиною 10-20 см та 20-30 см - у фазі вегетації, надземну частину - у фазі бутонізації, надземну частину (верхівки довжиною 25-30 см та кошики) - у фазі цвітіння, надземну частину і плоди - у фазі плодоношення (Табл. 1).

Для виділення суми ліпофільних речовин брали по 20.0 г подрібненої сировини та вичерпно екстрагували за однакових умов хлороформом в апараті Сокслета. Отримані хлороформні екстракти упарювали до видалення екстрагенту. Після цього визначали відсотковий вміст суми ліпофільних речовин в рослинній сировині ваговим методом. Вивчали органолептичні та фізико-хімічні властивості одержаних фракцій [3, 9].

Якісно та кількісно склад жирних кислот ліпофільних фракцій аналізували методом газорідинної хроматографії на хроматографі з полуменево-іонізаційним детектором «Shimadzu GC-14B» за таких умов: колонка капілярна кварцова розміром 60 м x 0.32 мм, НР 23 0.25 мкм, стаціонарна фаза ціанопропіл - метилсилосан (1:1), газ-носіє - водень, швидкість газу-носія - 1.0 мл/хв, температура колонки 175 °С, температура інжектора - 240 °С, температура детектора - 250 °С. Аналіз жирних кислот проводили методом газорідинної хроматографії, використовуючи як розчинник циклогексан, із попередньою підготовкою зразка екстракту [6]: метилуванням жир-

них кислот для одержання низькокиплячих летких похідних.

Таблиця 1

Досліджувані зразки грінделії розчепіреної

Номер зразка	Фаза вегетації	Частина рослини
1	розетки	надземна частина
2	вегетація	пагони довжиною 10-20 см
3		пагони довжиною 20-30 см
4	бутонізація	надземна частина
5	цвітіння	надземна частина
6		верхівки довжиною 25-30 см
7		кошики
8	плодоношення	надземна частина
9		плоди

Для цього 1.0 г ліпофільного екстракту розчиняли в 10 мл петролейного ефіру (70-100 °С) і 5 мл 10 % розчину калію гідроксиду. Об'єднані витяги нейтралізували 1 % розчином кислоти хлористоводневої до одержання кислої реакції (рН 5.0-5.5) за універсальним індикатором. Водний розчин обробляли трьома порціями, по 10 мл кожна, діетилового ефіру, органічні фази об'єднували, сушили безводним кристалічним натрію сульфатом та відганяли ефір. Залишок розчиняли у 20 мл метанолу безводного та додавали кислоту хлористоводневу.

Після закінчення процесу метилування реакційну суміш упарювали до сухого залишку, який розчиняли у мінімальній кількості циклогексану та аналізували на газорідинному хроматографі.

Кількісний вміст кожного з компонентів обчислювали за формулою:

$$X = \frac{S_i \cdot 100}{\sum_{i=1}^n S_i}$$

де:

S_i - середнє значення площ піків метилового ефіру відповідної жирної кислоти, розраховане із хроматограм досліджуваного зразка;

$\sum_{i=1}^n S_i$ - середнє значення суми площ усіх піків метилових ефірів жирних кислот, розраховане із хроматограм досліджуваного зразка.

Для якісного аналізу хлорофілів, каротиноїдів і токоферолів в досліджуваних зразках використовували метод хроматографії в тонкому шарі сорбенту та відповідні якісні реакції [8, 16]. Для кількісного аналізу хло-

рофілів у ліпофільних екстрактах грінделії розчепіреної брали точні наважки по 0.2 г ліпофільних фракцій та аналізували методом фотоелектроколориметрії [8, 13, 16]. Кількісний вміст каротиноїдів визначали спектрофотометричним методом із точних наважок 0.05 г ліпофільного екстракту [8, 9].

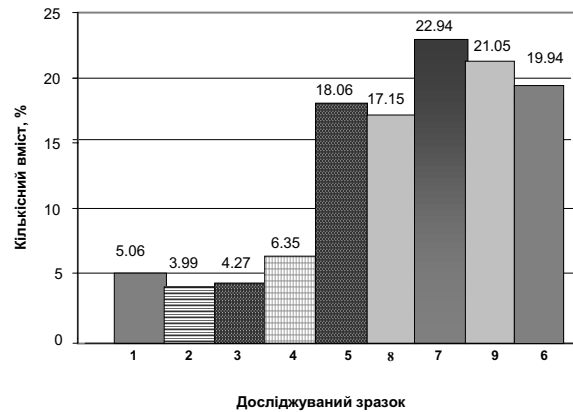
Результати та їх обговорення

Одержано ліпофільні екстракти з надземної частини грінделії розчепіреної, яка була заготовлена на різних фазах вегетації рослини: розетки, вегетація, бутонізація, цвітіння, плодоношення (зразки 1, 2, 3, 4, 5, 8). Результати динаміки накопичення суми ліпофільних речовин представлені на Рис. 1. Як видно, найменша кількість ліпофільних речовин накопичується в надземній частині грінделії розчепіреної, заготовленої у фазах розеток та вегетації (зразки 1, 2, 3), а найбільша - у фазах цвітіння та плодоношення (зразки 5 та 8). Тому було цікаво та доцільно вивчити також накопичення суми ліпофільних речовин у кошиках, насінні та верхівках довжиною 20-25 см, заготовлених у фазі цвітіння (зразки 7, 9, 6, відповідно).

Аналізуючи експериментальні дані, ми дійшли висновку, що для одержання ліпо-

фільного екстракту найбільш доцільно використовувати надземну частину (верхівки довжиною 20-25 см) грінделії розчепіреної, заготовлену у фазі цвітіння, а також кошики та плоди.

Рисунок 1

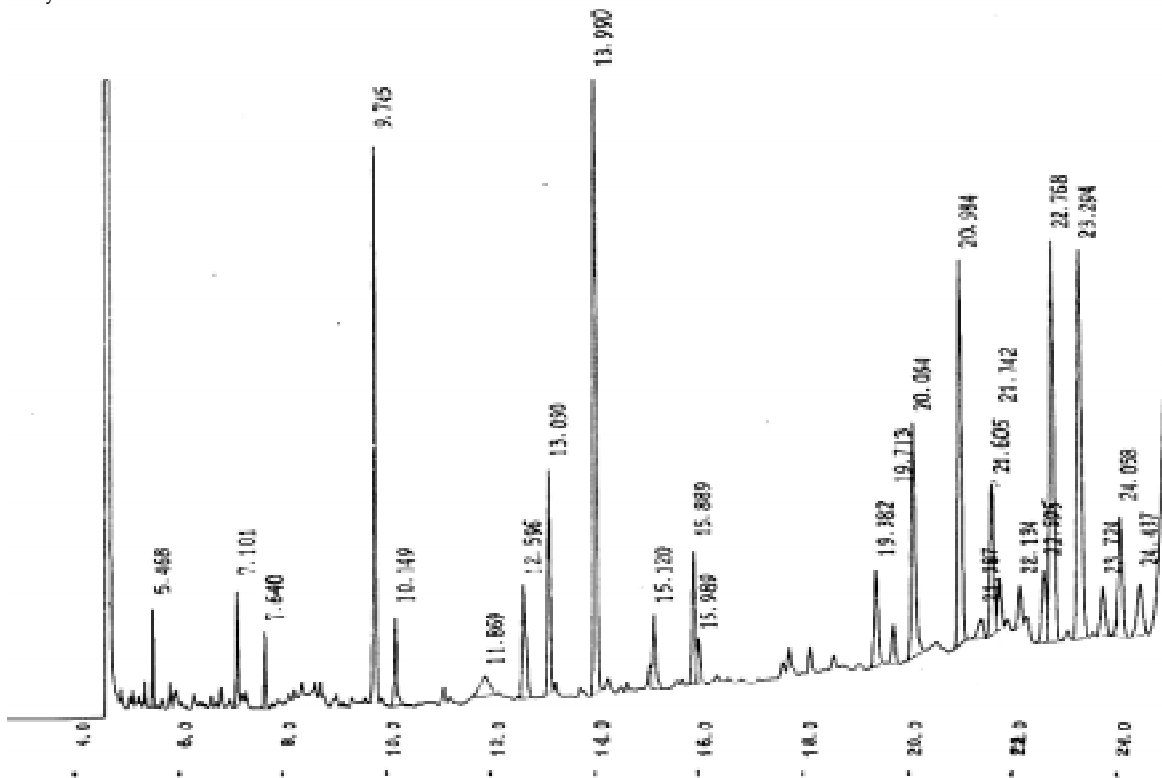


Динаміка накопичення суми ліпофільних сполук у надземній частині грінделії розчепіреної на різних стадіях вегетації

Із метою стандартизації одержаних ліпофільних фракцій були вивчені їх органолептичні та фізико-хімічні властивості [3, 9].

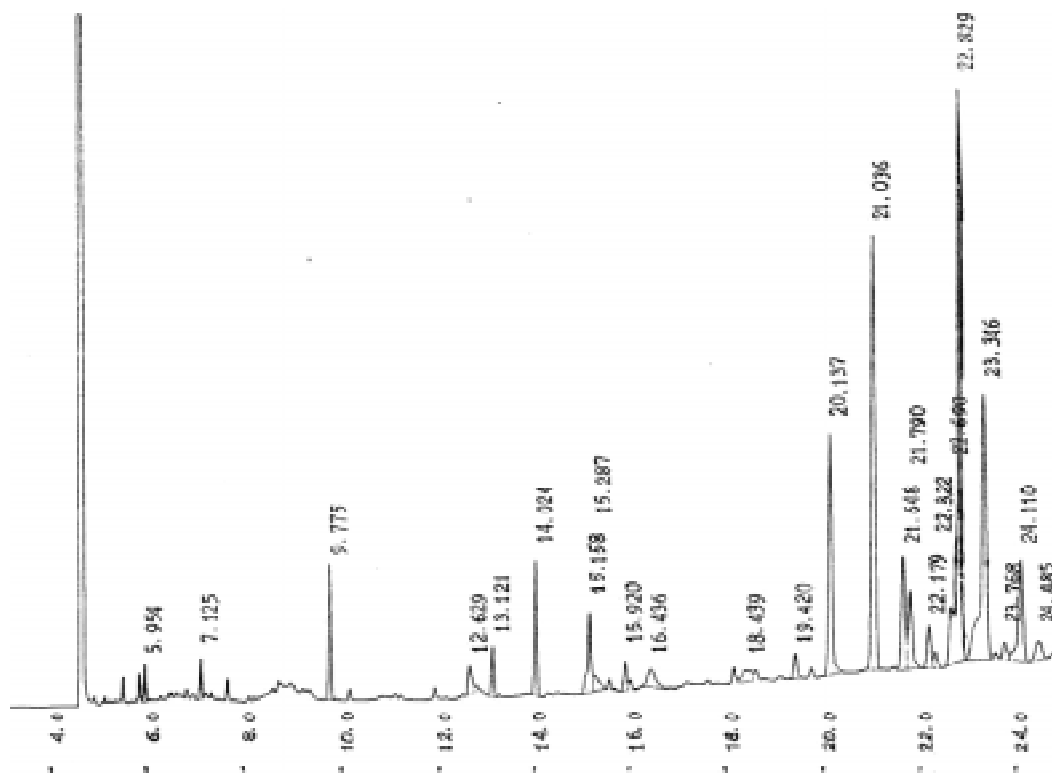
Одержані ліпофільні фракції являють собою густі однорідні маси зеленуватого та зе-

Рисунок 2



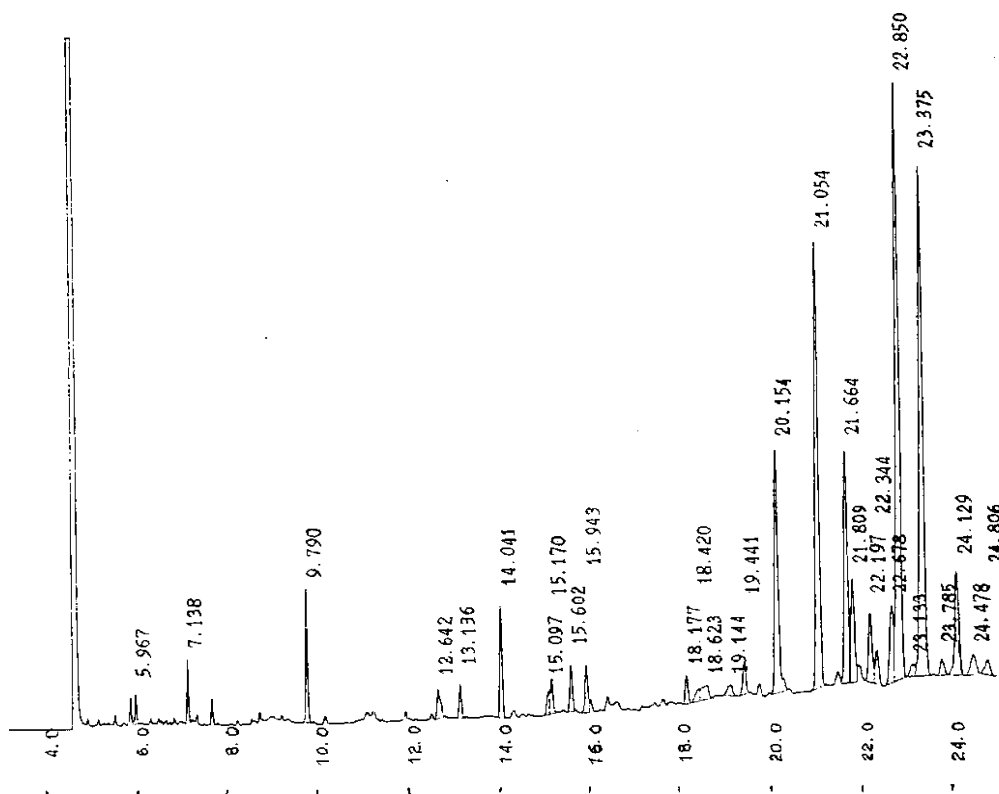
Хроматограма дослідження жирнокислотного складу зразка 6

Рисунок 3



Хроматограма дослідження жирнокислотного складу зразка 7

Рисунок 4



Хроматограма дослідження жирнокислотного складу зразка 9

Таблиця 2

Динаміка накопичення жирних кислот в ліпофільних екстрактах із надземної частини грінделії розчепреної на різних стадіях вегетації

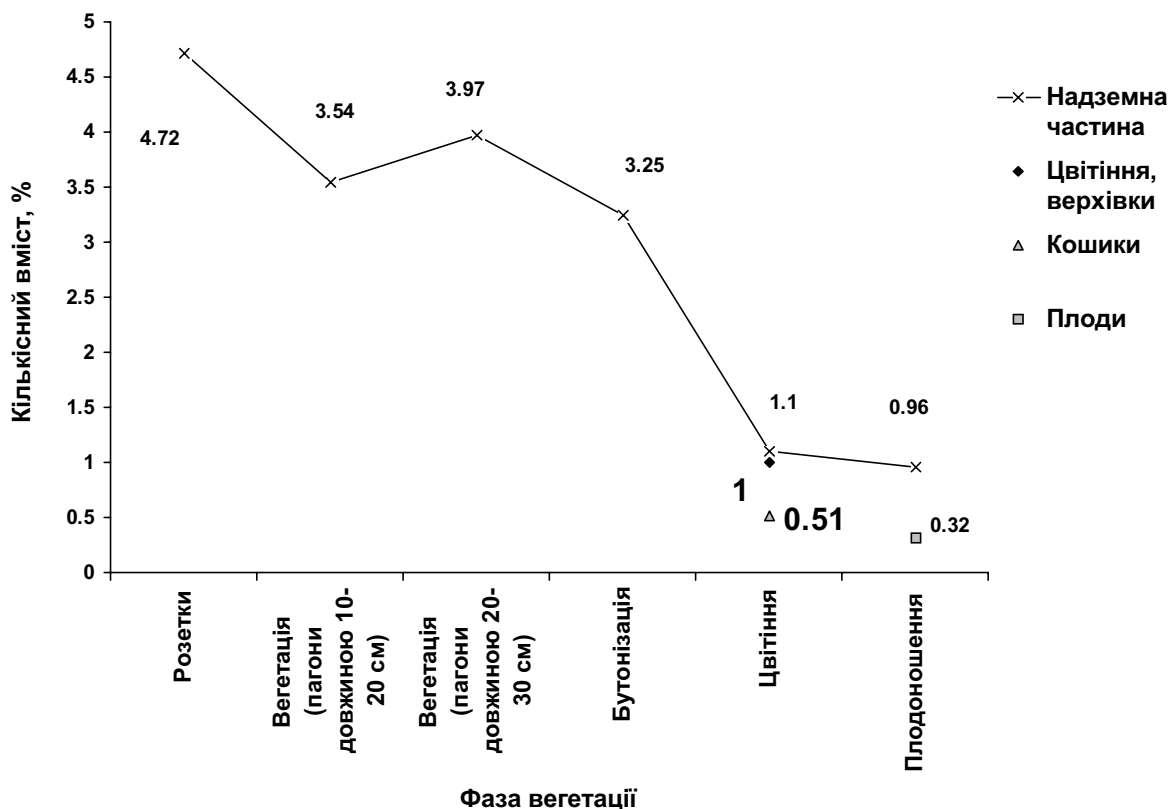
№	Назва жирної кислоти	Кількісний вміст жирних кислот в досліджуваних зразках ліпофільних екстрактів, %					
		1	2	3	4	5	8
1.	Міристинова	1.6862	1.2717	< 0.2	< 0.2	< 0.2	0.9917
2.	Пентадеканова	< 0.2	2.3791	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2
3.	Пальмітинова	24.5412	22.2859	17.3404	12.0907	3.9962	8.7084
4.	Пальмітолеїнова	1.9559	1.2990	< 0.2	< 0.2	< 0.2	1.5076
5.	Гептадеканова	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2
6.	Стеаринова	4.6991	3.6842	3.0239	2.3066	2.8718	3.0865
7.	Олеїнова	< 0.2	< 0.2	< 0.2	2.0045	< 0.2	4.2226
8.	Петрозелінова	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2	< 0.2
9.	Лінолева	6.8373	6.0746	13.7757	9.6052	3.7226	14.1731
10.	α -Ліноленова	8.1860	4.8037	11.7208	5.7330	2.6298	1.6777
11.	γ -Ліноленова	4.3776	4.2399	< 0.2	2.2110	< 0.2	3.7696
12.	Ейкозамоноєнова	< 0.2	1.9347	< 0.2	< 0.2	6.0871	< 0.2
13.	Ейкозатрисєнова	< 0.2	4.5293	8.1667	< 0.2	< 0.2	< 0.2
14.	Арахідонова	5.8379	5.5186	3.0531	2.0565	< 0.2	3.4827
15.	Ейкозапентаєнова	9.5804	7.8403	5.1696	4.8116	2.7544	6.2531
16.	Моноейкозапентаєнова	< 0.2	< 0.2	2.5330	11.3316	17.9012	6.4428

Таблиця 3

Накопичення жирних кислот в ліпофільних екстрактах кошиків, плодів та верхівок довжиною 20-25 см грінделії розчепреної

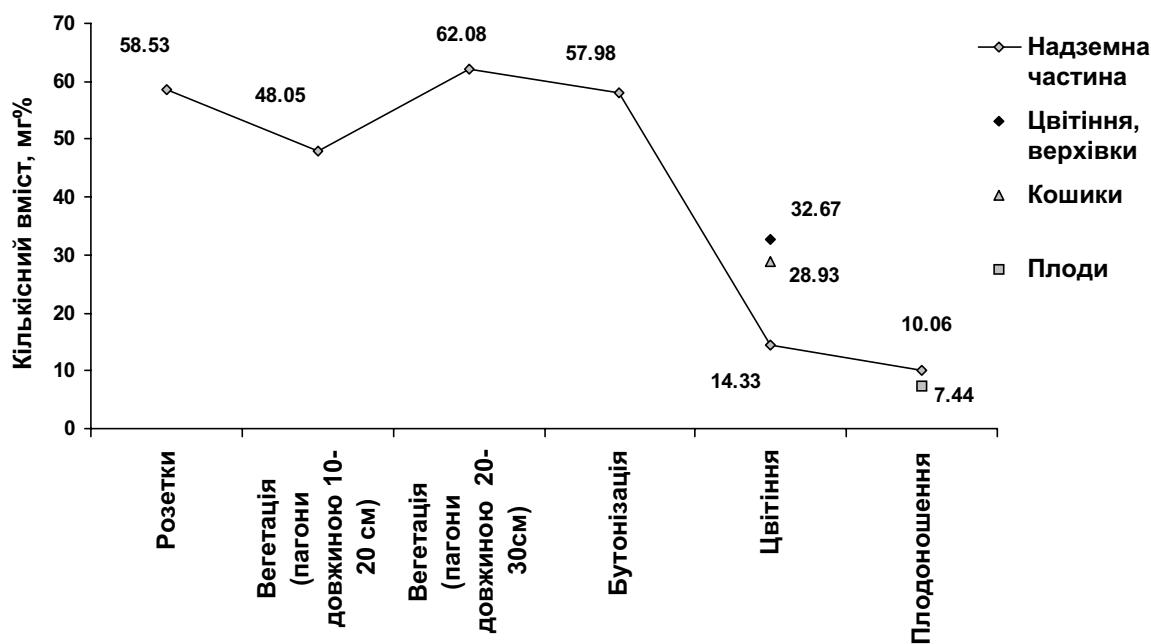
№	Назва жирної кислоти	Кількісний вміст жирних кислот в досліджуваних зразках ліпофільних екстрактів, %		
		7	9	6
1.	Міристинова	< 0.2	0.2249	< 0.2
2.	Пентадеканова	< 0.2	0.2936	< 0.2
3.	Пальмітинова	2.4877	8.3617	2.9345
4.	Пальмітолеїнова	< 0.2	6.6346	< 0.2
5.	Гептадеканова	< 0.2	0.3166	< 0.2
6.	Стеаринова	0.9610	2.0442	1.0885
7.	Олеїнова	0.7505	11.8354	1.2671
8.	Петрозелінова	< 0.2	1.6011	< 0.2
9.	Лінолева	2.5524	57.2308	3.4797
10.	α -Ліноленова	1.4759	2.4530	4.0043
11.	γ -Ліноленова	2.4641	0.5475	0.9135
12.	Ейкозамоноєнова	< 0.2	< 0.2	1.4665
13.	Ейкозатрисєнова	2.1923	0.3132	1.1884
14.	Арахідонова	1.4671	0.6625	0.9731
15.	Ейкозапентаєнова	7.7764	1.4474	8.7317
16.	Моноейкозапентаєнова	14.6207	< 0.2	10.3671

Рисунок 5



Динаміка накопичення хлорофілів в ліпофільних екстрактах гринделії розчепіреної на різних стадіях вегетації

Рисунок 6



Динаміка накопичення каротиноїдів в ліпофільних екстрактах гринделії розчепіреної на різних стадіях вегетації

ленувато-жовтого кольору. Фракції мають приємний запах, характерний для грінделії розчепіреної. Ліпофільні екстракти практично не розчинні у воді, але розчинні у 96 % спирті, хлороформі, мінеральних маслах та рослинних оліях.

Було цікавим дослідити хімічний склад одержаних ліпофільних екстрактів та простежити динаміку накопичення жирних кислот, хлорофілів та каротиноїдів у залежності від фази вегетації рослини.

Якісний та кількісний вміст жирних кислот ліпофільних фракцій аналізували методом газорідинної хроматографії на хроматографі «Shimadzu GC-14B». На Рис. 2, 3 та 4 представлені спектри хроматографічного вивчення зразків 6, 7 та 9, відповідно. Хроматограми зразків 1, 2, 3, 4, 5, 8 подібні до хроматограми зразка 6. Результати дослідження кількісного вмісту жирних кислот представлені в Табл. 2 та Табл. 3.

Встановлено, що в ліпофільних фракціях досліджуваних зразків містяться такі жирні кислоти: міристинова, пентадеканова, пальмітинова, пальмітолеїнова, гептадеканова, стеаринова, олеїнова, петрозелінова, ліолева, α -ліноленова, γ -ліноленова, ейкозамоєнова, ейкозатриєнова, арахідонова, ейкозапентаєнова та моноейкозапентаєнова.

Стеаринова, пальмітинова, ліолева, α -ліноленова та ейкозапентаєнова кислоти містяться в усіх зразках у значній кількості. Найбільша кількість міристинової, пальмітинової, пальмітолеїнової, стеаринової, γ -ліноленової, арахідонової та ейкозапентаєнової кислот накопичується у фазі розеток (зразок 1). Більше всього пентадеканової кислоти накопичується у пагонах довжиною 10-20 см у фазі вегетації (зразок 2), α -ліноленової та ейкозатриєнової — у пагонах довжиною 20-30 см у фазі вегетації (зразок 3), ейкозамоєнової та моноейкозапентаєнової — у надземній частині, заготовленій у фазі цвітіння (зразок 5), олеїнової та ліолевої — у надземній частині, заготовленій у фазі плодоношення (зразок 8).

У плодах більше всього накопичується пальмітинової, пальмітолеїнової, олеїнової та ліолевої жирних кислот (зразок 9).

Крім того, методами якісного аналізу встановлено наявність хлорофілів, каротиноїдів та токоферолів в усіх зразках ліпофільних фракцій та визначено динаміку накопичення хлорофілів та каротиноїдів в одержаних ліпофільних екстрактах.

Кількісний вміст хлорофілів вивчали фотоелектроколориметричним методом за товщини поглинаючого шару 10 мм на фотоелектроколориметрі КФК-2УХЛ із червоним світлофільтром № 9. Результати кількісного вмісту хлорофілів у ліпофільних фракціях статистично оброблені та достовірні. На Рис. 5 наведені середні значення кількісного вмісту хлорофілів. Як можна побачити з одержаних даних, найбільша кількість хлорофілів міститься в ліпофільних екстрактах зразків 1 (4.72 %), 2 (3.54 %), 3 (3.97 %) та 4 (3.25 %), найменша - у зразках 5 (1.10 %) та 8 (0.96 %). У плодах та кошиках кількісний вміст хлорофілів зовсім малий — 0.32 % та 0.51 % (зразки 7, 9), відповідно.

Вміст суми каротиноїдів визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі СФ-26 у кюветах із товщиною шару 10 мм за довжини хвилі 450 нм, у перерахунку на β -каротин. Результати кількісного вмісту каротиноїдів у ліпофільних фракціях статистично оброблені та достовірні. На Рис. 6 наведені середні значення кількісного вмісту. Велику кількість каротиноїдів виявлено в ліпофільних фракціях із зразків 1 (58.53 мг%), 2 (48.05 мг%), 3 (62.08 мг%), 4 (57.98 мг%). У зразках 5, 8 міститься менша кількість каротиноїдів — 14.33 мг% та 10.06 мг% відповідно.

Слід зауважити, що вміст каротиноїдів у верхівках пагонів довжиною 20-25 см, які були заготовлені у фазі цвітіння (зразок 6) (32.67 мг%) у двічі більший, ніж у зразку надземної частини, заготовленої у фазі цвітіння (зразок 5) (14.33 мг%), що слід враховувати при заготівлі рослинної сировини.

Таким чином, нами одержані комплексні експериментальні дані стосовно динаміки накопичення різних ліпофільних сполук (жирних кислот, каротиноїдів, хлорофілів і токоферолів) у надземній частині грінделії розчепіреної та встановлена залежність їх накопичення від фази вегетації рослини. Ці дані необхідні для обґрунтування вибору фази вегетації та частини рослини при заготівлі рослинної сировини грінделії розчепіреної. Крім того, ці дані необхідні для прогнозування біологічної активності одержаних комплексів та з'ясування механізму їх дії.

Висновки

1. Вперше проведено дослідження динаміки накопичення ліпофільних речовин в надземній частині грінделії розчепіреної, заготовленої на різних стадіях вегетації: розетки,

вегетація, бутонізація, цвітіння та плодоношення. Встановлено, що найбільша кількість ліпофільних речовин в надземній частині накопичується у фазі цвітіння (18.06 %). Вивчено також накопичення суми ліпофільних сполук у кошиках, плодах та верхівках пагонів довжиною 20-25 см, заготовлених у фазі цвітіння.

2. Вперше проведено якісне та кількісне дослідження жирних кислот в ліпофільних фракціях гринделії розчепіреної та вивчено динаміку їх накопичення в надземній частині у залежності від фази вегетації рослини.

3. Встановлено наявність хлорофілів, каротиноїдів та токоферолів в усіх одержаних зразках ліпофільних екстрактів та вивчено динаміку накопичення хлорофілів та каротиноїдів у даних зразках.

4. Одержані дані використано для складання аналітичної нормативної документації на ліпофільні екстракти гринделії розчепіреної.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гончар А.М., Коган А.С., Салганик Р.И. Раневой процесс и иммобилизованные протеолитические ферменты. - Новосибирск: Наука, 1986. - 29 с.
2. Гусакова С.Д. Липиды некоторых лекарственных растений // Растительные ресурсы. - 1983. - Т. 19. - Вып. 4. - С. 444-445.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - 556 с.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів / Методичні рекомендації за редакцією член-кор. АМН України О.В. Стефанова. - Київ, 2001. - С. 296-297.
5. Керимов Ю.Б., Алиев М.Н., Исмаилов Э.С. и др. Изучение некоторых растений, содержащих антрахиноны, кумарины и липофильные фракции // Реализация науч. достижений в практ. фармации: Тез. докл. респ. науч. конф. - Харьков, 1991. - С. 186-187.
6. Котова Э.Э., Зинченко А.А., Куликов А.Ю., Котов А.Г., Хованская Н.П., Дячок В.В. К вопросу о методах стандартизации рыбьего жира. Определение жирнокислотного состава и количественного содержания витамина D₃ в рыбьем жире // Фармаком. - 2002. - № 2. - С. 83-91.
7. Ковалева-Загравская И.В., Ковалев В.Н., Журавель И.А. Предварительное фитохимическое изучение *Grindelia squarrosa* // Вчені України - вітчизняній фармації. Матеріали наук.-практ. конф. - Харків: Вид-во НФаУ, 2000. - С.149-150.
8. Ковальова-Загравська І.В., Ковальов В.М., Журавель І.О. Отримання та дослідження ліпофільних фракцій гринделії розчепіреної // Вісник фармації. - 2002. - №1(29). - С. 24-27.
9. Ковтун Ю.В. Розробка технології та дослідження фізико-хімічних властивостей ліпофільного екстракту обніжжя бджолиного. - Харків, 1998. - 16 с.
10. Кьюсов П.А. Полный справочник лекарственных растений. - М.: Эксмо-пресс, 2001. - 992 с.
11. Гусакова С.Д., Сагдулаев Ш.Ш., Хушбакова З.А. Липофильные экстракты в фитотерапии и фитокосметике. Получение и биологические свойства // Химия природных соединений. - 1998. - № 4. - С. 437-447.
12. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / За ред. А.М. Гродзінського. - К.: "Укр. енцикл. ім. М.П. Бажана", 1992. - 343 с.
13. Малый практикум по физиологии растений / Под. ред. М.В. Гусева. - М., 1982.
14. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. - 14-е изд. - М.: ООО "Изд-во Новая волна", 2000.
15. Огнаниесян Э.Т., Симонян А. В., Чомаева С. Х. и др. // Тез. Росс. нац. конгресса "Человек и лекарство". - Москва, 1992. - 212 с.
16. Попова О.И., Муравьева Д.А. Содержание хлорофилла в омеле белой // Фармация. - 1990. - № 36. - С. 15-17.
17. Diwald E. //Seifen-Ole-Fette-Wachse. - 1989. - Vol. 115, No.2. - 36 p.
18. Gleason H.A., Cronquist A. Manual of vascular plants of northeastern United States and adjacent Canada, 2nd ed. - New York: New York Botanical Garden, 1991. - 910 p.
19. <http://www.extract.ru>
20. Kfltenbach G., Schdfer M., Schimmer O. Volatile constituents of the essential oil of *Grindelia robusta* Nutt. And *Grindelia squarrosa* Dun. // I. Essent. Oil Res. - 1993. - Vol.5, No. 1. - P. 107-108.
21. Zhou Lin, Eduardo R., Hoffmann Joseph J., Timmermann Barbara N. Diterpenoids from *Grindelia tarapacana* // Phytochemistry. - 1995. - Vol.40, No. 4. - P. 1201-1207.

Резюме

Емельянова И.В., Ковалев В.Н., Журавель И.А.

Динамика накопления суммы липофильных веществ в экстрактах гринделии растопыренной

Проведено изучение динамики накопления суммы липофильных веществ в надземной части гринделии растопыренной, заготовленной на разных стадиях вегетации: розетки, вегетация, бутонизация, цветение и плодоношение. Изучена динамика накопления разных липофильных веществ: насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, каротиноидов, хлорофиллов и токоферолов гринделии растопыренной и установлена зависимость их накопления от фазы вегетации растения.

Summary

Emeljanova I.V., Kovalev V.N., Juravel I.A.

Dynamics of accumulation of the sum of lipophilic substances in extracts of *grindelia squarrosa*

Dynamics of accumulation of the sum of lipophilic substances in an above-ground part of *Grindelia squarrosa* prepared at miscellaneous vegetation stages, namely, sockets, vegetation, knops, blooming and fructification, was studied. Dynamics of accumulation of miscellaneous lipophilic substances, namely, saturated and non-saturated fatty acids, carotenoids, chlorophylls and tocopherols was studied and the dependence of their accumulation on plant vegetation phase was established.

Емельянова Ирина Викторовна. Аспирант кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету (НФаУ).

Ковальов Володимир Миколайович. Д.фарм.н. (1985). Професор кафедри фармакогнозії НФаУ (1986).

Журавель Ирина Олександрівна. К.фарм.н. (1991). Доцент кафедри фармакогнозії НФаУ (1996).

Синтез

УДК 615.015.4.668.53:547.298

Мерзлікін С.І., Болотов В.В.
Національний фармацевтичний університет

Залежність чистоти діакамфу від умов синтезу

Методом високоефективної рідинної хроматографії досліджено чистоту зразків діакамфу – нового антидіабетичного фармакологічного засобу, одержаних за різних температурних умов. Встановлено, що напрямок нуклеофільної атаки циклу ангідриду камфорої кислоти *o*-фенілендіаміном обумовлений екрануючим впливом CH_3 -групи при C_1 і температурою реакційного середовища.

Діакамф – новий антидіабетичний фармакологічний засіб, розроблений у Національному фармацевтичному університеті [1,2,5,9-12].

При відпрацюванні технології одержання діакамфу методом сплавлення вихідних інгредієнтів (Схема. I і II) нами встановлено [3,7], що утворення основної сполуки супроводжується утворенням двох технологічних домішок: лактаму (VII) та транс-діакамфу (VIII). Встановлено, що внаслідок високої температури реакційного середовища (~200 °C) молекула діакамфу зазнає два процеси структурних змін. У першому випадку це пов'язано із дегідратацією, а у другому – із ізомеризацією у транс-форму. Наявність даних процесів зареєстровано нами на дериватограмі зразка діакамфу методом термогравиметрії [8], а структуру технологічних домішок VII і VIII доведено методом ЯМР-спектроскопії [6]. Крім того, дані сполуки одержані нами за індивідуальними методиками [8].

Для збільшення виходу кінцевого продукту нами розроблено методику одержання діакамфу в органічних розчинниках [7]. Так, при проведенні реакції у киплячому ксилолі із реакційного середовища виділено тільки одну технологічну домішку – лактам (VII). Методом тонкошарової хроматографії [4] утворення будь-яких інших побічних продуктів не виявили.

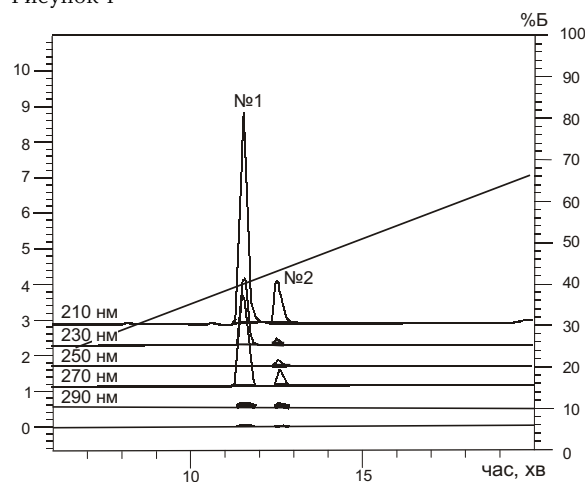
Для дослідження чистоти діакамфу використовували метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Результати досліджень та їх обговорення

На хроматограмі зразка діакамфу, одержаного у ксилолі, зареєстровано два піки (Рис. 1): основної сполуки (пік 1) та домішки (пік 2), які мають величини абсолютного часу утримування ((11.78±0.01) хв та (12.77±0.07)

хв, відповідно) й абсолютного об'єму утримування (1178 мкл та 1277 мкл, відповідно) (Таблиця). За співвідносності площ зазначених піків кількісний вміст домішки (пік 2) дорівнює 14.5%. Для оцінки хроматографічних параметрів розділення піків 1 і 2 нами розраховано ступінь їх розділення (R_s), селективність α та коефіцієнт ємності (k') (Таблиця).

Рисунок 1



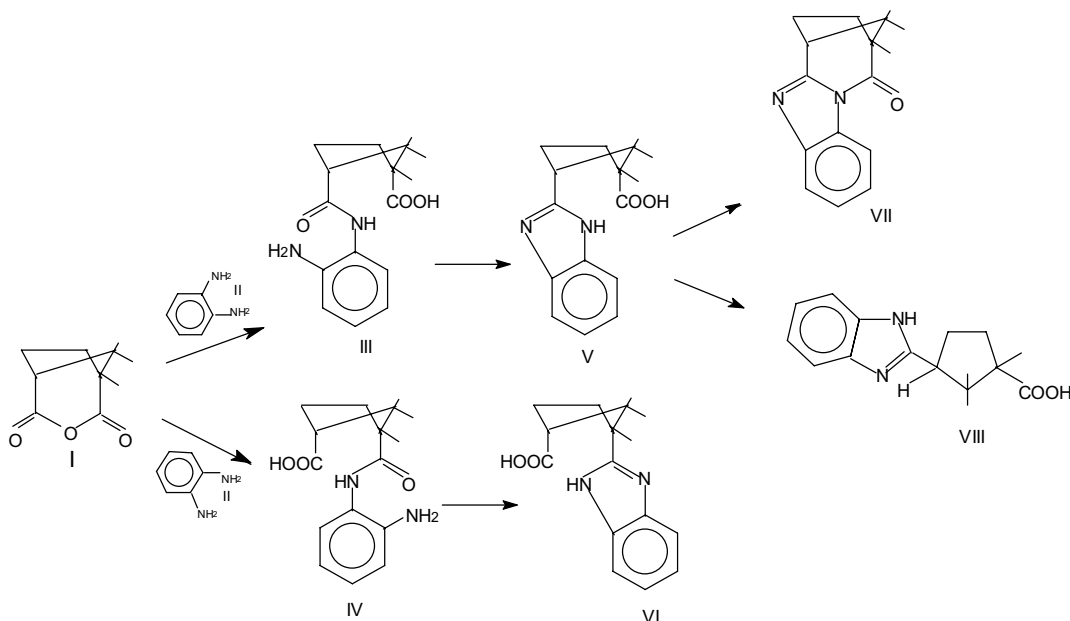
Хроматограма зразка діакамфу, одержаного у ксилолі

Встановлено, що ці дві сполуки мають аналогічні УФ-спектри (Рис. 2) із максимумами за довжин хвиль 270 нм та 280 нм і співвідносні спектральні відношення, які розраховували шляхом ділення значень оптичної густини за однієї із чотирьох довжин хвиль: 230 нм, 250 нм, 270 нм і 290 нм на значення оптичної густини за довжини хвилі 210 нм.

Розділити дані сполуки методом перекристалізації не вдалося.

Можна передбачити, що на відміну від переважного утворення α -ариламідів (\pm)-камфорої кислоти [3] нуклеофільна атака ангідриду (I) *o*-фенілендіаміном (II) у ксилолі одночасно відбувається за двома напрямками:

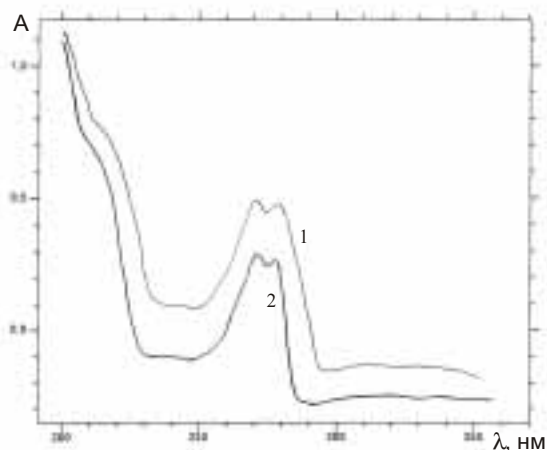
Схема



Одержання діакаmfу; його β -структурний ізомер і технологічні домішки

за неекранованим CH_3 -групою карбонільним атомом вуглецю при C_3 та за карбонілом при C_1 із утворенням суміші проміжних α - та β -амідів. У першому випадку утворюється α -2'-амінофеніламід (\pm)-камфорної кислоти (III), а у другому - β -2'-амінофеніламід (IV). Внаслідок їх циклодегідратації далі утворюються відповідні ізомери: (\pm)-цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонова кислота (V, α -діакаmf) і (\pm)-цис-1-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонова кислота (VI, β -діакаmf).

Рисунок 2

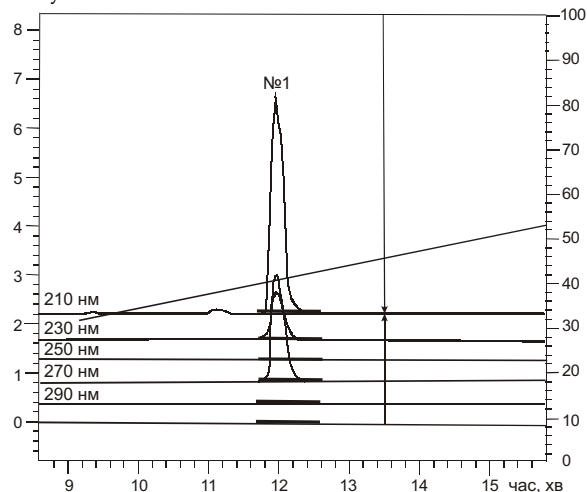


УФ-спектри α - (1) і β - (2) структурних ізомерів діакаmfу

Для запобігання утворенню β -ізомеру діакаmfу (VI) нами запропоновано технологію одержання діакаmfу в толуолі.

На хроматограмі діакаmfу (Рис. 3), одержаного у зазначеному розчиннику, визначається тільки один пік основної сполуки із параметрами утримування, зазначеними у Таблиці.

Рисунок 3



Хроматограма зразка діакаmfу, одержаного в толуолі

Таким чином встановлено, що при ацилюванні *o*-фенілендіаміну камфорним ангідридом у толуолі нуклеофільна атака ангідридного циклу відбувається тільки за карбонільним атомом вуглецю при C_3 із утворенням α -діакаmfу (V), тобто напрямок нуклеофільної атаки ангідридного циклу (I) обумовлений не тільки екрануючим впливом CH_3 -

групи при C_1 , а і температурою реакційного середовища.

Одержані результати підтверджуються даними ЯМР-спектроскопічних досліджень діакамфу та його β -ізомеру. Результати цих дослідження будуть викладені в окремій публікації.

Експериментальна частина

Хроматографічний аналіз зразків діакамфу проводили на мікроколонковому рідинному хроматографі "Міліхром А-02" (Новосибірськ, АТ "Еконова").

В аналізі використовували колонку хроматографічну оберненофазову завдовжки 75 мм, діаметром 2 мм (сорбент Nucleosil C_{18} 5 мкм) та детектор – двопроміневий мультиспектральний УФ-спектрофотометр (діапазон хвиль 190-360 нм, точність довжини хвилі 0.5 нм). Температура колонки 35 °С. Хроматографування проводили у градієнтному режимі із застосуванням буферного розчину рН 2.18 – елюент А (0.2 М розчин літію перхлорату та 0.01 М розчин кислоти фосфорної). Як елюент Б використовували ацетонітрил. Градієнтне подавання проводили від 2 % до 100 % елюенту Б за 25 хв та 5 хв 100 % елюенту Б. Концентрація зразка – 10 мкг/мл, об'єм проби – 3 мкл, швидкість рухомої фази 100 мкл/хв, час хроматографування – 20 хв.

Оптичну густину вимірювали за довжин хвиль: 210 нм, 230 нм, 250 нм, 270 нм, 290 нм.

(±)-Цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонова кислота (V)

У круглодонну колбу місткістю 20 мл поміщають 1.82 г (0.01 моля) ангідриду (±)-камфорної кислоти, 1.08 г (0.01 моля) о-фенілендіаміну та 15 мл ксилолу або толуолу. Колбу поміщають на повітряну баню та реакційну суміш кип'ятять протягом 3 год. Охолоджують, осад, що утворився, відфільтровують, висушують та кристалізують із етанолу. Вихід – 65 %.

Висновки

1. Методом ВЕРХ досліджено чистоту зразків діакамфу, одержаних за різних температурних умов. Виявлено, що одержання діакамфу у киплячому ксилолі призводить до утворення суміші α - і β - структурних ізомерів діакамфу, а у толуолі – тільки до утворення β - діакамфу.

2. Встановлено, що напрямок нуклеофільної атаки циклу ангідриду камфорної кислоти о-фенілендіаміном обумовлений екрануючим впливом CH_3 -групи при C_1 і температурою реакційного середовища.

Таблиця

Параметри утримування зразків діакамфу, одержаних у ксилолі та толуолі

№ піка	Канал, нм	t, хв	Висота	Площа	Асим.	t _{абс} , хв	V _{абс} , мкл V _{абс} = t _{абс} · ω***
1*	210	11.797	5.564	1.03	0.6539	11.78±0.01	1178
	230	11.784	1.328	0.2447	0.6531		
	250	11.775	1.158	0.212	0.7006		
	270	11.783	2.947	0.5446	0.6474		
	290	11.798	0.02747	0.00505	0.6713		
2*	210	12.740	0.8599	0.1549	0.6288	12.77±0.07	1277
	230	12.733	0.1839	0.03297	0.6723		
	250	12.709	0.1613	0.0283	0.5659		
	270	12.732	0.4309	0.0775	0.6149		
	290	12.741	0.0414	0.0007333	0.6486		
1**	210	11.990	4.103	0.6521	0.6142	111.99±0.04	1199
	230	11.991	0.9649	0.1534	0.612		
	250	11.992	0.8433	0.1342	0.6157		
	270	11.993	2.138	0.3398	0.6204		
	290	11.994	0.02176	0.004067	0.6123		

Примітки:

* - нумерація піків відповідно Рис. 1.

** - нумерація піка відповідно Рис. 3.

*** - об'ємна швидкість рухомої фази 100 мкл/хв

ЛІТЕРАТУРА

1. Боднар П.М., Кононенко Л.О., Мерзлікін С.І. Застосування препарату діакамп у лікуванні хворих на інсулінонезалежний цукровий діабет // Ендокринологія. — 1999. — Т. 4, № 1. — С. 110-111.
2. Боднар П.М., Мерзлікін С.І., Кононенко Л.О. Клінічне випробування цукрознижуючої та антиоксидантної дії діакамфу — нового фармакологічного засобу // Клінічна фармація. — 2001. - № 3(5). — С. 46-48.
3. Мерзликін С.И. Синтез, реакционная способность и биологическая активность функциональных производных (\pm)-камфорной кислоты: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. — Харьков, 1991. — 23 с.
4. Мерзлікін С.І., Боднар В.С., Болотов В.В. Застосування хроматографії в тонких шарах сорбенту для ідентифікації діакамфу та її технологічних домішок // Вісник фармації. — 2002. - № 2 (29). — С. 14-16.
5. Мерзлікін С.І., Черних В.П. Пероральні цукрознижуючі засоби: досягнення та сучасні аспекти розробки // Фізіологічно активні речовини. — 2001. - № 2 (32). — С. 4-10.
6. Мерзликін С.И., Черных В.П., Яременко Ф.Г. Спектроскопия в идентификации побочных продуктов диакамфа // Фізіологічно активні речовини. — 2000. - № 2 (30). — С. 45-47.
7. Мерзлікін С.І., Черних В.П., Яременко Ф.Г. Розробка технології субстанції діакамфу — нового антидіабетичного фармакологічного засобу // Вісник фармації. — 2001. - № 1 (25). — С. 29-32.
8. Мерзликін С.И., Черных В.П., Яременко Ф.Г. Синтез диакамфа и установление структуры его примесей / Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики. — 2001. — Вип. VII. — С. 66-71.
9. Полторак В.В., Гладких О.І., Мерзлікін С.І. та ін. Цукрознижуюча дія діакамфу у тварин з цукровим діабетом гетерогенного генезу // Вісник фармації. — 1997. - № 1 (15). — С. 81-84.
10. Poltorak V., Merzlikin S., Gladkikh A. et al. Antidiabetogenic effect of diacamph on the animals with heterogenous insulin insufficiency // Can. J. of Physiol. and Pharmacol. — 1994.- Vol. 72.- Suppl.1. — P. 229.
11. Poltorak V., Merzlikin S., Gladkikh A. et al. Novel non-sulfanylurea hypoglycemic agent Diacamph with protective effect on experimental diabetes development // Abstr. XVth International Diabetes Federation Congress. — Kobe, Japan, 1994. - P. 107.
12. Poltorak V., Merzlikin S., Gladkikh A. et al. Diacamph a new compound for the protection of the absolute insulin insufficiency development // Horm. and Metabolic. Res. Abstr. — Athens, Greece, 1995. - Suppl. 1. — P. 182.

Резюме

Мерзликін С.И., Болотов В.В.

Зависимость чистоты диакамфа от условий синтеза

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии исследована чистота образцов диакамфа — нового антидиабетического средства, полученных в различных температурных условиях. Установлено, что направление нуклеофильной атаки цикла ангидрида камфорной кислоты *o*-фенилендиамином обусловлено экранирующим влиянием CH_3 -группы при C_1 и температурой реакционной среды.

Summary

Merzlikin S., Bolotov V.

Dependence of diacamph purity on the synthesis conditions

By the HPLC-method an identification of samples of diacamph, a new antidiabetic pharmacological substance, obtained in different temperature conditions had been carried out. It has been established that the rate of nucleophilic attack of *o*-phenylendiamine on camphoric acid anhydride cycle with is caused by influence of CH_3 -group at C_1 and the by the reaction medium temperature.

Мерзлікін Сергій Іванович (н. 1958). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1986). Доцент кафедри токсикологічної хімії НФаУ (2002). К.х.н. (1991).

Болотов Валерій Васильович (н. 1942) Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1964). Зав. кафедри аналітичної хімії НФаУ (1998). Д.х.н. (1987). Професор (1988).

Одержання лікарських і допоміжних речовин

УДК 54.03/04:547.583.1

Левітін Є.Я., Оридорога В.О., Тиманюк В.О., Коробейникова І.Є.
Національний фармацевтичний університет

Термографічне вивчення 2,4-дихлорбензойної кислоти та її калієвої солі

Визначені деякі фізико-хімічні властивості калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти для розробки технології одержання та аналітичної нормативної документації субстанції анальбен – нового анальгетичного і протизапального засобу.

До цього часу не вивчені окремі властивості 2,4-дихлорбензойної кислоти (ДХБК) та її солей, зокрема їх вологовміст, а також не визначена схема термохімічних перетворень зазначених речовин.

Встановлено [1], що калієва сіль ДХБК, яку назвали "Анальбен", виявляє анальгетичну та протизапальну дію [2, 3]. За широтою терапевтичної дії анальбен перевищує препарати порівняння: анальгін, індометацин та вольтарен. Анальбен пропонується використовувати для купірування болю різного генезу (при міалгіях, радикуліті тощо) і лікуванні захворювань, які супроводжуються запальними процесами (артрити, ревматизм).

Із урахуванням цього, визначення зазначених властивостей ДХБК та її калієвої солі набуває не тільки наукового, але й практичного значення для розробки технології одержання препарату й аналітичної нормативної документації. Із цієї метою нами були проведені термографічні дослідження промислових зразків ДХБК (фірма "Merck" Німеччина) та її калієвої солі (Завод хімічних реактивів, м. Харків). Остання була одержана нейтралізацією відповідної кислоти калію гідроксидом у спиртовому середовищі.

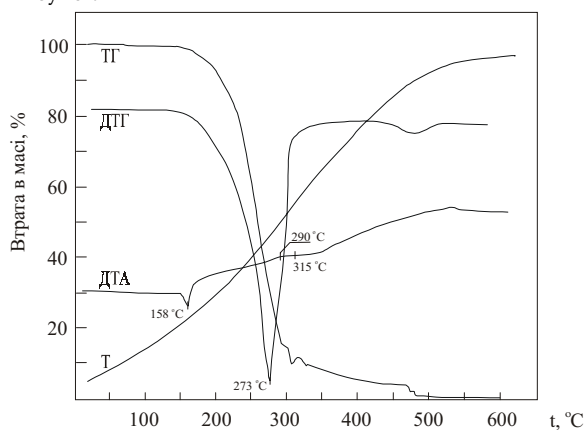
Експериментальна частина

Зразки ДХБК та її калієвої солі вивчали диференційно-термічним (Рис. 1 і 2, крива ДТА) і диференційно-термогравіметричним (Рис. 1 і 2, крива ДТГ) методами на приладі дериватограф системи Q-1500D при температурі 20-600°C і швидкості нагрівання 5 °/хв із використанням як стандартного зразка алюмінію оксиду, прожареного при температурі 1200 °C.

На Рис. 1 наведена термограма ДХБК, згідно якої за кривими температури (Т) і ДТА, втрати в масі (ТГ) і ДТГ видно, що речовина не містить ні фізично-сорбовану, ні структурно-зв'язану воду, а її термічне перетворення

починається при температурі 158 °C. При цьому на кривій ДТА мають місце ендотермічний максимум і затримка температури, що є результатом плавлення зразка і співпадає із даними сертифіката фірми-виробника. Водночас із цим, спостерігається втрата в масі (криві ТГ і ДТГ) наважки ДХБК, яку можна пояснити розкладанням останньої при температурі 273 °C. Досить висока швидкість цього процесу на початковому етапі та дуже висока у подальшому (криві ДТГ і ТГ) свідчать про те, що розкладання супроводжується виділенням газоподібних продуктів. На нашу думку, спочатку відбувається декарбоксілювання, а потім одночасно відбувається також википання дихлорбензолу-1,3 ($t_{\text{кип.}}^{\circ} = 172^{\circ}\text{C}$) із втратою в масі 85 %.

Рисунок 1

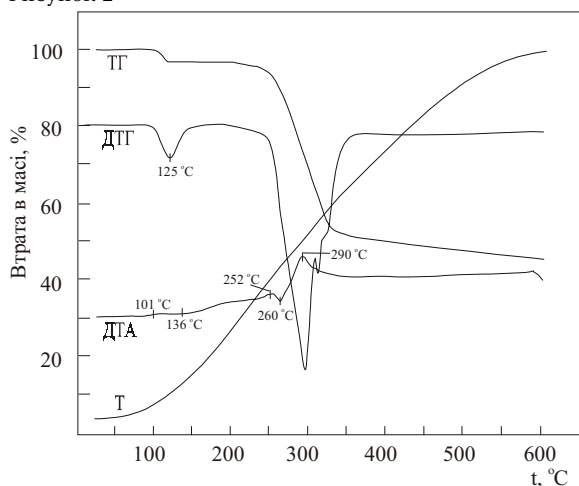


Дериватограма 2,4-дихлорбензойної кислоти

Подальше термічне перетворення 15 % зразка відбувається при температурі 290-315 °C (затримка температури на кривій ДТА), у міру нагрівання до температури 600 °C, імовірно, має місце розрив ароматичних структур, що обумовлює повільний перебіг процесу обуглювання. При цьому неспалений залишок складає 2 % від вихідної наважки ДХБК.

По-іншому відбувається термічне перетворення калієвої солі ДХБК (Рис. 2.). Як видно із кривих ДТА і ДТГ, перше перетворення має місце в інтервалі температур 101-136°C: на кривій ДТА спостерігається значна затримка температури і зниження маси зразка із постійно зростаючою швидкістю. Характер цього перетворення, яке набуває максимуму при температурі 125 °С і закінчується при температурі 136 °С, дозволяє вважати його процесом виділення 3 % (1.5 моль) структурно-зв'язаної води (крива ТГ). Підтвердженням вищезазначеного є відсутність аналогічних перетворень на термограмі зразка анальбену, який витримано при температурі 135 °С протягом 10 хв.

Рисунок 2



Дериватограма калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти

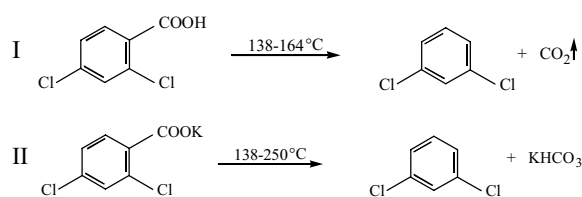
Подальше перетворення відбувається вже при температурі 252-260°C і також супроводжується втратою в масі (криві ТГ і ДТГ) зі швидкістю, порівнянною зі швидкістю процесу дегідратації. За даними [1] у цьому інтервалі температур відбувається плавлення калієвої солі ДХБК. Однак, це не відповідає тій загальній закономірності, що калієві солі більшості органічних кислот розкладаються без плавлення [4]. У нашому випадку має місце процес плавлення із виділенням газоподібних продуктів у кількості 2 % від наважки, що може відповідати декарбонізації калій карбоксилатного угруповання з утворенням 1 моля карбону діоксиду (Схема).

Із підвищенням температури маса зразка продовжує зменшуватися із досить високою швидкістю (криві ТГ і ДТГ), порівнянною зі швидкістю процесу википання ДХБ (Рис. 1). Одночасно на кривій ДТА з'являється екзотермічний максимум, який, на наш погляд, є

наслідком процесу утворення нової сполуки. Цей процес закінчується при температурі 315-320 °С, після чого втрата в масі поступово припиняється і складає 47-48 %. Протягом подальшого нагрівання втрати в масі майже не спостерігається. Враховуючи характер як продуктів розкладання, так і утворених речовин, можна припустити утворення калій гідрогенкарбонату. Якісний аналіз неспаленого залишку (45 %) при зазначених температурах показав наявність у ньому іонів K^+ та CO_3^{2-} .

Таким чином, можна навести таку схему термічних перетворень ДХБК і калієвої солі ДХБК.

Схема



Термічні перетворення ДХБК і калієвої солі ДХБК

Подальші перетворення залишку, тобто $KHCO_3$, пов'язані із процесами його розкладання при температурі від 300 °С до 600 °С. При цьому неспалимий залишок складає 45 % від вихідної наважки.

Висновки

1. ДХБК при температурі 158-164°C плавиться, далі відбувається процес її розкладання із виділенням газоподібних продуктів: карбону діоксиду та дихлорбензолу - 1,3 (ДХБ).
2. Калієва сіль ДХБК, яка одержана із спиртового середовища, містить до 1.5 моля структурно-зв'язаної води.
3. Калієва сіль ДХБК не має чіткої температури плавлення, а при температурі 252-260 °С розкладається із виділенням пари дихлорбензолу-1,3 та утворенням калій гідрогенкарбонату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пат. 2101011 Российская Федерация, МПК 6 А 61 К31/19, 9/20. Средство, обладающее анальгетическим действием / Е.Я. Левитин, В.И. Кабачный, Л.В. Яковлева, В.П. Черных (Украина).- 3 с.
2. Яковлева Л.В., Шаповал О.М., Левитин Е.Я. Порівняльна характеристика фармакологічної дії в ряді похідних бензойної кислоти // Вісник фармації. — 2001. — № 3 (27). — С. 172-173.
3. Яковлева Л.В., Шаповал О.М., Левитин Е.Я. Вивчення гепатотропної дії нового препарату "анальбен" // Фізіологічно активні речовини. — 2001. — № 1 (31). - С. 52-55.
4. Перельман В.И. Краткий справочник химика. — М.: Химия, 1964. — 624 с.

Резюме

Левитин Е.Я., Оридорога В.А.,
Тиманюк В.А., Коробейникова И.Е.

Термографическое изучение 2,4-дихлорбензойной кислоты и ее калиевой соли

Определены некоторые физико-химические свойства 2,4-дихлорбензойной кислоты и ее калиевой соли для разработки технологии получения и аналитической нормативной документации субстанции анальбен — нового анальгетического и противовоспалительного средства.

Summary

Levitin E.Ya., Oridoroga V.A.,
Timanyuk V.A., Korobeynikova I.E.

Thermographic study of 2,4-dichlorbenzoic acid and its potassium salt

Some physical and chemical properties of 2,4-dichlorbenzoic acid and its potassium salt have been determined for the development of obtaining technology and analytical normative documentation of analben substance, a new analgesic and anti-inflammatory drug.

Левитин Євген Якович. Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1974). Канд. фарм. наук (1980). Доцент кафедри фізичної, колоїдної та неорганічної хімії Національного фармацевтичного університету (НФаУ).

Оридорога Валентин Олександрович. Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1961). Д.фарм.н. Професор. Працює в НФаУ (із 2000). Провідний науковий співробітник ЦНДЛ.

Тиманюк Володимир Олександрович. Закінчив Харківський державний університет. К.ф.-м.н. (1983). Професор. Працює в НФаУ (із 1988). Зав. кафедри фізики.

Коробейникова Ірина Євгенівна. Закінчила Ленінградський хіміко-фармацевтичний інститут (1961). Канд. фарм. наук. Працює в НФаУ (із 2000). Ст. наук. співробітник ЦНДЛ.

Готові лікарські засоби

УДК 615.45:616.31

Маслій Ю.С., Єгоров І.А., Гризодуб В.І., Спиридонов С.В.
Національний фармацевтичний університет

Стоматологічні лікувальні диски „Нафтатрин”. Технологія виготовлення та фармацевтичні дослідження

Вивчені склад та технологія виготовлення стоматологічних лікувальних дисків (СЛД), фізико-хімічні та реологічні властивості зразків препарату. Визначена анестезуюча дія препарату, глибина проникнення речовин складу у тверді тканини зуба та вплив лікарського засобу на функції ряду органів та систем. Проведено доклінічні фармакологічні дослідження СЛД „Нафтатрин”. Результати досліджень показали достатню специфічну дію, оптимальну міцність та температуру плавлення, низьку гостру токсичність препарату, відсутність небажаних явищ та симптомів інтоксикації при тривалому застосуванні, що дозволяє рекомендувати СЛД „Нафтатрин” як знеболювач твердих тканин зубів у стоматологічній практиці.

Стоматологічні захворювання є проблемою всіх країн світу. За статистичними даними більше 95% населення планети страждають захворюваннями зубів.

Одним із розповсюдженіших захворювань є карієс та його ускладнення. Крім цього, у клінічній практиці часто зустрічаються проявлення різних форм дефектів емалі та дентину різноманітної етіології.

Проблема болю та знеболювання - найбільш актуальна для стоматологічної практики. При цьому больовий синдром супроводжується низкою змін із боку різних систем організму (дихальної, серцево-судинної, ендокринної та ін.), що викликає необхідність своєчасної корекції гомеостазу організму для запобігання можливих ускладнень [1,8].

Так, відомо, що ефективною у функціональному та естетичному відношенні конструкцією по заміщенню дефектів зубних рядів є незнімні протези.

Проте процес підготовки зубів під незнімні протези включає препарування зубів, яке супроводжується больовими відчуттями та гіперестезією твердих тканин вже препарованих зубів, що призводить до органічних порушень у дентині та пульпі.

Запропоновано багато способів та методів знеболювання твердих тканин зубів при препаруванні їх під незнімні протези (аплікаційний та ін'єкційний методи, кріознеболювання, загальний наркоз, електрознеболювання та ін.). Але вони не завжди чинять достатній знеболювальний ефект, трудомісткі у виконанні, можлива побічна дія лікарських за-

собів, які застосовуються, на слизову оболонку ротової порожнини [2].

Гіперестезія, яка виникає у препаративаних зубах від термічних, хімічних та механічних подразників, а також під час фіксування незнімних протезів, усувається виготовленням тимчасових коронок, ковпачків та інших конструкцій, які не знайшли широкого застосування [3].

До сьогоднішнього часу не знайдено ефективного захисту твердих тканин зубів від шкідливого впливу цементів.

Усе це говорить про необхідність пошуку засобів лікування гіперестезії твердих тканин зубів внаслідок патологічного стирання, що супроводжує клиноподібні ефекти, пародонтоз та ін.

Метою наших досліджень є розробка полімерної композиції у формі стоматологічних лікувальних дисків (СЛД), які б дозволили підвищити біологічну доступність лікарських речовин та механізувати процес їх введення у тверді тканини зубів.

Матеріали та методи

Як діючі речовини для складу, який розроблено, брали натрій фторид та тримекаїн, що зумовлено їх широким застосуванням у стоматологічній практиці та високою фармакологічною активністю при низькій токсичній, подразнюючій та алергічній дії.

Допоміжні речовини відбиралися, виходячи з необхідності одержання лікарської форми у вигляді дисків із заданими фізико-хімічними властивостями, а саме: взаємосумісність, індиферентність по відношенню до твердих тканин зубів та слизової оболонки ротової порожнини, одержання їх із заданою температурою плавлення та необхідним ступенем міцності.

Так, із фармакологічної групи місцевих анестетиків відібрано тримекаїн, як найбільш ефективний, із незначною побічною дією. Тримекаїн забезпечує високу знеболювальну дію. Він відносно мало токсичний, не виявляє подразнюючої дії. Після всмоктування діє як заспокійливий та знеболювальний засіб [1,6].

Як фторфікуючий агент був використаний натрій фторид, який широко застосовується у стоматологічній практиці для профілактики карієсу. Натрій фторид при місцевому застосуванні вступає у хімічну взаємодію з одним із основних мінеральних компонентів емалі гідроксиапатитом, який перетворює його у гідроксифторапатит, потім у фторапатит, які більш стійкі до впливу кислот. Утворення

фторапатиту в емалі знижує також її проникненість [7].

Як емульгатор нами використані моногліцериди дистильовані, які дозволяють знизити температуру плавлення СЛД при контакті з поверхнею зубів, внаслідок чого збільшується інтенсивність проникнення діючих речовин у дентинні каналці твердих тканин зубів [5].

Стоматологічні лікувальні диски під умовною назвою „Нафтатрин” одержують шляхом змішування попередньо розплавлених компонентів у заданих пропорціях у реакторі з подальшим виготовленням СЛД одним з відомих способів: виливання у відповідну форму, пресування, штампування тощо [4].

Із метою розробки оптимальних параметрів технологічного процесу одержання дисків нами досліджена залежність пластичних властивостей суміші від температури (Рис. 1). Так, в інтервалі температур $0 - t_1$ маса тверда, від $t_2 - t_3$ маса має в'язко-пластичні властивості, при t_4 маса досягає рідкої структурно-в'язкої консистенції та може вилитися у форми.

Це дозволяє припустити, що стоматологічні диски можуть бути одержані пресуванням ($0 - t_1$), штампуванням ($t_2 - t_3$) або, як у нашому випадку, методом виливання.

При дослідженнях фізико-хімічних та реологічних властивостей зразків препарату нами застосовувалися різні методики і прилади. Міцність СЛД досліджували на приладі ПИТ-2 або приладі ХНІХФІ, стираність (у часі) — за допомогою бормашини на інтактних зубах.

Інтенсивність забарвлення асоціатів тримекаїну з кислотно-лужними індикаторами вимірювали на приладі ФЕК-56М, оптичну густину розчинів вивчали на спектрофотометрах СФ-16 або СФ-26. Спектри поглинання діючих та допоміжних речовин вивчали у Державному підприємстві „Державний науковий центр лікарських засобів” на приладі „Spesord”.

Властивості та основні параметри стоматологічних лікувальних дисків наведені у Табл. 1.

Нами вивчена анестезуюча дія препарату, визначена глибина проникнення речовин складу у тверді тканини зуба та вплив їх на функції ряду органів та систем.

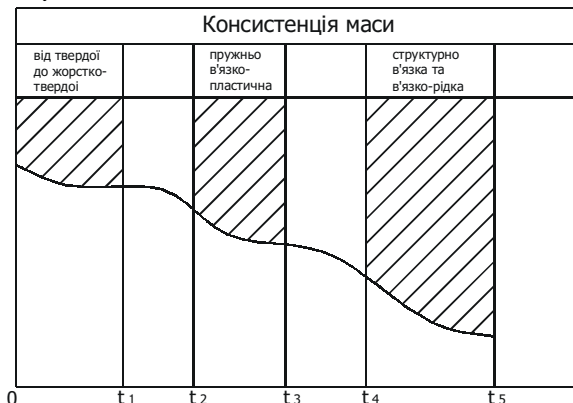
Дослідження глибини проникнення натрій фториду були здійснені методом, який ґрунтується на здатності срібла нітрату проника-

Таблиця 1
Властивості та основні параметри СЛД „Нафтатрин“

Препарат	Колір	T _{пл} , °C	Міцність, кг/см ²	Стираність, г	Середня маса, г	Товщина, мм	Діаметр, мм
СЛД „Нафтатрин“	світло-коричневий	74-76	10.9-12.8	0.004-0.006	0.5-0.54	4.0-4.5	15-18

ти по міжмалеєвим просторам, дентинним каналцям твердих тканин зубів, попередньо оброблених препаратами, які містять фтор.

Рисунок 1



Пластичні властивості суміші для виготовлення лікувальних дисків

Методика дослідження полягає у наступному: екстраговані інтактні зуби людини після обробки розчином калій перманганату фіксувалися у гіпсовому блоці. Далі одна сторона коронки зуба (А) оброблялася препаратом, а інша (Б) лишалася інтактною (без застосування препаратів, які містять фтор) (Рис. 2).

Після такої підготовки коронка зуба занурювалась на 15 хв у 10 % розчин срібла нітрату з наступним відновленням його у 4 % розчині гідрохінону.

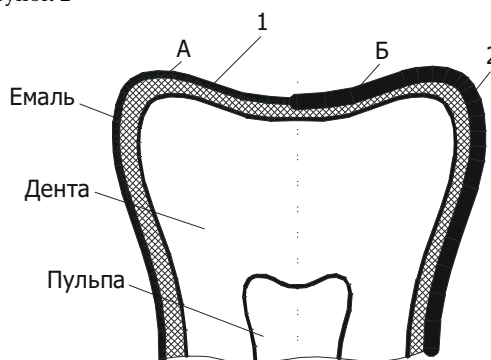
Коли реакція відновлення срібла закінчувалася, виготовлялися поздовжні шліфи коронки оброблених зубів, які потім вивчалися під мікроскопом (збільшення х10).

Результати дослідження показують, що у тверді тканини коронки необробленої половини Б зуба відновлене срібло проникає на різну глибину і фіксується по ходу міжмалеєвих призм і дентинних каналців.

На половині А зуба, де тверді тканини коронки оброблені СЛД, відновлене срібло виявляється у вигляді різкої межі лише на поверхні зуба, що свідчить про наявність захисної плівки, яка утворюється при обробці коронки зуба стоматологічними лікувальними дисками.

Аналогічний дослід проводився із зубами, які оброблені пастою «Нафестезин» (препарат порівняння), а також з інтактними зубами.

Рисунок 2



Дослідження глибини проникнення натрій фтору у тверді тканини зуба

А - частина поверхні зуба, оброблена СЛД

Б - необроблена частина зуба

1 - межа відновлення срібла на поверхні зуба, який захищено плівкою СЛД

2 - проникнення відновленого срібла на різну глибину міжмалеєвих призм і дентинних каналців

Про глибину проникнення натрій фториду у тверді тканини зуба судили по стороні зуба Б. Після відновлення срібла гідрохіноном, утворюється забарвлена сполука темного кольору, яка дозволяє робити висновки про глибину проникнення фтору.

Стоматологічними лікувальними дисками було оброблено 12 зубів, із яких готували та аналізували 36 шліфів. При вивченні цих шліфів під мікроскопом було відмічено забарвлення у темний колір твердої тканини зубів, що свідчить про проникнення у тверді тканини зубів натрій фториду на глибину (1.15 ± 0.01) мм (Табл. 2).

У випадку з пастою «Нафестезин» срібло відновлюється лише на поверхні зуба та у вигляді темної пігментованої лінії відмічається на глибині (0.01 ± 0.005) мм, що свідчить про її низьку ефективність.

Результати проведених досліджень, які наведені у Табл. 2, показують, що полімерна композиція для стоматологічних лікувальних

Таблиця 2

Глибина проникнення натрій фториду у тверді тканини зуба

Об'єкти	Кількість оброблених зубів, шт.	Кількість виготовлених та вивчених шліфів, шт.	Глибина проникнення, мм
Зуби інтактні	6	18	-
Паста "Нафестезин"	9	27	0.01±0.005
СЛД "Нафтатрин"	12	36	1.15±0.01

дисків, яка пропонується, дозволяє достатньо швидко та глибоко вводити діючі речовини в міжмалеві призми та дентинні каналці під час втирання їх за допомогою бормашини.

При проведенні доклінічних фармакологічних досліджень СЛД „Нафтатрин“ було вивчено знеболюючу дію препарату методом реєстрації больових відчуттів, що провокувалися електроподразнюванням тканин зуба. У цих дослідженнях використовували верхні ікла собаки.

За результатами аналізу встановлено, що діючі речовини лікарської форми (натрій фторид і тримекаїн) досить ефективно проникають в оголені дентинні каналці препаративаних зубів, створюючи у такий спосіб у структурі зуба мінеральну плівку, що захищає тверді тканини від впливу різних подразників, які викликають біль.

Про вплив складу нової лікарської форми на функцію ряду органів і систем організму судили за зміною величини артеріального тиску, частоти пульсу і температури тіла.

Нешкідливість дисків з'ясовували в гострих і хронічних дослідах на трьох видах тварин (білих мишах, щурах та морських свинках). Особливу увагу було звернено на виявлення можливої місцевоподразнюючої й алергізуючої дії.

Перевірка перенесення препарату, проведена на щурах і морських свинках при тривалому (хронічному) введенні, не виявила симптомів, що свідчать про патологію.

Результати дослідження та їх обговорення

Одержані результати дозволяють зробити висновки про низьку гостру токсичність препарату, відсутність небажаних явищ або симптомів інтоксикації при тривалому застосуванні, що дозволяє рекомендувати СЛД „Нафтатрин“ як знеболювач твердих тканин зубів у стоматологічній практиці.

Таким чином, створено ефективну фармацевтичну композицію „Нафтатрин“ у формі СЛД, яка виявляє достатню специфічну дію, оптимальну міцність та має температуру

плавлення, що дозволяє діючим речовинам із високою інтенсивністю проникати у дентинні каналці твердих тканин зубів.

Тому ця фармацевтична композиція може бути використана:

у клініці ортопедичної стоматології:

- із метою знеболювання при препаруванні зубів під незнімні протези;

- для захисту твердих тканин препаративаних зубів від впливу різних подразнювачів і мікрофлори порожнини рота;

- для попередження шкідливої дії цементів, які використовуються для фіксації протезів на тканини зуба

у клініці терапевтичної стоматології:

- для лікування гіперестезії твердих тканин зубів внаслідок їх патологічного стирання, клиновидних дефектів, пародонтозу;

- із метою профілактики карієсу зубів.

Висновки

1. Вивчено склад та технологія виготовлення стоматологічних лікувальних дисків, фізико-хімічні та реологічні властивості зразків препарату.

2. Визначена анестезуюча дія препарату, глибина проникнення речовин складу у тверді тканини зуба та вплив їх на функції ряду органів та систем.

3. Проведено доклінічні фармакологічні дослідження СЛД „Нафтатрин“.

ЛІТЕРАТУРА

1. Справочник по стоматологии / Под ред. А.И. Рыбакова. - 3-е изд., перераб. и доп. - М.: Медицина, 1993. - 57 с.
2. Рощина П.И., Максимовская Л.Н. Справочник. Лекарственные средства. Стоматология. - М.: Медицина, 1989.
3. Косенко К.Н. Комплексное лечение и профилактика стоматологических заболеваний. - Киев, 1989. - С. 294-296.
4. А.с. 1165395 СРСР. Состав для лечения начального кариеса и гиперестезии эмали зубов / Нападов М.А., Катурова Г.Ф., Пименов А.Ф. - 4 с.
5. Справочник по гигиене применения полимеров / Под ред. К.И. Станкевича. - К.: Здоров'я, 1984. - 192 с.
6. Зорян Е.В. Изучение фармакодинамики комбинаций ряда обезболивающих препаратов, применительно к задачам стоматологической анестезиологии. Экспериментальные исследования: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. - М., 1998. - 28 с.
7. Boyer D., Chatkley Y., Kai Chin Chan // I. Biomet. Mat. Res. - 1982. - Vol. 16, No. 5. - P. 775-783.

8. Bartels T., Van Pelt A.W., de Jong H.P. et al. // Caries Res. — 1982. — Vol. 16.

Резюме

Маслий Ю.С., Егоров И.А., Гризодуб В.И.

**Стоматологические лечебные диски „Нафтатрин”.
Технология изготовления и фармацевтические
исследования**

Изучены состав и технология изготовления стоматологических лечебных дисков (СЛД), физико-химические и реологические свойства образцов препарата. Определено анестезирующее действие препарата, глубина проникновения веществ состава в твердые ткани зуба и влияние лекарственного средства на функции ряда органов и систем. Проведены доклинические фармакологические исследования СЛД „Нафтатрин”. Результаты исследований показали достаточное специфическое действие, оптимальную прочность и температуру плавления, низкую острую токсичность препарата, отсутствие нежелательных явлений и симптомов интоксикации при длительном применении, что позволяет рекомендовать СЛД „Нафтатрин” в качестве обезболивающего средства твердых тканей зубов в стоматологической практике.

Summary

Masliy Yu.S., Egorov I.A., Grisodub V.I., Spiridonov S.V.

Stomatological medicinal disks “Naftatrin”. Production technology and pharmaceutical investigations

Stomatological medicinal disks (SMDs) composition and technology, as well as physico-chemical and rheological characteristics of the samples of product were studied.

An anesthetic effect of product, a depth of composition ingredients penetration in the tooth hard tissues and an effect of ones on a function of organs and systems were determined. The pre-clinical pharmacological investigations of “Naftatrin” SMDs were conducted. The results of investigations demonstrated the sufficient specific effect, optimum strength and melting point, low acute toxicity, absence of undesirable phenomena and intoxication symptoms during the long-term use, that allows to recommend the “Naftatrin” SMDs as the anesthetic for tooth hard tissues in dentistry practice.

Маслий Юлія Сергіївна. Закінчила Українську фармацевтичну академію (2001). Аспірант із відривом від виробництва кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (НФаУ) (із 2001).

Егоров Іван Артемович (н. 1941). Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1969). Д.фарм.н. (1987). Професор (1989) кафедри заводської технології ліків НФаУ.

Гризодуб Василь Іванович (н. 1951). Закінчив Полтавський стоматологічний інститут (1973). Д.мед.н. (1996). Професор (1998) кафедри ортопедичної стоматології та ортодонції ХМАПО.

Спиригонов Сергій Володимирович (н. 1974). Закінчив Українську фармацевтичну академію (1996). К.фарм.н. (2001). Асистент кафедри заводської технології ліків НФаУ.

УДК 577.152.311

Янченко П.С., Пашнев П.П., Казаринов Н.А., Комиссаренко А.Н.

Национальный фармацевтический университет

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Исследование липазотропной активности силибора

Исследовано влияние силибора на активность липолитических ферментов панкреатина. Установлено, что силибор *in vitro* обладает активирующим влиянием на панкреатические липолитические ферменты на уровне 24 %, что свидетельствует о совместимости препаратов и потенцировании эффектов.

За последнее десятилетие показатель заболеваемости поджелудочной железой у населения Украины в среднем вырос в 2.7 раза [1], что обусловлено ухудшением жизненного уровня, качества продуктов питания, а также последствиями аварии на ЧАЭС; при этом патология, связанная с энзимной недостаточностью, наблюдается у 40 % пациентов [2].

Патология поджелудочной железы, как наиболее распространенная причина недостаточности пищеварительных ферментов, часто сочетается с сопутствующей патологией других органов пищеварительной системы, таких как желчный пузырь (холецистопанкреатиты), печень и др. [3]. Это приводит к необходимости совместного приёма фер-

ментных препаратов с препаратами других фармакотерапевтических групп, таких как спазмолитики, витамины, гепатопротекторы и нормализаторы моторики ЖКТ [4]. Многие из вышеназванных групп препаратов имеют растительное происхождение и могут оказывать существенное влияние на активность липолитических ферментов, которым принадлежит важная роль в процессе пищеварения. Липазу можно рассматривать как «стандарт фермента» в комплексных ферментных препаратах [5]. Известна также способность экстракта *Eriobotria japonica* [6, 7], экстракта из зародышей риса [8], некоторых флавоноидов, кумаринов [9] и катехинов [10] угнетать активность липазы. Имеются данные и

о повышении активности липаз под воздействием кислоты аскорбиновой [11] и некоторых антрахинонов [12]. Липазотропная активность также свойственна некоторым карденолидам [13], сесквитерпенам [14], эфирным маслам, а также сопутствующим им компонентам [15].

Исходя из этого представляет интерес изучение влияния гепатопротекторного препарата силибора на липолитическую активность панкреатина с целью выяснения их фармакологической совместимости.

Материалы и методы

Для исследований использовали порошок силибора производства ООО "ФК "Здоровье", соответствующий ФС 42У-7/37-1143-01. В качестве модельного фермента был использован панкреатин фирмы «Biochemie», Австрия, с ферментной активностью не менее: липолитическая - 45000 ЕД FIP, амилолитическая - 35000 ЕД FIP и протеолитическая - 2800 ЕД FIP.

Определение липазотропной активности силибора проводили по методу, подробно изложенному в работе [16], но с некоторыми изменениями, направленными на приближение условий липолиза к естественным условиям желудочно-кишечного тракта. Так, в качестве эмульгатора растительного масла вместо твина-80 использовали кислоту холевую в концентрации 0.014 %. Силибор в количестве 0.0072 г вводили в состав реакционной смеси в виде суспензии. Количество панкреатина в реакционной смеси - 0.008 г.

Результаты и их обсуждение

Для определения липазотропной активности проводили сравнение средней скорости липолитической реакции в опыте с силибором и в контрольном опыте.

Результаты расчёта средней скорости липолитической реакции и их статистическая оценка представлены в таблице.

Для определения достоверности отличия средних скоростей липолитической реакции, прямо пропорциональных активности фермента, в опыте и контроле использовали статистический метод, рекомендованный ГФ XI [17]. Липазотропная активность препарата была рассчитана в соответствии с рекомендациями [16]. Относительная активность панкреатической липазы представлена на рисунке.

Таким образом, наши исследования показали, что силибор *in vitro* обладает способно-

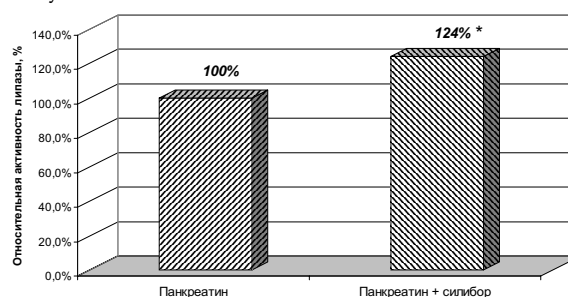
стью активировать липазу в составе панкреатина.

Таблица

Средняя скорость липолиза в опыте с силибором и в контрольном опыте

Опыт	Скорость реакции, мл/мин	p	f	Средняя скорость реакции, мл/мин
Контроль 1	0.310	0.05	3	0.2915 ± 0.022
Контроль 2	0.280			
Контроль 3	0.283			
Контроль 4	0.293			
Опыт 1	0.360	0.05	2	0.3613 ± 0.006
Опыт 2	0.364			
Опыт 3	0.360			

Рисунок



Относительная активность липазы в опыте с силибором и в контрольном опыте

* - достоверно относительно контроля при $n_k = 4$, $n_n = 3$, $p = 0.05$.

Полученные данные свидетельствуют о фармакологической совместимости препаратов панкреатин и силибор, что, однако, нуждается в дальнейшем подтверждении в опытах *in vivo*, а также в выяснении исследований влияния силибора на активность других ферментов панкреатина, в частности, протеаз и амилаз. Интересным также представляется вопрос о механизме обнаруженного активирующего влияния силибора и определения веществ, оказывающих это действие. Этому будут посвящены дальнейшие исследования.

Выводы

1. Впервые исследовано влияние силибора на активность липолитических ферментов панкреатина.

2. Установлено, что силибор *in vitro* обладает активирующим влиянием на панкреатические липолитические ферменты на уровне 24 % в соотношении силибор : панкреатин (9:10).

3. Полученные данные свидетельствуют о потенцировании эффектов и совместимости препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голубчиков М.В. Статистичний огляд захворюваності населення України на хвороби органів травлення // Сучасна гастроентерологія і гепатологія. - 2000. - № 1. - С. 19-20.
2. Маслова Н.Ф., Бомко Т.В. Сравнительная оценка специфического действия и ряда параметров, нигедазы и оразы // Хим.-фарм. журн. - 1995. - № 7. - С. 8-10.
3. Бацков С.С., Иноземцев С.А., Ткаченко Е.И. Болезни жёлчного пузыря и поджелудочной железы. - М.: Медицина, 1996. - 96 с.
4. Златкина А.Р. Лечение хронических болезней пищеварения. - М.: Медицина, 1994. - 336 с.
5. Маслова Н.Ф. Ферментні препарати, які покращують процеси травлення // Клинич. фармація. - 1999. - Т. 3, № 1. - С. 20-26.
6. Пат. 11228338 Япония, МПК⁶ А 61 К 7/00. Lipase inhibitor and pimple improving preparation for external use . Kawai Eriko, Inaba Tomoyuki, Ota Masahiro (Япония); Shiseido Co Ltd. - 4 с.
7. Пат. 10265364 А. Япония, МПК⁶ А 61 К 7/48. Lipase inhibitor and external preparation for skin for pimple. Kawai Eriko, Inaba Tomoyuki, Kitamura Kanen (Shiseido Co Ltd), Япония. - 5 с.
8. Пат. 5503831. США, МПК⁶ А 61 К 35/78. Lipase inhibitor derived from defatted rice germ. Hidelriko Takahashi (Yakurigaki Sbuo), Япония. - 3 с.
9. Ковалева А.М. Определение липотропной активности полифенольных соединений растительного происхождения // Вестник фармации. - 1999. - № 1.- С. 25-28.
10. Пат. 5629338. США, МПК⁶ А 61 К 31/35. Tannins and lipase inhibitors containing the same as active ingredients. Okuda T., Yoshida T., Natano T., Hashimoto T. et al. (Lotte Co Ltd.), Япония. - 9 с.
11. Комиссаренко А.Н., Ковалева А.М., Янченко П.С. Чалый А.Г. Поиск веществ с липазотропной активностью и исследование липазы // Природные биологически активные вещества и их синтетические аналоги: Тез. докл. науч.-практ. семинара НАН Украины. - Гурзуф, 2000. - С. 61-65.
12. Журавлев М.С., Ковалева А.М., Комиссаренко А.Н., Крючкова Т.М., Абу Дарвиш Мухамед. Изучение липотропной активности природных антрахинонов и их синтетических аналогов // Вестник фармации. - 1999. - № 1. - С. 29-32.
13. Комиссаренко А.Н., Ковалева А.М., Ковалев С.В., Чаусов В.И. Липотропная активность карденолидов // Провизор. - 1999. - № 6. - С. 46-47.
14. Комиссаренко А.Н., Котов А.Г., Ковалева А.М., Комиссаренко Н.Ф. и др. Поиск биологически активных веществ с липотропной активностью // Физиологически активные вещества. - 1999. - № 1. - С. 112-114.

15. Ковалева А.М. Определение липотропной активности некоторых эфирных масел и их компонентов // Провизор. - 1999. - № 5. - С. 47-48.
16. Янченко П.С., Комиссаренко А.Н., Георгиевский Г.В. Метод определения липазотропной активности веществ // Фармаком. - 2001. - № 3. - С. 44-47.
17. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1987. - С. 199-251.

Резюме

Янченко П.С., Пашнев П.П., Казаринов М.О., Комиссаренко А.М.

Дослідження ліпазотропної активності силібору

Досліджено вплив силібору на активність ліполітичних ферментів панкреатину. Установлено, що силібор *in vitro* виявляє активуючий вплив на панкреатичні ліполітичні ферменти на рівні 24%, що свідчить про сумісність препаратів та потенціювання ефектів.

Summary

Yanchenko P.S., Pashnev P.P., Kazarinov N.A., Komissarenko A.N.

Study of lipase activity of siliborum

The siliborum influence on lipolytic activity of pancreatic lipolytic enzymes was investigated. It was established, that siliborum *in vitro* possesses an activating influence on pancreatic lipolytic enzymes at a level 24 %, that testifies to compatibility of preparations and potentiation of effects.

Янченко Павел Сергеевич (р. 1978). Окончил Национальную фармацевтическую академию Украины (2000). Аспирант кафедры фармакогнозии НФаУ.

Пашнев Павел Петрович (р. 1977). Окончил Национальную фармацевтическую академию Украины (1999). Мл. науч. сотрудник лаборатории таблетированных лекарственных средств ГП ГНЦЛС.

Казаринов Николай Александрович (р. 1937). Окончил фармацевтический факультет 1-го Московского медицинского института им. И.И. Сеченова (1960). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1959). Зав. лабораторией таблетированных лекарственных средств (1982). Доктор фарм. наук (1985). Профессор (1993). Чл.-корр. Инженерной академии Украины (1992). Член Редакционного совета Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ).

Комиссаренко Андрей Николаевич (р.1962). Окончил Харьковский фармацевтический институт (1984). Д.фарм.н. (2000). Доцент кафедры фармакогнозии НФаУ.

Стандартизація лікарських засобів

УДК 615.076

Глазова Н.В., Багирова В.Л., Крашенинников А.А., Караваева А.В.
Химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург
НПФ «ЛЮМЕКС», Санкт-Петербург
Институт стандартизации лекарственных средств НЦ ЭГКЛС, Москва

Сравнительная оценка методов определения пирогенности в воде для инъекций

Предложен люминесцентный метод определения пирогенности в воде для инъекций с использованием анализатора Флюорат-02 АБФФ-ДХ. Испытано 11 серий воды для инъекций производства ООО «Самсон-Мед». Обнаружена линейная зависимость нормированной интенсивности люминесценции (In) от концентрации пирогенных примесей, определенных по ЛАЛ-тесту. Проведена статистическая обработка экспериментальных данных по программе «CURVE EXPERT» 1.3. Коэффициент корреляции r составил 0.989, стандартная ошибка S – 0.0399. Установлена величина In равная 0.135, соответствующая предельно допустимому содержанию бактериальных эндотоксинов в воде для инъекций, определенному по ЛАЛ-тесту (0.25 ЕЭ/мл). Показана перспективность люминесцентного экспресс-метода анализа как альтернативного ЛАЛ-тесту и тесту на кроликах.

Источником пирогенных примесей в воде для инъекций в большинстве случаев являются эндотоксины грамотрицательных бактерий (липополисахариды, (ЛПС)), которые вместе с фосфолипидами и белками входят в состав наружной мембраны грамотрицательных бактерий [1].

Известно, что чистый ЛПС не может держаться в воде для инъекций, так как он попадает в раствор только после разрушения грамотрицательных микроорганизмов. Таким образом, после этапов подготовки воды и проверки ее на стерильность в воде для инъекций могут присутствовать фрагменты клеточной стенки, содержащие комплекс ЛПС с белком. Отделение чистого ЛПС от белка может происходить только в щелочной среде или в присутствии фенолов и спиртов [1], присутствие которых невозможно в воде для инъекций. Таким образом, используемые для оценки пирогенности воды для инъекций фармакопейные методы (фармакологический тест на кроликах и ЛАЛ-тест) [2, 3] выявляют по сути липополисахаридобелковый комплекс.

Однако фармакологический тест определения пирогенности на кроликах является качественным (т.е. запрещающим или разрешающим), так как результаты теста зависят от индивидуальных особенностей животных, их состояния. Не все лекарственные средства могут быть протестированы с помощью данного метода [1, 4]. Более точным и быстрым способом контроля пирогенности лекарственных препаратов является ЛАЛ-тест, который

вошел в Фармакопеи многих стран, в том числе и России. Тест высокоспецифичен по отношению к эндотоксинам грамотрицательных бактерий, кроме того, чувствительность его во много раз превышает чувствительность фармакопейного теста на кроликах [1].

К настоящему времени ЛАЛ-тест прочно внедрен в практику производства и контроля лекарственных средств на ведущих фармацевтических фирмах мира. Эффективное внедрение данного метода в Российской Федерации (РФ) связано с принятием в 1997 году временной фармакопейной статьи (ВФС 42-2960-97), а в 2000 году общей фармакопейной статьи (ОФС 42-0002-00), на основе которых должны разрабатываться частные фармакопейные статьи для производимых в РФ инъекционных и инфузионных препаратов.

Поскольку вода является основой всех инъекционных лекарственных препаратов, качество последних будет определяться качеством воды. До сих пор не отпала необходимость в быстрых и надежных методах определения пирогенности воды для инъекций, особенно для срочного предварительного контроля в процессе производства и в условиях аптек, т.к. несмотря на высокую чувствительность ЛАЛ-теста, он, тем не менее, не является экспресс-методом.

Ранее были предприняты попытки разработки различных физико-химических экспресс-методов анализа [5, 6, 7]. Один из них основан на влиянии пирогенообразующих микроорганизмов на величину интенсивности люминесцентности красителя родамина

6Ж [8]. Метод достаточно надежен, не требует больших затрат по времени, однако, широкое применение его затруднено ввиду необходимости использования специальных дорогостоящих приборов. В связи с развитием люминесцентных методов анализа в жидких средах и широким выпуском отечественных приборов перспективным является разработка люминесцентного экспресс-метода анализа пирогенности воды. Этот метод не имеет тех ограничений, которые возникают при использовании теста на кроликах и ЛАЛ-теста. Однако, поскольку тест на кроликах и ЛАЛ-тест являются фармакопейными методами определения пирогенности [2], представляется интересным провести сравнительную оценку (валидацию) перечисленных выше методов с флуоресцентным методом анализа с тем, чтобы в дальнейшем рекомендовать его для включения (как альтернативного метода) в фармакопейную статью (ФС) для оценки качества воды.

Экспериментальная часть

Работа проводилась на базе ООО «Самсон-Мед». Для испытаний образцов воды для инъекций отбирали среднюю пробу. За среднюю пробу принята проба объемом не менее 500 мл, полученная смешением в асептических условиях шести разовых проб, отбираемых через каждые четыре часа из емкости через нижний штуцер под факелом. За серию принимали любое количество воды для инъекций, произведенное за единый промежуток времени (сутки) на одном оборудовании (осмотическая установка, дистиллятор).

Испытания на пирогенность на кроликах проводилось согласно ГФ XI, с. 186. Концентрацию бактериальных эндотоксинов проводили по ЛАЛ-тесту двумя способами: качественным гель-тромб тестом согласно ОФС 42-0002-00 [3] и количественным колориметрическим методом с расчетом содержания бактериальных эндотоксинов по предварительно построенному калибровочному графику [1].

Для проведения ЛАЛ-теста использовались реактивы производства "Charles River Endosafe" Inc (США) (регистрационное удостоверение МЗ РФ № 99/113 от 18.08.99), поставляемые в Россию фирмой «Тандра».

В работе использовался ЛАЛ-реагент чувствительностью (I), выраженной в единицах эндотоксина, равной 0.125 ЕЭ/мл (lot # L2061L) и 0.03 ЕЭ/мл (lot # L3111L), контрольный стандарт эндотоксина — КСЭ

(500 нг во фла.), активность которого выражена в единицах Международного стандарта эндотоксина ЕЭ (RSE) (lot # ЕС-6), воду для анализа по ЛАЛ-тесту (lot # P01411) [3].

Для построения калибровочного графика КСЭ разводили водой для ЛАЛ-теста до концентрации бактериальных эндотоксинов 2 ЕЭ/мл, а затем готовили ряд последовательных двукратных разведений водой для ЛАЛ-теста.

В основе количественного колориметрического теста лежит реакция гель-тромб, проводимая согласно ОФС 42-0002-00. После окончания инкубации ((60 ± 2) мин при температуре (37 ± 1) °С) пробирки с испытуемыми пробами помещали в пластмассовые стаканы и центрифугировали в течение 20 мин при 6000 об/мин. После центрифугирования надосадочную жидкость осторожно удаляли. Осадок промывали, добавляя 1 мл дистиллированной воды и центрифугуя (20 мин, 6000 об/мин). После удаления промывной воды к осадку добавляли 2 мл 0.75 М раствора NaOH и перемешивали до полного растворения осадка. Из полученного раствора отбирали 0.1 мл, переносили в пробирку и последовательно добавляли 0.4 мл 0.75 М раствора NaOH, 2.5 мл реактива С, 0.25 мл реактива Д и выдерживали 30 мин при комнатной температуре. После окончания времени выдерживания определяли оптическую плотность при длине волны 750 нм (A_{750}) против раствора сравнения, при приготовлении которого вместо 0.1 мл испытуемого раствора и 0.4 мл 0.75 М NaOH брали сразу 0.5 мл 0.75 М раствора NaOH. Для построения калибровочного графика по оси абсцисс откладывали значение концентрации эндотоксина (ЕЭ/мл), по оси ординат - значение A_{750} .

Для измерения интенсивности люминесценции в работе использовали анализатор биожидкостей флуоресцентнофотометрический с детекцией хроматографической Флюорат-02 АБФФ-ДХ. Прибор выпускается в соответствии с требованиями нормативного документа ТУ 9443-001-20506233-96, разрешен к применению приказом Минздрава РФ № 17 от 21 января 1997 года и внесен в Государственный реестр медицинских изделий. В основе метода определения пирогенности воды для инъекций лежит измерение интенсивности люминесценции (li) в присутствии комплекса бактериальных эндотоксинов с белком. Интенсивность люминесценции регистрируется при помощи анализатора био-

жидкостей типа Флюорат-02 модификации Флюорат-02 АВФФ-ДХ в режиме «Люминесценция». В состав набора для анализа входит контрольный люминесцентный стандарт (КЛС), который должен быть предварительно откалиброван по эталонному люминесцентному стандарту (ЭЛС), хранящемуся у изготовителя. В практике удобно пользоваться показателем нормированной интенсивности люминесценции (I_n), которая равна отношению измеренной интенсивности люминесценции (I_i) к интенсивности люминесценции, которую дает КЛС (I_o). $I_n = I_i / I_o$.

Для установления порогового значения интенсивности люминесценции, которое определяет положительный или отрицательный результат на наличие пирогенных примесей (липополисахариднобелкового комплекса) в анализируемой воде для инъекций, проводили параллельное определение пирогенности на кроликах, определяли концентрацию бактериальных эндотоксинов по ЛАЛ-тесту и одновременно проводили измерение показателя люминесценции на приборе Флюорат-02.

В Таблице представлены данные анализа различных серий образцов проб воды для инъекций, произведенного на ООО «Самсон-Мед», тремя методами.

Как видно из Таблицы, наблюдается зависимость между показателями интенсивности люминесценции (I_n) и концентрации эндотоксина ($C_{энд}$). Эта зависимость является линейной (Рисунок). При концентрации эндотоксина 0.5 ЕЭ/мл (2λ) наблюдается образование твердого геля. Это соответствует показателю нормированной интенсивности люминесценции $I_n = 0.198$.

Однако, как следует из Таблицы, биологический метод определения пирогенности является менее чувствительным по сравнению с ЛАЛ-тестом и люминесцентным методом, причем положительная реакция у кроликов (сумма повышений температуры у трех кроликов более 1.4 °С) в исследуемых пробах не была достигнута, хотя концентрация бактериальных эндотоксинов значительно превышала предельно допустимое значение концентрации бактериальных эндотоксинов (0.25 ЕЭ/мл) в соответствии с ФС 42-2620-97

Таблица

Сравнительный анализ воды для инъекций на пирогенность различными методами

№ серии	Нормированная интенсивность люминесценции* (I_n) (4 повторности)	ЛАЛ-тест		Тест на кроликах (сумма повышений температуры по 3-м кроликам)
		гель-тромб (2 повторности)	$C_{энд}$ ЕЭ/мл (среднее значение по результатам 4-х опытов)	
160601	0.050	—	0.08	0.15
140601	0.077	—	0.125	0.14
210601	0.096	—	Н/п	0.15
200701	0.083	—	0.17	0.15
180701	0.092	—	Н/п	0.15
190701	0.100	—	0.20	0.17
250701	0.102	—	0.22	0.18
220601	0.116	—	Н/п	0.17
170701	0.131	—	0.24	0.16
120301	0.118	—	Н/п	0.16
130301	0.119	—	Н/п	0.18
240701	0.121	—	0.22	0.18
260701	0.135	+/-	0.25	0.19
200601	0.168	+	Н/п	0.29
220701	0.198	+	0.5	0.32
110301	0.229	+	0.59	0.34
100301	0.343	+	0.92	0.54

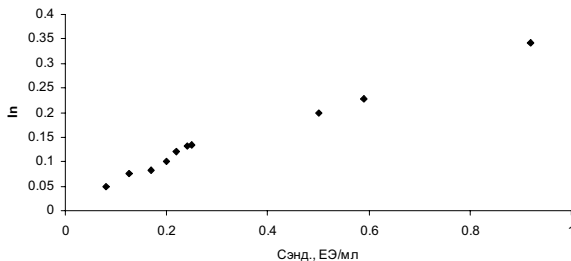
Примечания:

* - нормированная интенсивность люминесценции (I_n) представляет собой отношение интенсивности люминесценции пробы (I_i) к интенсивности люминесценции контрольного люминесцентного стандарта (I_o);

Н/п — определение не проводили

[2]. По этой причине пороговое допустимое значение показателя интенсивности люминесценции I_n устанавливали по сравнению с ЛАЛ-тестом.

Рисунок



Зависимость нормированной интенсивности люминесценции от концентрации бактериальных эндотоксинов в воде для инъекций

Сравнительный анализ методов определения пирогенности, представленный в Таблице, показывает, что для установления предельно допустимого показателя нормированной интенсивности люминесценции (I_n) необходимо ориентироваться на колориметрический метод, позволяющий определять точное количественное содержание бактериальных эндотоксинов. Статистическая обработка экспериментальных данных, представленная в Таблице, проводилась на персональном компьютере по программе "CURVE EXPERT" 1.3. Коэффициент корреляции r составил 0.989, стандартная ошибка S — 0.0399.

Высокий коэффициент корреляции характеризует надежность анализа выбранных параметров метода и позволяет установить пороговое значение I_n , соответствующее предельно допустимому содержанию бактериальных эндотоксинов в воде для инъекций согласно ФС [2]. Данному предельному значению концентрации эндотоксинов (0.25 ЕЭ/мл) соответствует нормированная интенсивность люминесценции равная 0.135. Эта величина I_n может считаться пороговым значением.

Экспериментальные данные по анализу воды для инъекций с использованием различных методов контроля позволяют говорить о перспективности люминесцентного метода анализа, который при малых затратах времени (2 — 5 мин) и простоте в выполнении анализа, несомненно может использоваться как экспресс-метод для предварительного контроля воды. После получения экспериментальных данных на разных предприятиях и валидации метода, считаем целесообразным рекомендовать его не только для предварительного

контроля, а также для введения в ФС [2] в качестве альтернативного метода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ситникова А.Г., Глазова Н.В., Травина Л.А., Багирова В.Л. ЛАЛ-тест. Современные подходы к определению пирогенности. — СПб. — 1994. — 105 с.
2. ФС 42-2620-97. Вода для инъекций. Изменение №1 от 31 мая 2000 г.
3. ОФС 42-0002-00. Бактериальные эндотоксины.
4. Крылов Ю.Ф., Кивман Г.Я. Биологический контроль безопасности лекарственных средств. — М.: Медицина. -1985.
5. Глазова Н.В., Ефимова Т.Б., Дмитренко Л.В. Применение гелхроматографического метода для количественного анализа пирогенных примесей в лекарственных препаратах // Журнал физ. химии. — 1994. — Т. 68, № 10. — С. 1803-1805.
6. Глазова Н.В. и др. Анализ пирогенности в препаратах панкреатической рибонуклеазы // Химико-фармац. журнал. — 1991. — № 1. — С. 79-81.
7. Щедрина Л.Е., Брутко Л.И., Потемкина С.И. и др. // Фармация. — 1991. — Т. 11, № 4. — С. 77-78.
8. Брутко Л.И., Щедрина Л.Е. / Актуальные проблемы фармации. — М., 1979. — С. 51-52.

Резюме

Глазова Н.В., Багирова В.Л., Крашенінніков А.А., Караваєва А.В.

Порівняльна оцінка методів визначення пирогенності у воді для ін'єкцій

Запропонований люмінесцентний метод визначення пирогенності у воді для ін'єкцій із використанням аналізатора Флюорат-02 АБФФ-ДХ. Випробовано 11 серій води для ін'єкцій виробництва ВАТ "Самсон-Мед". Знайдена лінійна залежність нормованої інтенсивності люмінесценції (I_n) від концентрації пирогенних домішок, визначених за ЛАЛ-тестом. Проведена статистична обробка експериментальних даних за програмою "CURVE EXPERT" 1.3. Коефіцієнт кореляції r становить 0.989, стандартна похибка S — 0.0399. Установлена величина I_n , що дорівнює 0.135 і відповідає гранично припустимому вмісту бактеріальних ендотоксинів у воді для ін'єкцій, що визначається за ЛАЛ-тестом (0.25 ОЕ/мл). Показана перспективність люмінесцентного експрес-методу аналізу як альтернативного ЛАЛ-тесту і тесту на кроликах.

Summary

Glazova N.V., Bagirova V.L., Krashennnikov A.A., Karavayeva A.V.

Comparative evaluation of methods of pyrogenation detection in water for injections

The luminescent method of pyrogenation detection in water for injections using an analyzer Fluorate-02 ABFF-DX is offered. 11 series of water for injections produced by «Samson-Med» Ltd were tested. The linear relationship between the normalized luminescence intensity (I_n) and the concentration of pyrogenic impurities, determined by LAL-test, was found out. The statistical interpretation of experimental data under the program «CURVE EXPERT» 1.3 was carried out. The correlation coefficient r was 0.989, the standard error S — 0.0399. The value I_n equal to 0.135 and corresponding to endotoxin limit concentration in water for injections, determined by LAL-test (0.25 EU/ml), was established. The good prospects of a luminescent express-method of analysis as an alternative to the LAL-test and test on rabbits is shown.

Глазова Н.В. Доцент кафедри біотехнології Санкт-Петербурзької державної хіміко-фармацевтичної академії (СПХФА). К. х. н.

Багірова В.А. Директор інституту стандартизації лікарських засобів НЦ ЭГКЛС. Голов-

ний учений секретарь Фармакопейного комітета РФ. Д. мед. н. Професор.

Крашенинников А.А. Заместитель Генерально-го директора по науке НПФ «ЛЮМЕКС».

Караваева А.В. Ст. науч. сотрудник лабораторії біотехнології СПХФА. К.б.н.

Фармакологічні дослідження

УДК 615.246.2:549.67:582.632.1

Яковлева Л.В., Бондарев Є.В.
Національний фармацевтичний університет

Дослідження впливу гранул цеоліту “Грацеол” на функціональну активність шлунково-кишкового тракту

Вивчено вплив нового вітчизняного ентеросорбенту - гранул цеоліту “Грацеол” на функціональну активність ШКТ: досліджена можлива ульцерогенна дія препарату та його вплив на моторику ШКТ. При вивченні можливих ульцерогенних властивостей гранул цеоліту встановлена відсутність виразок слизової оболонки шлунка дослідних тварин, що підтверджує гастропротекторний ефект препарату. Крім того, гранули цеоліту, на відміну від препарату порівняння – ентеросгель, не впливають на моторику ШКТ. Одержані результати дозволяють рекомендувати Грацеол для лікування виразкових уражень ШКТ.

У пошуках нових високоефективних засобів лікування людей наукова медицина звертається до різних джерел, передусім – до природних. У цьому плані особливе місце займають природні мінерали.

На сьогодні для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ) використовують різні лікарські засоби рослинного, мінерального та синтетичного походження, у тому числі й цеоліти. Цеоліти виявляють каталітичні, іонообмінні, сорбційні властивості, вони здатні розподіляти за розмірами іони та молекули різноманітних речовин, є нетоксичними та нешкідливими для здоров'я людини, тому представляють практичний інтерес для створення нового ентеросорбенту.

Субстанція цеоліту була одержана із природного мінерального комплексу алюмогідросилікатів та гідроксидів на кафедрі заводської технології ліків НФаУ доц. Рибачуком Д.В. [12]. Перспективність розробки препарату на основі цієї субстанції обумовлена не тільки відомими сорбційними властивостями цеолітів, а й наявністю в Україні значних родовищ цеолітової породи. Дані мінерали за рядом властивостей не поступаються синтетичним аналогам [2, 5], у тому числі й закордонним, а за вартістю - значно дешевші [8].

У ЦНДЛ НФаУ проходить доклінічне дослідження новий природний ентеросорбент Грацеол, оригінальність якого захищено па-

тентом України. Доклінічними дослідженнями, проведеними в ЦНДЛ НфаУ, встановлені виражені антиоксидантні, протизапальні, мембраностабілізуючі властивості, а також висока активність препарату при виразковому ураженні шлунка у щурів.

Як показують проведені дослідження, препарат виявляється ефективним при різних патологіях ШКТ, що супроводжуються інтоксикацією організму, а саме: виразках шлунка, гострому панкреатиті, гепатитах, отруєннях та ін. [3, 4, 9].

Із огляду на вищезазначене та у зв'язку із тим, що гранули цеоліту призначені для перорального застосування, представлялося необхідним вивчити вплив препарату на слизову оболонку шлунка (СОШ), а саме, дослідити можливу ульцерогенну дію та вплив на перистальтику кишечника.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на білих безпородних щурах і мишах, вирощених у розпліднику ЦНДЛ НФаУ, стандартизованих за фізіологічними та біохімічними показниками і утримуваних в умовах віварію відповідно до санітарно-гігієнічних норм [7].

Як препарат порівняння використовували ентеросгель у дозі 2.1 г/кг. Ентеросгель – представник вітчизняного ринку сорбентів синтетичного походження, на сьогоднішній день широко використовується при комп-

лексному лікуванні різних захворювань ШКТ [11]. Доза ентеросгелю для експерименту була розрахована, виходячи із середньодобової дози для людини, за допомогою коригувальних коефіцієнтів, які використовують при екстрополяції даних, одержаних при випробуваннях на щурах та мишах, на людину [10].

Грацеол вивчали в дозі 500 мг/кг, яка була встановлена, як найбільш ефективна, на моделі експериментальної виразки.

Можливу ульцерогенну дію гранул цеоліту та ентеросгелю вивчали відповідно до методичних рекомендацій [1]. Білих щурів масою від 180 г до 220 г витримували протягом 48 год на голодній дієті без обмеження прийому води. Потім дослідним тваринам внутрішньошлунково вводили досліджуваний препарат і препарат порівняння у зазначених дозах, тваринам контрольної групи – відповідну їх масі кількість води (1 мл на 100 г). Через 3 год після попередньої наркотизації ефіром тварин виводили з експерименту етаназією, витягали шлунок і візуально, за допомогою лупи, досліджували стан слизової оболонки шлунка: визначали кількість виразок на СОШ та оцінювали складчатість, наявність набряку та гіперемії.

Завданням наступного етапу роботи стало вивчення впливу гранул цеоліту на перистальтику кишечника білих мишей. Вибір даного напрямку досліджень обумовлений тим, що в клінічній картині виразок кишечника важливу роль відіграє спазм гладкої мускулатури ШКТ, викликаний запальним процесом слизової оболонки [14].

Вплив Грацеолу на моторику ШКТ визначали за методом [13]. Білих мишей витримували на голодній дієті без обмеження прийому води протягом 24 год. Грацеол та препарат порівняння дослідним тваринам вводили внутрішньошлунково в умовно терапевтичних дозах: Грацеол - в дозі 500 мг/кг, ентеросгель - в дозі 2.1 г/кг, тваринам контрольної групи вводили відповідну їх масі кількість води (1 мл на 100 г). Після цього через 1 год усім тваринам внутрішньошлунково вводили по 0.3 мл контрастної маси (10 % суспензія активованого вугілля в 1 % крохмальному клейстері). Через 40 хв після попередньої наркотизації ефіром мишей виводили з експерименту етаназією. Потім у дослідних і контрольних тварин вимірювали абсолютну довжину кишечника (D_k), у сантиметрах, і шлях, пройдений контрастною масою по кишечнику ($D_{шк}$), у сантиметрах. Інтегральний показ-

ник (D), який характеризує силу перистальтики ШКТ, у процентах, обчислювали за формулою:

$$D = \frac{D_{шк}}{D_k} \cdot 100$$

Усі одержані результати обробляли за спеціальною програмою Statistica 5.0. Вірогідність одержаних результатів при $p \leq 0.05$ оцінювали за критерієм Стьюдента (t) [6].

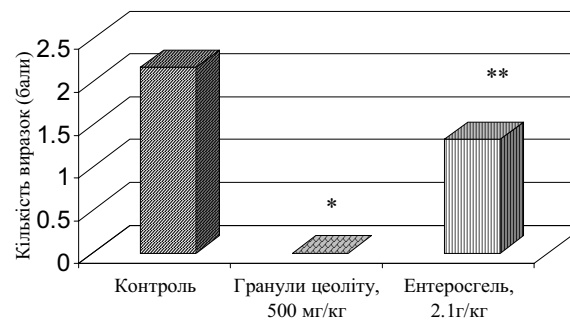
Результати та їх обговорення

Дослідження можливої ульцерогенної дії показали, що в контрольній групі тварин через 48 год голодування і трьох годин експерименту на слизовій оболонці шлунка спостерігалися дрібні виразки та точкові крововиливи. Слизова оболонка зберігала складчатість, не набрякла, без ознак гіперемії.

У щурів, яким був уведений Грацеол, виявлено відсутність виразок СОШ, що не тільки підтверджує відсутність ульцерогенної дії гранул цеоліту, але і вказує на гастропротекторний ефект, виявлений нами раніше [5].

На СОШ щурів, яким був уведений препарат порівняння, спостерігалися виразки, кількість яких вірогідно не відрізняється від нелікованої патології. Таким чином, ентеросгель, на відміну від цеоліту, не виявляє гастропротекторних властивостей (Рис. 1).

Рисунок 1



Вплив Грацеолу на стан слизової оболонки шлунка щурів

* - відхилення вірогідно відносно контролю, $p \leq 0.05$

** - відхилення вірогідно відносно Грацеолу, $p \leq 0.05$

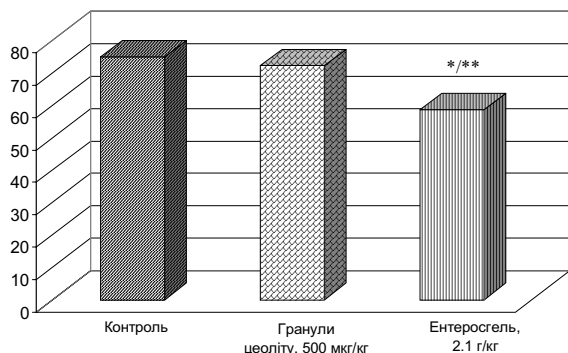
Результати вивчення впливу гранул цеоліту на моторику ШКТ, наведені на Рис. 2. Дослідження показали, що препарат у дозі 500 мг/кг не виявляє достовірного впливу на моторику ШКТ. На відміну від гранул цеоліту, ентеросгель вірогідно пригнічує перистальтику кишечника білих мишей.

Висновки

1. Гранули цеоліту не виявляють ульцерогенних властивостей, а навпаки, зменшують

кількість виразок слизової оболонки шлунка інтактних щурів відносно тварин контрольної групи, що підтверджує гастропротекторні властивості досліджуваного препарату.

Рисунок 2



Вплив Грацеолу на моторику ШКТ білих мишей

* - відхилення вірогідно відносно контролю, $p \leq 0.05$

** - відхилення вірогідно відносно Грацеолу, $p \leq 0.05$

2. Позитивним фармакодинамічним ефектом гранул цеоліту, на відміну від препарату порівняння - ентеросгелю, є відсутність впливу на перистальтику ШКТ.

3. Одержані результати дозволяють рекомендувати гранули цеоліту "Грацеол" для подальшого вивчення з метою використання препарату як ентеросорбенту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева А.И., Шарова С.А. Определение влияния веществ на секрецию соляной кислоты в желудке // Физиология и токсикология. - 1978. - № 4. - С. 428-432.
2. Бондарев С.В. Экспериментальное вивчення ентеросорбенту гранул цеоліту при гострому панкреатиті у щурів // Вісник фармації. - 2001. - № 3 (27). - С. 148.
3. Бондарев Е.В. Экспериментальное обоснование энтеросорбции гранулами цеолита при остром перитоните // Новое в клинической фармакологии и фармакотерапии заболеваний внутренних органов: Тез. докл. III Республиканской науч.-практ. конф. - Харьков, 2000. - С. 233-234.
4. Бондарев С.В. Гепатопротекторна дія субстанції цеоліту на моделі токсичного ураження печінки щурів тетрааорметаном // Фармакологія 2001 - крок у майбутнє: Тез. доп. II нац. з'їзду фармакологів України. - Дніпропетровськ, 2001. - С. 31.
5. Бондарев С.В., Рибачук Д.В. Экспериментальне дослідження можливості використання нового ентеросорбенту цеоліту при лікуванні виразкової хвороби шлунка // Фармаком. - 2002. - № 3. - С. 168-170.
6. Иванов Ю.И., Погорелок Р.Н. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам. -М.: Медицина, 1990. - 224 с.
7. Карбушева И.В., Гладух Е.В. Изучение влияния препаратов для лечения язвенных колитов альтана и салазопиридозина на функциональную активность желудочно-кишечного тракта // Клинічна фармація. - 2002. - Т.6, № 2. - 69 с.
8. Крутських Т.В. Розробка складу та технології противиразкового препарату у вигляді гранул на основі природного цеоліту: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. - Харків, 1999. - 18 с.

9. Ліщенко Н.О. Клініко-патогенетичне обґрунтування застосування ентеросорбції в лікуванні хронічного пієлонефриту з супутньою патологією гепатобіліарної системи у дітей: Дис. ... канд. мед. наук. - К., 1995. - 173 с.

10. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Доклады АН СССР. - 1979. - Т. 247, № 6. - С. 1513-1516.

11. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. - М.: АстраФармСервис, 1995. - 1168 с.

12. Чуешов В.И., Рибачук Д.В., Лонін О.Ю., Третинник В.Ю., Крутських Т.В. Цеоліти, їх класифікація, фізико-хімічні та медико-біологічні властивості // Вісник фармації. - № 1-2. -1996. - С. 82-86.

13. Яковлева Л.В., Оболенцева Г.В., Брюзгінова Л.П. Экспериментальне вивчення нових противиразкових препаратів. Метод. рекомендації / За ред. Стефанова О.В. - К.: Видавничий дім "Авіцена", 2001. - С. 321-333.

14. Paroi D.S., Tremaine W.I. Inflammatory Bowel Disease: Key to Diagnosis and Treatment. - Consultant. - 1998. - № 46. - P. 87-98.

Резюме

Яковлева Л.В., Бондарев Е.В.

Исследование влияния гранул цеолита "Грацеол" на функциональную активность желудочно-кишечного тракта

Изучено влияние нового отечественного энтеросорбента - гранул цеолита "Грацеол" на функциональную активность ЖКТ: исследовано возможное ulcerогенное действие препарата и его влияние на моторику ЖКТ. При изучении возможных ulcerогенных свойств гранул цеолита установлено отсутствие язв слизистой оболочки желудка экспериментальных животных, что подтверждает гастропротекторный эффект препарата. Кроме этого, гранулы цеолита, в отличие от энтеросгеля, не влияют на моторику ЖКТ. Полученные результаты позволяют рекомендовать Грацеол для лечения язвенных поражений ЖКТ.

Summary

L.V.Yakovleva, E.V.Bondarev

Research of influence of granules of ceolite «Graceol» on functional activity of the gastroenteric path

An influence of new domestic enterosorbent - granules of zeolite «Graceol» on functional activity of a gastroenteric path is investigated: possible ulcerogenic action and impellent activity of intestines was studied. Researching possible ulcerogenic properties of «Graceol» an absence of ulcers of a mucous membrane of a stomach, that confirm them gastroprotected effect is established. Except for it, «Graceol» as against enterosgel does not change impellent activity of a gastroenteric path. Studing results allow to recommend «Graceol» for treatment of ulcer defeats of intestines.

Яковлева Лариса Василівна. Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1978). Зав. Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету (ЦНДЛ НФаУ) (із 1989). Д.фарм.н. Професор (1992).

Бондарев Євген Вікторович. Закінчив Українську фармацевтичну академію та Харківський державний університет ім. Каразіна (1999). Молодший науковий співробітник ЦНДЛ НФаУ. Аспірант ЦНДЛ НФаУ (2001).

Техніко-економічні та маркетингові дослідження

УДК 338.5:615.2/3

Пивень Е.П.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Основные направления совершенствования системы ценообразования на лекарственные средства и изделия медицинского назначения в Украине

Разработана концепция формирования системы ценообразования на лекарственные средства и изделия медицинского назначения (ЛС и ИМН) в Украине. Сформулирован принцип определения ЛС и ИМН, цены на которые должны регулироваться со стороны государства. Определены основные этапы реализации концепции ценообразования. Предложены основные методы регулирования цен на лекарственные средства и изделия медицинского назначения.

Фармацевтический рынок является одним из наиболее сложных с точки зрения происхождения на нём ценовых процессов. Цены на лекарственные средства (ЛС) формируются не только под влиянием производственных и рыночных условий. Активную роль в процессе их образования играют государственные органы, которые практически во всех странах мира оказывают воздействие на ценовые уровни и пропорции этой продукции.

Это объясняется особенностями, присущими фармацевтическому рынку. Основные из них [1]:

- решение о приобретении ЛС обычно зависит не от самого потребителя, а от лечащего врача, который зачастую не учитывает цену препарата;

- существенная часть расходов на ЛС оплачивается за счёт государственных средств. Их рациональное использование диктует необходимость как обеспечения адекватного потребления ЛС, так и сдерживания роста цен на них.

Степень такого влияния со стороны государства в различных странах неодинакова. Однако, в основном, государственное регулирование цен распространяется на лекарственные средства, подлежащие возмещению стоимости (рецептурные препараты). На ЛС, не подлежащие возмещению, распространяется свободное ценообразование [2,3].

В таких странах как Франция, Италия, Греция и др. страны ЕС, Канада, Австралия, Китай, Индия, Бельгия, Япония цены, преимущественно, строго регламентируются и контролируются государством. Т. е. государство может участвовать в установлении и согласовании величины цен на лекарственные средства.

В таких странах как США, Германия, Великобритания, Дания действует преимущественно свободное ценообразование, в результате цены на лекарственные препараты формируются, в значительной, степени под влиянием соотношения между спросом и предложением. Государственные органы этих стран влияют на цены косвенно: путём контроля уровня доходов производителей лекарств; установления эталонных (референтных) цен и др.

В большинстве стран мира, в основном, применяется смешанная система: сочетание регулируемых государством и свободно назначаемых цен [4].

Среди методов регулирования цен на ЛС наибольшее распространение получили: регистрация цен и эталонное (референтное) ценообразование (Таблица).

В последние годы во многих странах мира значительное развитие получила фармакоэкономика, предлагающая новейшие разработки в стратегии сдерживания расходов здравоохранения. Результаты фармакоэкономического анализа широко используются не только для обоснования включения препаратов в перечни возмещения их стоимости, но и в качестве основного инструмента контроля цен на лекарственные средства и сдерживания общих расходов на их приобретение. Наряду с этим при формировании цен также учитывают основные потребительские свойства фармацевтической продукции: терапевтическую эффективность, безопасность, надёжность (срок годности) и др. Учёт в цене потребительской стоимости препарата позволяет устанавливать обоснованные ценовые пропорции между ЛС одинаковой направленности терапевтического действия [4-6].

Таблица
Ценообразование на лекарственные средства в мире

Регион	Страна	Порядок формирования цен	Методы регулирования цен
Страны Восточной и Центральной Европы	Чешская республика	государственное регулирование	регистрация цен, эталонные цены
	Словакия	государственное регулирование	регистрация цен, эталонные цены
	Словения	государственное регулирование	установление цен
	Венгрия	свободное ценообразование + государственное регулирование	регистрация цен, эталонные цены
	Польша	свободное ценообразование + государственное регулирование	регистрация цен, эталонные цены; фиксирование торговой надбавки
	Румыния	свободное ценообразование + государственное регулирование	декларация цен отечественных препаратов, эталонные цены; фиксирование торговой надбавки.
	Россия	свободное ценообразование + государственное регулирование	регистрация жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств (ЖНВЛС); фиксирование торговой надбавки на ЖНВЛС
Страны ЕЭС	Франция	свободное ценообразование + государственное регулирование	регистрация цен
	Германия	свободное ценообразование + государственное регулирование	косвенное регулирование, эталонные цены
	Испания	государственное регулирование	регистрация цен, эталонные цены
	Великобритания	свободное ценообразование + косвенное регулирование	контроль и согласование дохода фирмы
	Швеция	свободное ценообразование + косвенное регулирование	регистрация цен, эталонные цены; ограничение на повышение цен.
	Бельгия	государственное регулирование	регистрация цен
Страны Северной Америки	США	свободное ценообразование + государственное регулирование Федеральных программ	система возвратов переплат, ценовые скидки
	Канада	свободное ценообразование + государственное регулирование	контроль максимальных цен патентованных ЛС на федеральном уровне
Страны Азиатско-Тихоокеанско-го региона	Китай	государственное регулирование + свободное ценообразование	контроль розничных цен; дифференцированное регулирование инновационных ЛС, препаратов-дженериков
	Япония	государственное регулирование + свободное ценообразование	регистрация цен (стандартных) ежегодная; снижение цен
Страны Юго-Азиатского региона	Индия	государственное регулирование + свободное ценообразование	регистрация оптовых и розничных цен; жёсткая регламентация

Изложенные подходы и методы ценообразования на ЛС, принятые в мире, представляют существенный интерес при выработке подходов и критериев к совершенствованию системы ценообразования в Украине.

Когда разрабатывается система ценообразования, прежде всего определяются цели и

задачи, которые предстоит реализовать. Другими словами, решается вопрос, чьи интересы система цен должна защищать. При свободном ценообразовании в большей степени защищаются интересы производителя, когда за счёт быстрого роста доходов создаются условия для благоприятного развития произ-

водства, разработки и внедрения новых видов продукции. Такая система ценообразования оправдана в условиях относительно устойчивого экономического развития страны. В условиях же быстрого роста инфляции и низкой покупательной способности населения остро возникает проблема доступности потребителя к социально значимой продукции, которой являются медикаменты. Последнее обстоятельство вызывает необходимость применения механизма регулирования цен. Регулируемая со стороны государства система ценообразования призвана обеспечивать социальную защиту потребителя и устанавливать заданные ценовые соотношения между товарными группами. В условиях регулируемых цен темпы развития производства и обновления ассортимента выпускаемой продукции, особенно принципиально новой, как правило, замедляются. Смешанная система ценообразования предполагает применение свободных и регулируемых цен. Такая система позволяет в определённой мере защитить интересы потребителя и, в то же время, способствует развитию производства. В силу того, что смешанная система ценообразования даёт возможность учесть интересы обеих сторон (производителя и потребителя), это уменьшает противоречия между ними, в результате чего обеспечивается относительная её устойчивость к экономическим изменениям в стране [4].

С целью социальной защиты населения, экономии бюджетных средств и обеспечения нормальных условий для развития национальной фармацевтической промышленности в рамках подготовки ко внедрению обязательного медицинского страхования разработана концепция формирования системы ценообразования на лекарственные средства и изделия медицинского назначения (ЛС и ИМН), основанная на применении системы смешанного типа (регулируемые и свободно назначаемые цены).

Данная концепция системы ценообразования заключается в том, что цены на ЛС и ИМН, стоимость которых подлежит возмещению за счёт средств государственного, местного бюджетов и/или фондов медицинского страхования (в зависимости от принятой системы возмещения), должны регулироваться со стороны государства. Это, как правило, рецептурные препараты, которые включаются в стандарты лечения или Национальный перечень основных (жизненно не-

обходимых) ЛС и ИМН. На препараты, стоимость которых не подлежит возмещению за счёт средств бюджета и/или фондов медицинского страхования, должно распространяться свободное ценообразование.

Такая система, при прочих равных условиях (результатах клинической и фармакоэкономической эффективности), не может функционировать без применения рациональной политики протекционизма с целью поддержки развития национальной промышленности, как это практикуется в странах Центральной и Восточной Европы (Венгрия, Чехия, Словакия, Польша и др.) [3].

Учитывая, что Украина ещё не перешла на систему обязательного медицинского страхования, а работа над стандартами лечения ещё продолжается, концепция системы ценообразования на ЛС и ИМН предусматривает два этапа.

На 1-м этапе государственное регулирование цен должно распространяться на лекарственные средства, входящие в Национальный перечень основных (жизненно необходимых) лекарственных средств и изделий медицинского назначения (ОЖНЛС и ИМН). На остальную медицинскую продукцию должно сохраняться свободное ценообразование.

На данном этапе внедрения смешанной системы ценообразования необходимо:

- урегулировать вопрос относительно одновременного существования Национального перечня и Перечня отечественных и импортных ЛС и ИМН, цены на которые подлежат государственному регулированию;
- отработать систему регулирования цен на ЛС и ИМН;
- определить обоснованные уровни торговых надбавок на ЛС и ИМН;
- ввести в действие систему регистрации цен на ЛС и ИМН;
- отработать проведение экспертизы и мониторинга цен на ЛС и ИМН.

В условиях, которые сложились в Украине, а также с учетом мирового опыта, регулирование оптовых цен производителей должно проводиться на основе государственной регистрации цен - ограничения их максимального уровня.

Основной задачей системы регистрации цен на ЛС и ИМН является установление обоснованных минимальных цен, действующих в Украине и странах с наиболее низким уровнем цен. Регистрация цен предполагает про-

ведение их экспертизы в соответствии с установленными критериями и категориями ЛС и ИМН.

В соответствии с разработанной нами методической базой проведения регистрации цен в основу проведения экспертизы цен на ЛС и ИМН положены следующие критерии:

- анализ цен на ЛС и ИМН на украинском рынке и рынке зарубежных стран;
- анализ динамики цен на ЛС и ИМН и уровня инфляции в Украине;
- анализ состава и структуры цены ЛС и ИМН;
- учёт в цене объёмов продаж ЛС и ИМН на украинском рынке;
- оценка уровня цены лекарственного препарата с учётом потребительской стоимости и фармакоэкономического анализа (социальная перспектива цены).

Регулирование действующих (текущих) на рынке цен в условиях проведения государственной регистрации их максимального уровня предлагается осуществлять дифференцированно, в зависимости от того, являются ли закупки ЛС и ИМН государственными или негосударственными, а препараты отечественными или импортными.

При государственной закупке отечественных препаратов реализацию предложенного механизма целесообразно осуществлять через систему Государственного заказа, что позволит в процессе формирования контракта обеим сторонам (государственному заказчику и производителю) прийти к наиболее приемлемому варианту цен под заказываемые объёмы поставок, но не выше цен, зарегистрированных в Украине.

При государственной закупке импортных ЛС и ИМН, выпускаемых двумя и более зарубежными производителями, уровень цен регулируется на основании проведения тендеров, но не выше цен, зарегистрированных в Украине.

Регулирование цен на усовершенствованные и принципиально новые патентованные ЛС отечественного и импортного производства, закупаемые на средства государства, должно осуществляться с учётом объёмов закупок, терапевтической и фармакоэкономической эффективности. При установлении для этих препаратов обоснованного уровня регистрируемых цен учитываются цены международной торговли, в том числе на патентованные препараты аналогичного действия на рынках Украины, стран с наиболее близ-

ким к Украине уровнем экономического развития (страны Центральной и Восточной Европы, ряд стран Азии) и европейских стран с наиболее низким уровнем цен (Франции, Италии, Греции, Испании и др.).

При закупке ЛС и ИМН на негосударственные средства цены на отечественную продукцию устанавливаются на базе цен Государственного заказа, с добавлением фиксированной надбавки. Соответственно цены на импортные ЛС и ИМН, выпускаемые двумя и более зарубежными производителями, устанавливаются на базе цен тендеров с добавлением фиксированной надбавки. Эти цены не должны превышать уровня зарегистрированных в Украине цен на соответствующую продукцию.

Для химико-фармацевтических предприятий, выпускающих основные жизненно необходимые ЛС и ИМН, должна быть предусмотрена льгота по освобождению от уплаты налога на прибыль.

С целью стимулирования разработки и организации производства принципиально новых лекарственных средств льгота по отмене налога на прибыль и отмене НДС на разработку должна распространяться на разработчика на весь период разработки препарата и на производителя данного препарата с ограничением по сроку (например, на 5 лет).

На 2-м этапе, в условиях действия страховой медицины, для обеспечения экономической доступности эффективных лекарственных средств широким слоям населения при создании условий развития отечественного производства наряду с действующей системой регистрации цен на ЛС и ИМН, подлежащие возмещению, предлагается ввести косвенное регулирование цен путём создания системы эталонных (референтных) цен, регламентирующих возмещение. При такой системе производитель теоретически может назначить высокую цену в пределах зарегистрированной, а потребитель её уплатить. Однако, на практике в странах, где действует такая система цен (Германия, Нидерланды, Дания, Новая Зеландия и др.) [2], производители обычно снижают свои цены до эталонной, чтобы освободить потребителя от доплаты разницы стоимости за препарат, если его цена будет превышать эталонную, и тем самым повысить объёмы потребления (спроса). Таким образом эталонная цена становится пределом.

Для успешной реализации концепции системы ценообразования на лекарственные средства и изделия медицинского назначения в Украине необходимо создание целостной системы ценообразования, предполагающей усовершенствование следующих составляющих её элементов (подсистем) во всём многообразии условий и факторов, влияющих на них: нормативно-правовой подсистемы, информационно-справочной, организационно-контрольной, подсистемы цен и разработку подсистемы фармакоэкономического анализа [7].

Разработанная концепция системы ценообразования используется при формировании ценовой политики на лекарственные средства и изделия медицинского назначения в Украине.

Выводы

1. Учитывая мировой опыт построения систем ценообразования на лекарственные средства и изделия медицинского назначения и условия, которые сложились в Украине, разработана концепция системы ценообразования смешанного типа (сочетание регулируемых государством и свободно назначаемых цен).

2. В основу концепции положен тот принцип, что цены на ЛС и ИМН, стоимость которых подлежит возмещению со стороны бюджетных средств и фондов медицинского страхования, должны регулироваться государством. На ЛС и ИМН, не подлежащие возмещению, должно распространяться свободное ценообразование.

3. Реализация концепции ценообразования на ЛС и ИМН предполагает два этапа: в условиях отсутствия обязательной системы медицинского страхования и в условиях функционирования данной системы. На 1-м этапе регулирование цен должно распространяться на ЛС и ИМН, входящие в Национальный перечень основных (жизненно необходимых) ЛС и ИМН. На 2-м этапе регулирование цен должно распространяться на перечень ЛС, подлежащих возмещению.

4. Основными методами регулирования цен на ЛС и ИМН в рамках предложенной концепции являются: государственная регистрация цен на основе проведения их экспертизы; использование государственного заказа и тендеров в качестве регуляторов цен; эталонное (референтное) ценообразование.

5. Система государственного регулирования цен на ЛС и ИМН должна функциониро-

вать в условиях применения рациональной политики протекционизма и системы экономических льгот для поддержки развития национальной промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. О соответствии мер, принимаемых государствами ЕС по контролю цен и возмещению расходов на лекарственные препараты, статье 30 договора о ЕЭС (сообщение Комиссии ЕС 86/С310/08) // Лицензирование в Европейском Союзе: фармацевтический сектор / Редакторы-составители В.А. Усенко, А.А. Спасокукоцкий. - К.:МОРИОН Лтд, 1998. - С. 310-318.
2. Пивень О.П. Дослідження основних підходів, використаних у світовій практиці до формування систем ціноутворення на лікарські засоби // Фармац. журн. - 2002. - № 4. - С. 16-24.
3. Пивень О.П., Нестеренко Л.Л. Ціноутворення на готові лікарські засоби в країнах Центральної та Східної Європи // Фармац. журн. - 2002. - № 3. - С. 19-27.
4. Пивень Е.П. Основные этапы формирования системы ценообразования в Украине на готовые лекарственные средства промышленного производства и разработка методических принципов её совершенствования // Технология и стандартизация лекарств. Сборник науч. тр. - Т. 2. - Харьков: ИГ «РИРЕГ», 2000. - С. 697-713.
5. Пивень О.П. Зарубіжний досвід застосування фармакоекономічного аналізу при встановленні цін на лікарські засоби // Фармац. журн. - 2002. - № 6. - С. 3-7.
6. Пивень Е.П., Семидоцкая Ж.Д. Методические подходы использования фармакоэкономики при установлении цен на лекарственные средства // Тез. докл. IX Российского национального конгресса «Человек и лекарство». - М.: ООФ «Здоровье человека», 2002. - С. 766.
7. Пивень О.П. Формування структури системи ціноутворення на лікарські засоби і виробу медичного призначення // Фармац. журн. - 2003. - № 1. - С. 12-17.

Резюме

Пивень О.П.

Основні напрямки удосконалення системи ціноутворення на лікарські засоби та виробу медичного призначення в Україні

Розроблена концепція формування системи ціноутворення на лікарські засоби та виробу медичного призначення (ЛЗ та ВМП) в Україні. Сформульован принцип визначення ЛЗ та ВМП, ціни на які мають регулюватися з боку держави. Визначені основні етапи реалізації концепції ціноутворення. Запропоновані основні методи регулювання цін на ЛЗ та ВМП в Україні.

Summary

Piven. E.P.

Main tendencies of drugs and medical goods pricing system perfection in Ukraine

A conception of drugs and medicinal goods pricing system formation in Ukraine was developed. A principle of determination of drugs and medicinal goods, pricing on which are to be regulated by the State, was formulated. The main steps of pricing conception realization were determined. The main methods of prices for drugs and medicinal goods regulation were proposed.

Пивень Елена Петровна. Окончила Харьковский инженерно-экономический институт (1977). Работает в ГП ГНЦЛС. Зав. лаб. маркетинговых и технико-экономических исследований (1999). К.фарм.н. (1988).

Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 65:661.12

Посилкіна О.В., Сагайдак Р.В., Жуковіна О.В.
Національний фармацевтичний університет

Напрямки удосконалення регіональної збутової політики вітчизняних фармвиробників

Проаналізовано збутову політику фармацевтичних підприємств. Запропоновано алгоритм удосконалення регіональної збутової політики. Доведена доцільність використання ситуаційного методу. Проранжировані фактори, що характеризують привабливість регіональних ринків. Побудовано дерево класифікацій ситуацій у регіонах.

Важливою умовою підвищення ефективності діяльності фармацевтичних підприємств у сучасних умовах є оптимізація їх регіональної збутової політики. На даний час існує значне дублювання асортименту готових лікарських засобів (ГЛЗ), які випускаються вітчизняними фармацевтичними підприємствами (ФП) та постачаються фірмами-імпортерами на вітчизняний фармацевтичний ринок. У багатьох випадках йдеться про виробництво вітчизняними фармвиробниками абсолютних аналогів (тобто препаратів із однаковою назвою та дозуванням). Так, наприклад, із усіх препаратів, що виробляються на ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я", 48 препаратів реалізуються найкраще, але по 26 із них вітчизняні конкуренти виробляють абсолютні аналоги.

Крім дублювання лікарських засобів на ефективність збутової діяльності фармвиробників впливає рівень концентрації фірм або їх представників, які діють у певному регіоні.

Із метою удосконалення регіональної збутової політики вітчизняних ФП авторами запропонований алгоритм, який включає такі етапи:

- розрахунок потреби у ГЛЗ певної фармакологічної групи для кожного регіону;
- визначення регіональних ринків, де бажаний торговельний представник;
- визначення бажаної кількості торговельних представників у кожному регіоні;
- пошук партнерів, яким можна запропонувати представницькі функції;
- формування пакета вигід і зобов'язань для партнерів;
- проведення переговорів із торговельними фірмами і видання представницьких ліцензій.

Для визначення пріоритетних регіональних ринків доцільно використовувати ситуаційний метод управління збутовою діяльнос-

тю ФП у регіональному аспекті. Суть цього методу полягає в описі вихідних ситуацій за допомогою понять і відносин, які відповідають об'єктам і зв'язкам між ними, та у виборі з розглянутих програмою ситуацій-рішень оптимальних на підставі віднесення конкретних вихідних ситуацій до певного класу.

У формалізованому вигляді ситуацію, що характеризує стан збутової діяльності ФП на регіональних фармацевтичних ринках (C_c), можна представити так:

$$C_c = \{H_c, Y_n, K_c, E\},$$

де H_c – сукупність початкових станів, тобто вихідна ситуація, що являє собою сукупність параметрів, які дозволяють оцінити привабливість регіональних фармацевтичних ринків збуту для певного ФП. Усю сукупність параметрів можна поділити на три групи: економічні показники (загальний товарообіг у даному регіоні; кількість фармацевтичних фірм, які реалізують ЛЗ певного ФП у даному регіоні; кількість найменувань препаратів певного ФП, які постачаються в регіон; обсяг відвантаження ГЛЗ певного ФП у даний регіон); медико-фармацевтичні показники (кількість аптек у регіоні; кількість лікарів усіх спеціальностей у регіоні; кількість лікарняних ліжок у регіоні; кількість амбулаторно-поліклінічних установ у регіоні); соціально-демографічні показники (кількість населення; рівень урбанізації; середньомісячна заробітна плата; захворюваність по різних нозологіях);

Y_n – сукупність процесів, які адекватно описують поведінку системи і дозволяють формувати збутову політику ФП у розрізі окремих регіонів. Розробка збутової політики здійснюється за такими напрямками: визначення стратегії збуту і політики організації каналів збуту; вибір систем і методів збуту і відповідних типів каналів; створення мережі оптових і роздрібних торговельних точок;

організація транспортування; забезпечення ефективності збуту і т.п.;

K_c – сукупність кінцевих результатів;

E – сукупність відносин емерджентності, кожний елемент якої цілісно відбиває функціонування системи, тобто вказує на той чи інший тип залежності між H_c , Y_n , K_c .

Рівняння $C_c = \{c_p\}$ описує сукупність усіх ситуацій (c_p), що можуть виникнути у процесі функціонування системи. Це сукупність ситуацій на всіх регіональних фармацевтичних ринках України, які має аналізувати кожне ФП у процесі формування власної регіональної стратегії збуту.

Для кожної ситуації c_p , що описує потенційні збутові можливості окремого регіону України, існують критерії, на підставі яких приймається рішення з регулювання збутової політики певного ФП. Ця процедура здійснюється за допомогою побудови дерев класифікації. Завдання класифікації полягає у розбивці сукупності C_c на класи $B = \{b_k\}$ так, щоб сукупність засобів прийняття рішень, яка відповідає k -ому класу, описувалася би узагальнено, і в результаті можна було би приймати рішення для усіх ситуацій k -ого класу. Тоді процес прийняття рішень буде полягати у пошуку для n -ої ситуації відповідного їй узагальненого опису засобів прийняття рішень і у визначенні алгоритму управління на основі знайденого узагальненого опису.

Для ФП авторами було виділено три класи ситуацій, що описують стан регіональних фармацевтичних ринків:

b_1 – клас дуже сприятливих для збуту певних ЛЗ ситуацій;

b_2 – клас сприятливих для збуту певних ЛЗ ситуацій;

b_3 – клас несприятливих для збуту певних ЛЗ ситуацій.

Кожному класові ситуацій відповідає визначений спосіб впливу на об'єкт управління, що називається однокроковим рішенням (u_k):

u_1 - якщо в регіоні склалася дуже сприятлива для збуту певних ЛЗ ситуація. За цих умов ФП необхідно збільшити обсяги поставок ЛЗ у даний регіон, а також збільшити число оптових і роздрібних покупців за допомогою залучення їх різними способами (реклама, система знижок та ін.);

u_2 – сприятлива ситуація, що передбачає успішне функціонування ФП на регіональному ринку. У цьому разі підприємству необхід-

но зберегти існуючі обсяги збуту ЛЗ на цьому ринку;

u_3 – несприятлива для ФП ситуація на певному регіональному ринку, за якої підприємству необхідно скорочувати обсяги поставок ЛЗ у даний регіон, а також здійснювати пошук інших, більш сприятливих для збуту регіонів.

Таким чином, за допомогою чіткої класифікації регіонів за рівнем їх збутової привабливості для кожного підприємства приймаються обґрунтовані управлінські рішення щодо збільшення обсягів поставок ЛЗ, які виробляються ФП, у найбільш сприятливі регіони та зменшення обсягів поставок у несприятливі.

Розрахунки здійснювалися за допомогою пакета програм "Statistica". Спочатку на підставі вихідних даних створювався граф. У заголовку графа наведена загальна інформація, відповідно до якої отримане дерево класифікацій має галуження і термінальні вершини. Термінальні вершини (або, як їх іноді називають, листя) - це вузли дерева, починаючи з яких ніякі рішення більше не приймаються. На графі термінальні вершини позначані пунктирними лініями, а інші, так звані розв'язувальні вершини або вершини галуження, - суцільними чорними лініями. Початком дерева вважається сама верхня розв'язувальна вершина, яку також називають коренем дерева. На графі вона розташована у лівому верхньому куті і позначена цифрою 1. У правому верхньому куті термінальних вершин або вершин галуження позначені класи ситуацій:

- цифра 1 і ознака – клас дуже сприятливих ситуацій;

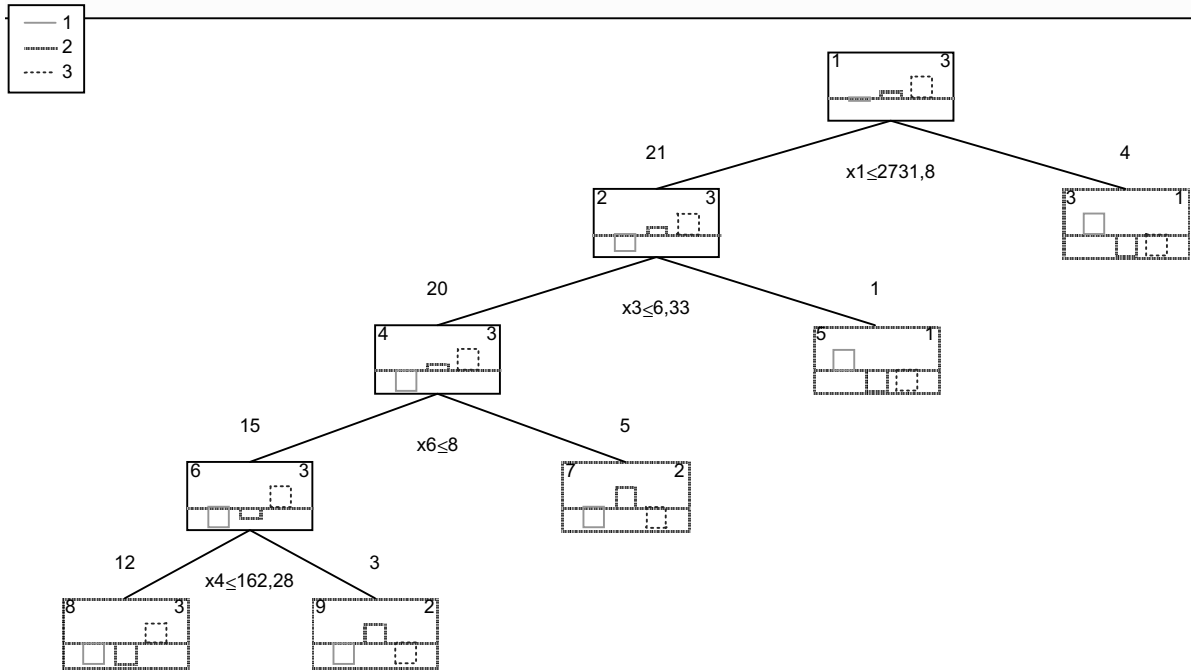
- цифра 2 і ознака – клас сприятливих ситуацій;

- цифра 3 і ознака – клас несприятливих ситуацій.

Над термінальними вершинами або вершинами галуження показана кількість регіонів, які відносяться до того чи іншого класу ситуацій.

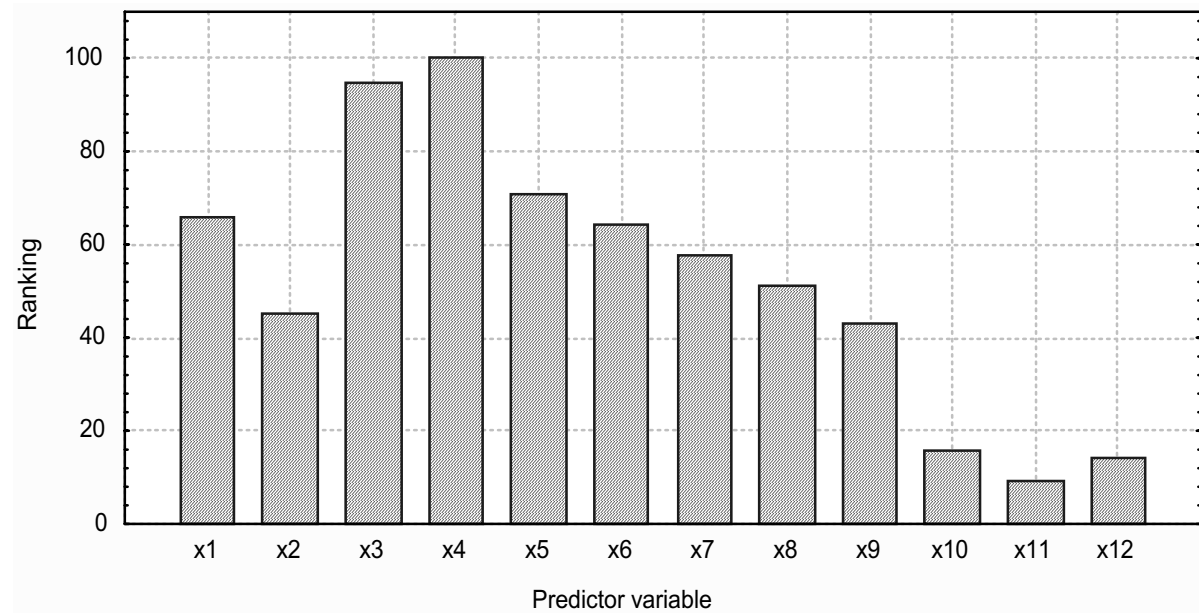
На першому етапі розрахунків усі 25 ситуацій у регіонах описуються до кореневої вершини і попередньо класифікуються як несприятливі. Клас n був обраний для початкової класифікації тому, що число несприятливих ситуацій набагато більше, ніж сприятливих і дуже сприятливих. Подібне дерево класифікацій, побудоване на прикладі ТОВ

Рисунок 1



Дерево класифікації ситуацій у регіонах України для ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я"

Рисунок 2



Ранжирування факторів, які характеризують привабливість регіональних ринків для ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я"

"Фармацевтична компанія "Здоров'я", наведена на Рис. 1.

Усі фактори, що характеризують привабливість регіональних ринків із точки зору ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я", були проранжировані (Рис. 2). Ранжируван-

ня факторів здійснюється програмою автоматично.

Найбільшу значущість, із точки зору оцінки сприятливості регіонів, мають такі фактори:

- x₁ - кількість населення;
- x₃ - рівень урбанізації;

x_4 - середньомісячна заробітна плата;
 x_7 - кількість фармацевтичних фірм, які реалізують ЛЗ певного ФП у даному регіоні.

Найменшу значущість для оцінки збутової привабливості регіонів для ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я" відіграють такі фактори:

- x_2 - захворюваність по різних нозологіях;
- x_5 - кількість аптек у регіоні;
- x_6 - загальний товарообіг у даному регіоні;
- x_8 - кількість назв препаратів певного ФП, які постачаються у регіон;
- x_9 - обсяг відвантаження ГЛЗ певного ФП в даний регіон;
- x_{10} - кількість лікарів усіх спеціальностей у регіоні;
- x_{11} - кількість лікарняних ліжок у регіоні;
- x_{12} - кількість амбулаторно-поліклінічних установ у регіоні.

На підставі попередньо проведених розрахунків для даного підприємства як дуже сприятливі виділені регіони, де кількість населення перевищує 2732 тис. осіб. Це Дніпропетровський, Донецький, Київський та Харківський регіони.

Наступним кроком побудови дерева класифікації є аналіз коефіцієнта урбанізації. Визначено, що для даного підприємства регіон відноситься до класу дуже сприятливих, коли коефіцієнт урбанізації перевищує 6.33 (наприклад, Луганський регіон).

Щодо кількості фірм, які постачають ЛЗ даного ФП у регіон, вважається досить перспективним, якщо їх кількість перевищує 8. До таких регіонів відносяться Вінницька, Кіровоградська, Полтавська, Черкаська області та Автономна Республіка Крим.

За показником середньої заробітної плати, із точки зору ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я", регіон слід відносити до класу сприятливих за умови, що вона перевищує 162.28 грн. Це Запорізька, Миколаївська й Одеська області.

Такі регіони як Волинська, Житомирська, Закарпатська, Івано-Франківська, Львівська, Рівненська, Сумська, Херсонська, Хмельницька, Тернопільська, Чернігівська та Чернівецька області, із точки зору найбільш вагомих для ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я" характеристик регіональних ринків, відносяться до класу несприятливих. Ці висновки слід обов'язково враховувати відділу збуту підприємства у процесі розробки і реалізації регіональної збутової політики.

Таким чином, використання теорії графів у процесі моделювання регіональної збутової політики фармвиробників дає змогу впровадити багатокритеріальний, актуальний ситуаційний підхід до оцінки управлінських рішень, що значно підвищить її обґрунтованість.

ЛІТЕРАТУРА

1. Айвазян С.А., Бежаева З.И., Староверов О.В. Классификация многомерных наблюдений. — М.: Финансы и статистика, 1974. — 240 с.
2. Балабанич А.В. Стратегическое управление сбытовой деятельностью предприятий в условиях маркетинговой ориентации / Донец. гос. ун — т экономики и торговли. — Донецк: ОАО «Донецкий Торговый дом «Донбасс», 2000. — 41 с.
3. Болт Дж. Практическое руководство по управлению сбытом / Пер. с англ. — М.: МТ — Пресс, 2001. — 268 с.
4. Боровиков В.П. Популярное введение в программу STATISTICA. — М.: Компьютер Пресс, 1998. — 267 с.
5. Енюков И.С. Методы, алгоритмы, программы многомерного статистического анализа. — М.: Финансы и статистика, 1986. — 232 с.
6. Коршунов В.И. Механизм маркетинговых исследований рынка. — Х.: Основа, 2000. — 352 с.
7. Месарович М., Мако Д., Такахара И. Теория иерархических многоуровневых систем / Пер. с англ. под ред. И.Ф. Шахнова. — М.: Мир, 1973. — 344 с.
8. Методы классификации и оптимизации в прикладных задачах: Сб. науч. трудов. — Свердловск: УрО АН СССР, 1988. — 104 с.
9. Попов В.М. и др. Ситуационный анализ бизнеса и практика принятия решений: Учеб. пособие. — М.: КноРус, 2001. — 384 с.
10. Распознавание. Классификация. Прогноз. Математические методы и их применение. Вып. 2. — М.: «Наука», 1989. — 302 с.
11. Распознавание. Классификация. Прогноз. Математические методы и их применение. Вып. 3. — М.: «Наука», 1992. — 313 с.

Резюме

Посылкина О.В., Сагайдак Р.В., Жуковина О.В.

Пути совершенствования региональной сбытовой политики отечественных фармацевтических предприятий

Проведен анализ сбытовой политики фармацевтических предприятий. Предложен алгоритм совершенствования региональной сбытовой политики. Доказана целесообразность использования ситуационного метода. Проранжированы факторы, характеризующие привлекательность региональных рынков. Построено дерево классификаций ситуаций в регионах.

Summary

Posilkina O.V., Sagaidak R.V., Jukovina O.V.

Trends of regional domestic manufacturers marketing policy improving

The analysis of marketing policy of pharmaceutical enterprises is carried out. The algorithm of regional marketing policy improving is offered. The expediency of situation method using is proved. The factors characterizing the regional markets attraction are ranked. The tree of classification of situation in regions was constructed.

Посилкіна Ольга Вікторівна. Закінчила Харківський інженерно-економічний інститут (1978). К.е.н. (1983). Доцент (1989). Зав. кафедрою економіки підприємства (ЕП) Національного фармацевтичного університету (НФаУ).

Сагайгак Рита Василівна. Закінчила Українську фармацевтичну академію (1997). Викладач кафедри ЕП НФаУ.

Жуковина Ольга Вікторівна. Закінчила Харківський державний університет. Канд. фарм. наук. Доцент кафедри ЕП НФаУ (1996).

Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 615.451:616.28-08](477)

Андрюкова Л.Н., Сиденко Л.Н., Фетисова Е.Г., Кузнецова К.Н.

Государственное предприятие "Государственный научный центр лекарственных средств"

Препараты для лечения ушных патологий - актуальное направление создания лекарственных форм в Украине

В статье представлена классификация ушных лекарственных средств и требования к ним согласно Государственной Фармакопее Украины. Проведен обзор препаратов для лечения ушных патологий. Показаны ограниченность номенклатуры отечественных препаратов данного направления, перспективность их создания и производства на предприятиях Украины.

Анализируя данные терапии заболеваний уха, следует отметить, что патология этих заболеваний, как правило, проявляется не одним фактором, а совокупностью одновременно протекающих процессов. Используется большое количество препаратов экстремальной рецептуры, которые, в свою очередь, имеют небольшой спектр терапевтического действия, а клинические условия требуют применения комплексной терапии [23, 7]. Поэтому лечение заболеваний уха должно быть комплексным, и необходимы не только монопрепараты, но и комбинированные препараты, сочетающие одновременно противовоспалительные, анальгезирующие, противомикробные и репаративные свойства в лекарственных формах для местного и системного применения.

В связи с вышеизложенным представляет интерес рассмотреть решение этого вопроса на примере оснащенности рынков Украины и ряда европейских стран препаратами для лечения заболеваний уха.

Согласно Государственной Фармакопее Украины (ГФУ) [2], ушные лекарственные средства представляют собой жидкие, мягкие или твердые лекарственные средства, предназначенные для закапывания, распыления, вдувания или аппликации в слуховое отверстие или для промывания уха.

Их подразделяют на:

- ушные капли и аэрозоли, которые представляют собой растворы, эмульсии или су-

спензии одного или нескольких активных ингредиентов в подходящих жидкостях, например, воде, глицеролях или жирных маслах. Они предназначены для инстилляций или впрыскивания в ушной канал без оказания опасного давления на барабанную перепонку;

- ушные промывки - это водные растворы с рН, значение которого соответствует физиологическим показателям жидкостей организма. Применяются для очистки слухового канала, например, от застрявшей серы, которая чаще всего является причиной плохой звукопроводимости. Смешиваясь с влагой, сера является питательной средой для микроорганизмов, и может вызывать воспалительные процессы;

- мази, состоящие из основы и действующих веществ, равномерно в ней распределенных; они предназначены для аппликации на наружный слуховой канал;

- тампоны в виде узких марлевых полосок, которые могут легко вводиться в наружный слуховой канал и извлекаться из него. Они могут быть пропитаны как растворами, так и мазями; их применяют для интенсификации терапии и пролонгирования действия лекарств;

- порошки для вдувания или сухие аэрозоли - мелко измельченные вещества, которые при вдувании проникают достаточно глубоко, достигая барабанной перепонки, а далее - среднего уха, обеспечивают быстрое терапевтическое действие.

В зависимости от назначения к ушным лекарственным средствам предъявляются различные требования по составу, упаковке и условиям производства. К ушным препаратам, как правило, не предъявляется требование соответствия физиологическим показателям жидкостей организма, за исключением ушных промывок, так как эпителий наружного уха достаточно устойчив к раздражению. Препараты для лечения травмированного и прооперированного уха не должны содержать antimicrobных консервантов; такие препараты помещают в однодозовые упаковки. К препаратам, предназначенным для введения в среднее ухо, предъявляются требования стерильности и изотоничности. Ушные лекарственные формы, помещенные в многодозовые упаковки, могут содержать antimicrobный консервант. Некоторые ушные лекарственные средства применяются в теплом виде. Такие препараты должны быть термостабильными.

Проанализировав номенклатуру ушных препаратов на примере рынков Украины, России, Германии, можно предложить следующую классификацию.

1. Препараты местного действия

1.1. Препараты (моно- и комбинированные) на основе веществ antimicrobного действия

1.2. Препараты (моно- и комбинированные) на основе веществ анальгезирующего действия

1.3. Гомеопатические препараты

2. Препараты системного действия

2.1. Антибиотики

2.2. Препараты на основе веществ растительного происхождения

2.3. Биогенные препараты

Украинский рынок ушных препаратов представлен, в основном, лекарственными средствами в форме ушных капель и препаратами системного действия. Для рынка Германии характерно присутствие отолгических препаратов в различных формах: каплях, мазях, порошках, а также таблетках.

1. Препараты местного действия

1.1. Препараты (моно- и комбинированные) на основе веществ antimicrobного действия

В настоящее время наиболее распространенной группой препаратов для лечения ушных патологий являются antimicrobные препараты. Широкое применение таких пре-

паратов при комплексном лечении воспалительных заболеваний уха, особенно острого среднего отита, значительно уменьшило частоту перехода данных заболеваний в хроническую форму и позволило в большинстве случаев избежать осложнений.

Отит - одно из наиболее часто встречающихся заболеваний уха, может быть как самостоятельным заболеванием, так и осложнением вирусных, бактериальных, грибковых и др. инфекций. Непосредственной причиной отита является проникающая в барабанную полость инфекция. Несвоевременное и неадекватное лечение больных с данным заболеванием может привести к возникновению различных осложнений, в том числе глухоте [10, 13, 15]. По статистическим данным, глухие и тугоухие люди составляют от 6 % до 11 % населения земного шара [22].

Фармакологическое действие препаратов, применяемых для лечения отитов, связано с подавлением бактерий и штаммов различного происхождения. Такие препараты могут содержать как одно, так и несколько действующих веществ, например, антибиотики, гормоны и их аналоги, местные анестетики, в некоторых случаях — анальгетики, антисептики, адреномиметики, сульфаниламиды [8, 18]. Анализ доступных информационных источников [4, 21, 26] показал следующее распределение моно- и комбинированных ушных препаратов для лечения отитов на рынках Украины, России и Германии (Табл. 1).

Таблица 1
Распределение моно- и комбинированных ушных препаратов для лечения отитов на рынках некоторых европейских стран

Препараты	Страны		
	Украина	Россия	Германия
Монопрепараты, %	66.7	28.6	16.0
Комбинированные, %	33.3	71.4	84.0

Как видно из Табл. 1, за рубежом предпочтение отдается комбинированным препаратам, как наиболее отвечающим потребностям фармакотерапии данного заболевания.

Монопрепараты местного действия на основе веществ с antimicrobными свойствами представлены в Табл. 2.

Оториноларингологи считают эффективными ушные капли на основе комбинаций кортикостероидов и антибиотиков. Наиболее часто применяемые комбинации приведены в Табл. 3.

Таблица 2

Антимикробные препараты местного действия для лечения ушных патологий

Название препарата	Торговое название препарата, предприятие - изготовитель	Фармакологическое действие
Раствор декаметоксина, 0.05%	ушные капли Аурисан, ОЗ ГНЦЛС, г. Харьков [4]	антимикробное
Раствор норфлоксацина, 0.3%	ушные/глазные капли ОЗ ГНЦЛС, г. Харьков; ушные капли Нормакс, фирма «Ирса» [9]	бактерицидное
Раствор кислоты борной, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 5%	Киевская фармфабрика; ОАО "Фитофарм", г.Артемовск; Николаевская фармфабрика; Ивано-Франковская фармфабрика; Харьковская фармфабрика; Черниговская фармфабрика; Тернопольская фармфабрика; Симферопольская фармфабрика; Луганская фармфабрика;ОАО "Фармак", г. Киев [4]	антисептическое
Раствор левомицетина спиртовой, 0.25 %; 1%; 3%; 5 %	Киевская фармфабрика; Тернопольская фармфабрика; ОАО "Фитофарм", г.Артемовск [4]; ушные капли Аквамицетин, фирма "Winzer" [26]	антисептическое
Раствор рифамицина натрия, 2.6 %	ушные капли "Отофа", фирма «Laboratoires du Docteur E.Bouchara» [4]	антимикробное

Таблица 3

Комбинированные препараты в форме ушных капель на основе антибиотиков и кортикостероидов

Название кортикостероида	Названия антибиотиков	Торговое название препарата, фирма
Дексаметазон	Полимиксина В сульфат и неомицина сульфат	Dexa-Polyspectran, фирма "Dorsch" [26]
Дексаметазон	Фрамицитин и грамицидин	Sofradex, фирма «Hoechst Marion Roussel» [21]
Дексаметазон	Хлорамфеникол	Dexa - Biofenicol, фирма "Dorsch" [26]
Дексаметазон	Окситетрациклин и натамицин	Incut, фирма "Basotherm" [26]
Дексаметазон	Полимиксина В сульфат и неомицина сульфат	Polydexa, фирма «Laboratoires du Docteur E.Bouchara» [21]
Преднизолон	Хлорамфеникол	Berlicetin-Ohrentropfen, фирма "Pharma Wernigerode" [26]
Гидрокортизон	Полимиксина В сульфат и неомицина сульфат	Otosporin, фирма «Glaxo Wellcome» [26]
Гидрокортизон	Бацитрацин и полимиксина В сульфат	Polyspectran HC, фирма "Alcon" [26]
Гидрокортизон	Хлорамфеникол	Corti-Flexirole, фирма "Mann" [26]
Бетаметазон	Гентамицин	Garason, фирма «Schering-Plough» [21]

Препараты на основе комбинаций антибиотиков с кортикостероидами оказывают противовоспалительное, противоаллергическое, антиэкссудативное и противозудное действие при инфекционных и аллергических заболеваниях уха. Присутствие в составе таких препаратов антибиотиков расширяет спектр противомикробного действия лекарственных средств и делает их эффективными против как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, вызывающих инфекционно-воспалительные за-

болевания среднего уха, в частности, острый средний отит и наружный отит без повреждения барабанной перепонки [14]. Однако некоторые антибиотики могут оказывать токсическое воздействие на организм, в частности, аминогликозидный антибиотик гентамицин. Не рекомендуется применять более одного флакона препарата «Гаразон» (глазные/ушные капли) для лечения отита и глазных инфекций. Детям в возрасте до 8 лет данный препарат вообще не рекомендуют к применению [19].

Представителем группы комбинированных препаратов на основе антибиотиков и анестетиков являются ушные капли Анауран (фирма «Zambon Group»), хорошо зарекомендовавшие себя при лечении многочисленных ушных заболеваний. В состав данного препарата входят: полимиксин В сульфат, неомицина сульфат, лидокаина гидрохлорид. Антибиотики, входящие в состав препарата, оказывают эффективное воздействие на все микроорганизмы, обычно обуславливающие различного рода инфекционные очаги в органах слуха, как благодаря ярко выраженной синкинезии между различными компонентами препарата, так и благодаря противомикозному эффекту, которым обладает полимиксин В. Таким образом, Анауран может успешно применяться в терапии отомикоза, лечение которого в последнее время становится актуальной проблемой. Лидокаин как анестетик позволяет снять болевые ощущения, сопровождающие большинство ушных заболеваний. Кроме того, препарат оказывает превентивный эффект по отношению к возможным патологическим осложнениям (микозные суперинфекции, заражение ран и др.) [21].

1.2 Препараты (моно- и комбинированные) на основе веществ анальгезирующего действия

Представители данной группы препаратов приведены в Табл. 4.

1.3 Гомеопатические препараты

В основном, это препараты, содержащие экстракты растительного сырья, например, ромашки аптечной, эхинацеи пурпурной, аконита, перца стручкового, а также неорга-

нические соли. К ним можно отнести ушные капли Otovowen (фирма «Weber Weber»), Oto-cyl Ho-len-Complex (фирма «Pharma Liebermann») и масляный раствор Levisticum H 10 % (фирма «Weleda»), применяемые при различных отитах (наружном, остром), а также при воспалительных процессах в ухе [26].

2. Препараты общего действия

Данная группа препаратов представлена препаратами в форме таблеток, в основном, синтетическими антибиотиками, а также препаратами на основе веществ растительного происхождения и биогенными препаратами.

2.1 Антибиотики

В течение последних лет при отоларингологических заболеваниях назначают цефазолин - антибиотик цефалоспоринового ряда первого поколения, который на данный момент является довольно эффективным препаратом. Однако столь широкое применение цефазолина в ближайшие годы закономерно приведет к появлению устойчивых к нему штаммов микроорганизмов, как это произошло с ампициллином, пенициллином, эритромицином.

Представителями второго поколения антибиотиков цефалоспоринового ряда являются Зиннат и Зинацеф – препараты - производные цефуроксима, разработанные фирмой «Glaxo Wellcome» (Великобритания). Зиннат предназначен для перорального применения, Зинацеф - для парентерального введения. Эти препараты действуют бактерицидно на большинство грамположительных и

Таблица 4

Ушные препараты на основе веществ анальгезирующего действия

Действующее вещество, концентрация, %	Название препарата, фирма-производитель	Фармакологическое действие и применение
Феназон 4 %, лидокаина гидрохлорид 1 %	Otipax, фирма «Bicodex» [4]	все виды местной анестезии: терминальная, инфильтрационная, проводниковая; обладает мембраностабилизирующей активностью. Препарат эффективен при баротравматическом отите, остром и среднем отите, отите как осложнении после гриппа [1; 5].
Холинсалицилат 20 %	Otinum, фирма "ICN Polfa Rzesow" [4] Audax, фирма «Mundipharma» [26]	анальгезирующее и противовоспалительное действие. Применяют при воспалительных заболеваниях наружного и среднего уха.

грамотрицательных бактерий, а также на анаэробную микрофлору и поэтому рекомендуются для широкого применения при лечении пациентов с острым средним отитом [6]. При данном заболевании также широко применяются такие таблетированные препараты, как Сумамед (азитромицин) (фирма «Pliva») и Амоксил-КМП (ОАО «Киевмедпрепарат») [11].

На украинском фармацевтическом рынке уже появился первый отечественный цефалоспориновый антибиотик третьего поколения — Цефиксим-КМП (ОАО «Киевмедпрепарат») в форме таблеток. Имеются сведения об успешном применении препарата при лечении больных со средним отитом, а также подтверждение того, что при монотерапии Цефиксимом-КМП излечивается такое тяжелое воспалительное заболевание, как перихондрит ушной раковины [25].

2.2 Препараты на основе веществ растительного происхождения

При лечении различных заболеваний уха, например, нейросенсорной тугоухости, шума в ушах различного генеза успешно применяется таблетированный препарат Этрома-30, фирма «Мефа» (Швейцария), обладающий способностью улучшать мозговое кровообращение, в том числе и на капиллярном уровне. Активным веществом данного препарата является алкалоид, выделенный из *Vinca minor* L. (барвинка малого) — винкамин [12].

К данной группе лекарственных средств можно отнести и таблетки Вазобрал, фирма "Laboratoires Jacques Logeais", в состав которых в качестве основных действующих веществ входят α -дигидроэргокриптин мезилат — дигидрированное производное спорыньи, блокирующее α_1 - и α_2 -адренорецепторы гладкомышечных клеток сосудов, и кофеин.

2.3 Биогенные препараты

Представителями данной группы препаратов являются инъекционный раствор Regeneresen, фирма «Dyckerhoff», и вакцина Превнар.

В состав инъекционного раствора Regeneresen входит натриевая соль рибонуклеиновой кислоты, содержащаяся в клеточной плазме, рибосомах, а также в ядрах клеток. Способность РНК деполимеризоваться до кислоторастворимых моно- и олигонуклеотидов, а также способность препарата разжижать гной, слизь, вязкую и густую мокроту и его противовоспалительное действие обусловили возможность применения данного сред-

ства при воспалительных процессах среднего уха и остром воспалении барабанной перепонки.

В 2001 году FDA рекомендована к применению вакцина под названием Превнар, фирма «Wyeth-Ayerst Laboratories», предназначенная для лечения отита, особенно у детей. Согласно исследованиям, проведенным сотрудниками Финского общественного института здоровья, вакцина показала высокую эффективность при лечении инфекционных заболеваний органов слуха, вызванных пневмококками, ее действие направлено против семи основных серотипов бактерий. Эффективность применения вакцины при заражении одним из этих видов бактерий составляет 57 % [24].

Среди новых научных разработок, посвященных лечению заболеваний уха, необходимо отметить следующие. Для лечения отита предложены различные составы на основе цедры зеленых лимонов, оливкового масла, земляных червей, а также комбинации масла мятного, масла ромашки с гидрокортизоном и анестезином [3]. Патентуются таблетки, капсулы, растворы и другие твердые и жидкие пероральные лекарственные формы, содержащие в качестве активного ингредиента аминоксиуксусную кислоту, не вызывающую побочных явлений, для предотвращения возможной глухоты [16, 17]. Для лечения наружного отита предлагается гель Гирудо, представляющий собой натуральное лекарственное средство на основе комплекса биологически активных веществ, содержащихся в медицинской пиявке *Hirudo medicinalis*: гирудина, гиалуронидазы, липидов, ингибиторов трипсина и химотрипсина, простагландинов и фибринолизированного фермента - дестабилазы. Препарат обладает антибактериальными, противовоспалительными, десенсибилизирующими, болеутоляющими свойствами [20].

Таким образом, при рассмотрении номенклатуры препаратов для лечения заболеваний уха, представленной на рынке Украины, в сравнении с рядом европейских стран, становится очевидным, что фармацевтическая промышленность Украины не уделяет должного внимания производству препаратов данного направления. Упаковка отечественных препаратов, применяемых в качестве ушных капель, остается несовершенной, номенклатура их ограничена, производство других лекарственных форм отсутствует. Поэтому воп-

росы разработки новых эффективных лекарственных средств в различных формах выпуска для профилактики и лечения ушных патологий остаются важным направлением в отологии. В ГП ГНЦЛС этому вопросу уделяется должное внимание: ведутся работы по созданию ушных препаратов с учетом всех предъявляемых к ним требований. Это препараты-генерики и новые оригинальные препараты, представленные двумя группами: препараты на основе растительных субстанций отечественного производства и комбинированные препараты на основе синтетических субстанций.

ЛИТЕРАТУРА

- Б. Семчук. Оценка клинической пригодности препарата Отинум // Новости фармации и медицины. - 1989. - № 1. - С. 12-16.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - 556 с.
- Заявка № 2608049, МПК А 61 К 35/78, 35/56. Препарат для лечения отита / Glaude M.V., Scholastique Th. Франция. - Р. 1-12.
- Компендиум. Лекарственные препараты 2001/2002 / Под ред. проф. В.Н. Коваленко и проф. А.П. Викторова. - Киев: Морин, 2002.
- Конъюнктура рынка специфических оториноларингологических препаратов // Провизор. - 1998. - № 17. - С. 20-23.
- Косаковський А.Л., Ткаченко І.В. Застосування препаратів цефуроксиму в комплексному лікуванні дітей з гострим середнім отитом // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. - 1998. - № 1. - С. 48-50.
- Лавренова Т.В. Лечение заболеваний уха, горла, носа. - М.: Терра, 1997. - 256 с.
- Левицька О.Р., Гром О.Л. Тенденції ринку оториноларингологічних препаратів в Україні // Фармац. журнал. - 1997. - № 2. - С. 48-50.
- Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х т. - Харьков: Торсинг, 1997. - Т. 2. - 320 с.
- Мітін Ю.В., Гомза Я.Ю. Нейросенсорна приглуховатість як ускладнення гострого середнього отиту // Проблеми медицини. - 1999. - № 8. - С. 22-23.
- Митин Ю.В., Гомза Я.Ю. Использование сумамеда в лечении больных острым средним отитом // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. - 1999. - № 5, Додаток № 1. - С. 75-77.
- Митин Ю.В., Гомза Я.Ю. Эффективность «Этромы-30» в комплексном лечении лиц с нейросенсорной тугоухостью и шумом в ушах различного генеза // Там же. - 1998. - № 3. - С. 43-48.
- Мишенькин Н.В. Острое воспаление среднего уха. Руководство по оториноларингологии / Под ред. И.Б. Солдатова. - М.: Медицина, 1997. - С. 92-101.
- Новые препараты для лечения отитов и риносинуситов // Провизор. - 2000. - № 21. - С. 42-43.
- Пальчун В.Т., Крюкова А.И., Кунельская Н.Л., Полякова Т.С., Владимиров В.В., Муратов Д.Л. Острое воспаление среднего уха // Вестник оториноларингологии. - 1997. - № 6. - С. 7-11.
- Пат. № 84025, МПК. Масляный раствор для лечения отита / Faur V., Kereszturi I. СРР. - Р. 1 - 4.
- Пат. № 4735968, МПК А 61 К 31/195. Способ лечения шума в ушах аминоксикусной кислотой / Guth P.S. США. - Р. 1 - 8.
- Римар В.В. Лечение больных при нейросенсорной тугоухости // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. - 1999. - № 4. - С. 74-83.
- Савчук Л.А., Белякова И.А. Реакция вестибулярного аппарата на местное применение Гаразона // Там же. - 2000. - № 1. - С. 62-65.
- Селезнев К.Г., Щетинина Е.А. Применение геля «Гирудо» при рецидивирующем наружном отите у рабочих угледобывающей промышленности // Там же. - 2000. - № 3. - С. 66-69.
- Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. - М.: ОУПЕЕ - АстраФармСервис, 2000. - 1408 с.
- Тимен Г.Э. Слух // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. - 1999. - № 1. - С. 15-19.
- Шеврыгин Б.В. Справочник оториноларголога. - Москва: Крон-пресс, 1996. - С. 430-435.
- Шмелькова Е., Скрипникова Л. Вакцина для лечения отита // Фармацевтический вестник. - 2001. - № 8. - С. 418.
- Яремчук С.Э. Применение Цефиксима-КМП в оториноларгологии // Провизор. - 2000. - № 2. - С. 39.
- Rote liste. Arzneimittelverzeichnis des BPI. Editio Cantor. Aulendorf (WURT). - 2001. - 1052 p.

Резюме

Андрюкова Л.М., Сіденко Л.М., Фетисова О.Г., Кузнєцова К.М.

Препарати для лікування вушних патологій – актуальний напрямок створення лікарських форм в Україні

В статті наведена класифікація вушних лікарських засобів та вимоги до них згідно Державної Фармакопеї України. Проведений огляд препаратів для лікування вушних патологій. Показані обмеженість номенклатури вітчизняних препаратів даного напрямку, перспективність їхнього створення та виробництва на підприємствах України.

Summary

Andryukova L.N., Sidenko L.N., Fetisova E.G., Kuznetsova K.N.

Drugs for ear pathology treatment – actual tendency of new drug dosage forms creation in Ukraine

In this article a classification of ear drugs and requirements to ones according to State Pharmacopoeia of Ukraine are presented. A review of drugs for ear pathologies treatment was carried out. A limitation of domestic drugs of the above-named trend nomenclature and the perspectives of creation and release of ones at Ukrainian plants are demonstrated.

Андрюкова Лариса Николаевна. Окончила Харьковский политехнический институт. Работает в ГП ГНЦЛС (с 1982). К. фарм. н. (1994). Зав. лабораторией глазных, ушных и назальных лекарственных форм (ЛГУНЛФ) (1995).

Сіденко Лариса Николаевна. Окончила Украинскую фармацевтическую академию (1998). Мл. науч. сотр. ЛГУНЛФ ГП ГНЦЛС.

Фетисова Елена Геннадиевна. Окончила Харьковский государственный университет (1995). Мл. науч. сотр. ЛГУНЛФ ГП ГНЦЛС.

Кузнєцова Екатерина Николаевна. Окончила Украинскую фармацевтическую академию (1996). Работает в ГП ГНЦЛС (с 1991). Мл. науч. сотр. ЛГУНЛФ (1997).

УДК 615.457

Фетисова Е.Г., Андрюкова Л.Н.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств»

Аллергические заболевания в офтальмологии

Рассмотрена проблема аллергических заболеваний в офтальмологии. Представлена общая характеристика аллергических заболеваний глаз, приведены клинические проявления, причины возникновения глазных аллергозов и классификация аллергенов, их вызывающих. Рассмотрены типы аллергических реакций, и на их основе приведена классификация аллергических заболеваний глаз.

На протяжении многих лет причиной пристального внимания врачей многих специальностей к проблеме аллергии служит не только факт, что аллергические заболевания относятся к наиболее распространенным болезням, но и продолжающийся рост заболеваемости этой этиологии во всем мире и особенно в индустриально развитых странах.

Глазные аллергозы не являются исключением: глазная аллергия — одна из наиболее частых клинических проблем, встречающихся как у аллергологов, так и у офтальмологов. Глаз легко доступен воздействию различных аллергенов и является частой мишенью аллергических реакций, что связано с его анатомическим расположением, своеобразием строения и свойств, специфическими механизмами всасывания и распределения лекарственных веществ при их введении, а также особенностями взаимодействия с этими веществами различных тканей и жидкостей органа зрения. Согласно материалам статистического обзора газеты «Ocular Surgery News» [1], 91 % офтальмологов в США занимаются лечением аллергических конъюнктивитов, а, в свою очередь, аллергические конъюнктивиты поражают 15 % населения [2]. По данным М. Abelson [3], представленным на Международной конференции в Лиссабоне в 2000 году, аллергические заболевания глаз встречаются у 80-90 % больных, страдающих аллергией, что согласуется с данными Майчука Ю.Ф. [4], который сообщает о глазных поражениях у 91.2 % аллергиков, чувствительных к пыльце. Клинико-статистические данные о распространенности аллергических заболеваний глаз в Великобритании свидетельствуют, что на долю сезонных аллергических конъюнктивитов, одной из наиболее распространенных форм аллергических конъюнктивитов, приходится 25 % — 50 % из всех случаев аллергических заболеваний глаз, и данным заболеванием страдает 10 % - 15 % населения Великобритании, круглогодичными аллергическими конъюнктивита-

ми — 0.03 % населения, у 87 % пациентов симптомы сохраняются в течении всего года, атопические кератоконъюнктивиты встречаются у 1.5 %, а весенние кератоконъюнктивиты — у 0.5 % из всех случаев аллергических заболеваний глаз [5]. Анализ аллергологического анамнеза, собранного за многие годы работы в Московском НИИ глазных болезней им. Гельмгольца, показывает, что городские жители страдают аллергией в 3 раза чаще, чем сельские; у мальчиков аллергия встречается чаще, чем у девочек; в зрелом возрасте женщины страдают аллергией в 2 раза чаще, чем мужчины; вероятность проявления аллергии у ребенка, если у родителей нет аллергии, составляет 12.5 % [2], если один из родителей страдает данным заболеванием - 25 %, если оба родителя — до 50 %, причем это не означает, что у ребенка проявляется тот же тип аллергии, что и у родителей [6]. Сотрудники Института глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова АМН Украины также отмечают, что важным признаком аллергических заболеваний является наследственная предрасположенность. Данные, полученные в этой организации, свидетельствуют о том, что если атопией страдает один из родителей, данное заболевание развивается у 50 % детей, если оба родителя - у 75 % [7].

Согласно современным представлениям, аллергические заболевания возникают в результате повышенной чувствительности (сенситизации) к различным веществам с антигенными свойствами, которые называются аллергенами. Аллергены вызывают иммунный ответ, результатом которого является избыточное высвобождение биологически активных веществ — медиаторов аллергии: гистамина, серотонина, ацетилхолина, простагландинов и др. Именно эти вещества участвуют в механизмах развития общих и местных аллергических реакций. Большая часть аллергенов относится к числу белков и высокомолекулярных углеводов. Однако многие вещества более простой структуры

могут, попадая в организм и соединившись с его белками, приобрести аллергенные свойства [8].

Аллергические заболевания глаз весьма разнообразны по локализации повреждений, клинической картине, а также по характеру вызывающих их аллергенов.

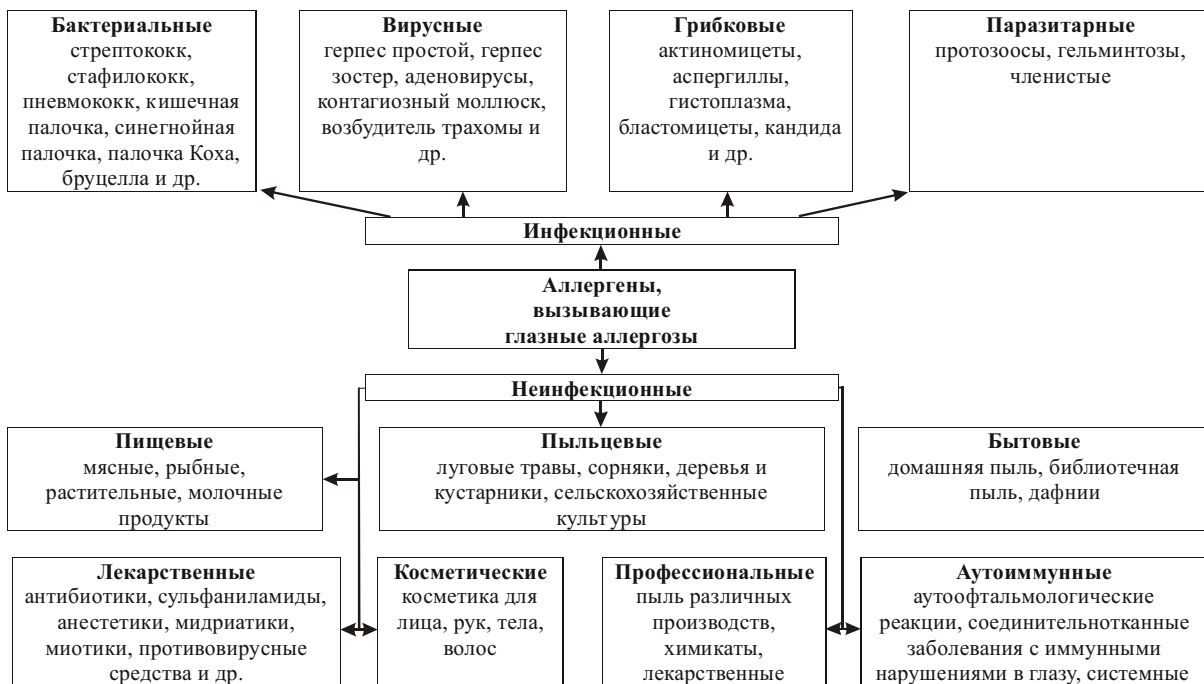
Группа аллергенов, вызывающая офтальмологические аллергические реакции, весьма многочисленна и разнообразна, в настоящее время она насчитывает до 300 аллергенов [9]. Существуют различные подходы к классификации основных групп аллергенов. Для рассмотрения аллергенов, вызывающих заболевания глаз, нами выбрана классификация, представленная на рисунке [4], которая разделяет их на инфекционные и неинфекционные. Согласно статистическим данным, при офтальмологических заболеваниях сенсибилизация к неинфекционным аллергенам встречается в 72.5 % случаев, что в 3 раза чаще, чем к инфекционным [10].

Наиболее частой причиной глазных аллергозов является попадание из воздушной среды в конъюнктивальный мешок пыли, содержащей аллергены растительного или животного происхождения. К растительным аллергенам относятся: пыльца трав, кустарников, цветущей пшеницы, ржи, хлопка, пыльца цветов, споры непатогенных грибов и др. На нашей планете распространено нескольких

тысяч видов растений и только около полусотни продуцируют пыльцу, которая может вызывать аллергию. В основном это ветроопыляемые растения, выделяющие огромные количества мелкой пыльцы (диаметр зерен от 2-3 мк до 40 мк [4]), переносимой ветром на большие расстояния. Свежая пыльца обладает высокой активностью. Установлено, что пыльца ветроопыляемых растений является сложным комплексом аллергенных субстанций органической и неорганической природы - белков, сахаров, жиров, углеводов, витаминов (особенно группа витамина E), пигментов, ферментов и др. [4]. В пыльце также накапливаются всевозможные загрязнители воздуха, что может в сотни раз повышать ее способность вызывать аллергию. Среди растений, произрастающих в нашем климате и способных вызвать аллергию, следует назвать следующие: подснежник, ольха, лещина, береза (наиболее сильный аллерген), ива, тополь, вяз, ясень, клен, дуб, сирень, яблоня, хвойные деревья, одуванчик, лисохвост, мятник, тимopheевка, овсяница, полынь, растения семейства сложноцветных, гречишных, крапива, подорожник, щавель, лебеда [4, 11, 12]. Вопреки бытующему мнению, тополиный пух аллергию не вызывает, но переносит на себе пыльцу злаковых трав.

К аллергенам животного происхождения относятся: перья, пух, шерсть. Особенно вы-

Рисунок 1
Классификация аллергенов, вызывающих глазные аллергозы



раженным аллергенным действием обладают шерсть и продукты жизнедеятельности кожи кошек, лошадей и, отчасти, овец.

Реже встречаются глазные аллергозы, вызванные пищевыми продуктами, а также находящимися в них консервантами и пищевыми добавками. К пищевым аллергенам относятся молоко, яйца, крабы, шоколад, фрукты, ягоды, соленые и маринованные овощи и др. [7, 11].

Среди аллергенов, вызывающих аллергический конъюнктивит, следует также назвать домашнюю пыль, средства бытовой химии, различные химикаты (например, пестициды), лекарственные средства, профессиональные вредности (например, лакокрасочные покрытия, аммиачные смеси, пыль чулочной фабрики), косметические и парфюмерные изделия [4, 11].

Развитию аллергии способствуют более 5000 различных химических веществ, которые используют в качестве основ, красителей, ароматизирующих веществ и консервантов, содержащихся в косметике. Наиболее часто аллергию вызывают дезодоранты (антиперспиранты), увлажняющие лосьоны, одеколоны, духи (в том числе и сухие), пены для ванн, шампуни, лаки для волос, средства для завивки и распрямления волос, депиляторы, окрашивающие и осветляющие краски для волос, тушь, карандаши для подводения глаз, пудра, кремы, лак для ногтей и жидкость для его снятия. Причиной аллергических заболеваний могут быть красители бровей и ресниц, особенно минеральные и химические краски, содержащие урсол, хромовые соединения (серебряные, кобальтовые и никелевые соли) [8, 11, 13]. Были отмечены случаи проявления аллергической реакции на органе зрения при использовании анилиновых красок, янтарного и плацентарного кремов [11]. Есть сообщения о симптомах аллергии на блеск для губ и глаз, содержащих фракцию ланолина [13].

В связи с постоянным ростом количества новых лекарственных препаратов и, как следствие, ростом потребления медикаментов, а также благодаря широкому и бесконтрольному использованию лекарственных средств в результате самолечения, особую актуальность приобрела лекарственная аллергия. Среди больных аллергическими заболеваниями глаз страдающие лекарственной аллергией составляют около 30.4 % [4]. В данном случае аллергенами выступают как лекарствен-

ные средства, так и различные вспомогательные вещества, входящие в состав препаратов. Более подробно эта проблема нами будет рассмотрена в следующей статье.

Следует отметить, что аллергия может быть как поливалентной, так и избирательной, например, пациент может быть чувствителен к любому типу шерсти или только к определенной породе. Хотя в офтальмологической практике все чаще приходится сталкиваться с одновременной сенсibilизацией к аллергенам, относящимся к различным группам. Например, возможны сочетания вирусной аллергии глаз с аутоаллергией к тканям глаза, бактериально-инфекционной с лекарственной аллергией, поражения глаз при полинозе с весенним катаром.

В основе аллергических заболеваний глаз лежат классические реакции, типы и механизмы которых описаны современным учением об аллергии. Многообразие аллергических реакций и сложность их развития привели к созданию большого числа классификаций. Наибольшее распространение получила классификация, предложенная в 1930 году R.A. Cooke и существующая до настоящего времени, в которой выделены аллергические реакции немедленного типа и аллергические реакции замедленного типа. В основу классификации положено время проявления реакции после контакта с аллергеном (реакции немедленного типа развиваются в течение 15-20 мин, замедленного — через 1-2 с). В свое время А.Д. Адо в развитии аллергических реакций немедленного типа выделил три стадии: иммунологическую, патохимическую и патофизиологическую. Иммунологическая стадия охватывает все изменения в иммунной системе, возникающие с момента поступления аллергена в организм, образование антител и/или сенсibilизирование лейкоцитов и соединение их с повторно поступившим аллергеном. Патохимическая стадия заключается в образовании биологически активных медиаторов. Патофизиологическая стадия характеризуется патогенным действием образовавшихся медиаторов на клетки, органы и ткани организма, т.е. это стадия клинических проявлений. P. Cell и R. Coombs предложили классификацию, построенную на патогенетическом принципе, в ее основу положены особенности иммунных механизмов. В этой классификации различают 4 типа аллергических реакций: I — аллергические реакции немедленного типа, II — цитотокси-

ческие аллергические реакции, III – иммунокомплексные аллергические реакции и IV – аллергические реакции замедленного типа. В патогенезе аллергических заболеваний глаз могут участвовать аллергические реакции всех известных типов. Проявления аллергических реакций глаз согласно данной классификации представлены в таблице [14].

Глазные аллергозы делят на инфекционные и неинфекционные. К инфекционным, в свою очередь, относятся бактериальные, вирусные, паразитарные, грибковые аллергозы, а к неинфекционным – весенний катар, полинозы, лекарственные, бытовые, пищевые, химические, косметические, профессиональные аллергозы. В некоторых классификациях заболевания, вызванные косметическими и лекарственными аллергенами, объединяют в одну группу под названием контактная аллергия [5, 13]. Как уже ранее упоминалось, основная доля аллергических заболеваний глаз приходится на неинфекционные поражения [10]. Наиболее часто встречаются сезонные полинозные конъюнктивиты, лекарственная аллергия, весенний кератоконъюнктивит, атопический конъюнктивит, крупнокапиллярный конъюнктивит, хронический конъюнктивит, аллергия при синдроме сухого глаза, аллергические проявления при острых инфекционных заболеваниях глаз. По

данным Московского института глазных болезней им. Гельмгольца на три первые клинические формы приходится 84.1 % всех глазных аллергозов [15].

Поражения могут охватывать любой отдел органа зрения: кожные покровы век, конъюнктиву, роговицу, сосудистую оболочку глаза, сетчатку, зрительный нерв, что проявляется в форме конъюнктивита, блефарита, кератита, эписклерита, склерита, ирита, иридоциклита, ретинита, субкапсулярной катаракты, отека Квинке, асептического паноптальмита, васкулита зрительных нервов, расстройств аккомодации [4, 9, 15-17].

Основными симптомами при аллергических поражениях глаз, протекающих в острой форме, являются крайне сильное жжение и резь в глазах, светобоязнь, слезотечение, и покраснение конъюнктивы (гиперемия), выраженные в различной степени [8, 9, 18]. Иногда слизистая оболочка глаза отекает и в тяжелых случаях поднимается вокруг роговой оболочки валиком, приобретая стекловидный желтоватый оттенок. В случае присоединения инфекции появляется обильная секреция серозного характера, и часто утром пациент не может открыть глаза, что связано со склеиванием век. При хронической форме жжение и зуд умерены, а отделяемое незначительно [18]. Для аллергических забо-

Таблица
Аллергические реакции глаз согласно классификации по патогенетическому принципу

Реакции немедленного типа	Цитотоксический тип	Иммунокомплексные реакции	Реакции замедленного типа
<ul style="list-style-type: none"> • ангионевротический отек • атопический дерматит век • сенная конъюнктивальная лихорадка • острый аллергический конъюнктивит • хронический аллергический конъюнктивит • вернальный кератоконъюнктивит • экзематозный кератоконъюнктивит • папиллярный конъюнктивит • гигантский папиллярный конъюнктивит 	<ul style="list-style-type: none"> • болезнь кератотрансплантата • симпатическая офтальмия • вульгарный пемфигус • глазной пемфигоид 	<ul style="list-style-type: none"> • синдром Стивенсона-Джонсона • глазные проявления при системных заболеваниях соединительной ткани 	<ul style="list-style-type: none"> • контактный дерматит век • контактный кератоконъюнктивит • медикаментозный кератоконъюнктивит

леваний глаз, протекающих не остро, характерны симптомы, которые вызывают страдания, но не угрожают зрению. В случае хронических форм, заболевание может привести к потере зрения из-за образования рубцов на роговице, к катаракте или глаукоме [5]. Аллергия нередко распространяется на кожу век, щеки и шею. Обычно покраснение, припухлость кожи, экзематизация ее зависят от стекающей слезы, содержащей аллерген [8].

Анализ литературных данных показал, что лечение аллергических заболеваний глаз остается одной из актуальных задач в офтальмологии. Стремительный рост промышленности, загрязнение окружающей среды, массовое использование в производстве и быту синтетических средств, возрастающее неконтролируемое использование лекарственных препаратов приводят к увеличению разнообразных аллергенов, вызывающих глазные аллергии. В связи с этим большой интерес представляет усовершенствование методов лечения аллергических заболеваний глаз, создание новых эффективных офтальмологических средств, заведомо исключающих побочные реакции, а также всестороннее изучение этих препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Статистика // Новое в офтальмологии. — 1997. - № 4. — С. 9.
2. Майчук Ю.Ф. Аллергические конъюнктивиты // Клиническая офтальмология. — 2002. — Т. 3, № 1. — С. 6-9.
3. Abelson M.B. // 3-rd International Symposium on Ocular Pharmacology and Pharmaceutics. — Lisbon, 2000. — P. 51.
4. Майчук Ю.Ф. Аллергические заболевания глаз. — Москва: «Медицина», 1983. - 223 с.
5. McGill J.I., Holgate S.T., Church M.K., Anderson D.F., Bacon A. Allergic eye disease mechanisms // Br. J. Ophthalmology. — 1998. — Vol. 82, No. 10. — P. 1203-1214.
6. Майчук Ю.Ф. Современные аспекты фармакотерапии глазных аллергозов // Вестник офтальмологии. — 2000. - № 5. - С. 10 - 14.
7. Дрожжина Г.М., Гайдамака Т.Б., Сафроненкова И.А. Новый метод в комплексном лечении атопических заболеваний глаза // Офтальмологический журн. — 2001. - № 2. — С. 67 - 71.
8. Кацнельсон А.Б. Аллергические и вирусные конъюнктивиты // Там же. - 1968. - № 3. - С. 164 - 170.
9. Майчук Ю.Ф. Фармакотерапия глазных аллергозов: Пособие для врачей. — Москва, 1999. - 33 с.
10. Ковалевский Е.И., Калугина О.Л., Балаболкин И.И., Котешев Г.И. Аллергические заболевания глаз у детей и взрослых // Вестник офтальмологии. - 1990. - № 5. - С. 68 - 76.
11. Майчук Ю.Ф., Кладова Л.А. Дифференциальная диагностика аллергических конъюнктивитов // Офтальмологический журн. — 1972. - № 7. - С. 524 - 527.
12. Маркатун М.М. Слезы сезона // Качество жизни. Профилактика. — 2000. - № 3.
13. Friedlaender M.H. Ocular allergy // The Journal of Allergy and Clinical Immunology. — 1985. — Vol. 76, No. 5. — P. 645-657.
14. Егоров Е.А. Современные аспекты фармакотерапии аллергических заболеваний глаз // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. — 2001. — Пилотный выпуск.
15. Майчук Ю.Ф. Аллергические заболевания глаз // РМЖ. - № 1. - 1999. - С. 20 - 22.
16. Захарова И.А. Лекарственная аллергия в офтальмологии // Вестник офтальмологии. - 1976. - № 6. - С. 51 - 55.
17. Майчук Ю.Ф., Семенова Г.Я. Классификация и клинические особенности поражений глаз при лекарственной аллергии. // Офтальмологический журн. - 1978. - № 6. - С. 423 - 426.
18. Майчук Ю.Ф. Аллергические конъюнктивиты // Лечащий врач. — 2000. - № 4. — С. 2 - 7.

Резюме

Фетисова О.Г., Андрюкова Л.М.

Алергічні захворювання в офтальмології

Розглянута проблема алергічних захворювань в офтальмології. Представлена загальна характеристика алергічних захворювань очей, наведені клінічні прояви, причини виникнення очних алергозів і класифікація алергенів, що їх викликають. Розглянуті типи алергічних реакцій, і на їхній підставі наведена класифікація алергічних захворювань очей.

Summary

Fetisova E.G., Andryukova L.N.

Allergic diseases in ophthalmology

The problem of allergic diseases in ophthalmology is considered. The total characteristic of allergic eye diseases is presented, the clinical signs, the causes of ophthalmic allergosis appearance and the classification of allergens giving rise to is presented. The types of allergic reactions were considered and the classification of ophthalmologic allergic diseases on the base of ones is presented.

Андрюкова Лариса Николаевна. Окончила Харьковский политехнический институт. Работает в ГП ГНЦАС (с 1982). К.фарм.н. (1994). Зав. лабораторией глазных, ушных и назальных лекарственных форм (ЛГУНЛФ).

Фетисова Елена Геннадиевна. Окончила Харьковский государственный университет (1995). Мл. науч. сотрудник ЛГУНЛФ ГП ГНЦАС.

До відома авторів журналу “Фармаком”

Для публікації на сторінках нашого журналу автори повинні дотримуватися таких вимог:

1. Стаття повинна мати такі необхідні елементи: постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими або практичними завданнями; аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор, виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, яким і присвячується означена стаття; формулювання цілей статті (постановка завдання); виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням одержаних наукових результатів; висновки з даного дослідження та перспективи подальших розвідок у даному напрямку.
2. Стаття має бути надрукована на папері формату А4 через 2 інтервали з полями 2,5 см з усіх боків, 28-30 рядків на сторінці, 60-65 знаків у рядку, розмір шрифту 14, шрифт Times New Roman або Arial.
3. Робота подається на українській мові (для авторів, що проживають за межами України – можливо на російській) у 2-х примірниках, підписаних усіма авторами.
4. Прізвище(а) автора(ів) необхідно зазначити на першій сторінці, далі привести назву організації чи установи, де працює(ють) автор(и) та назву статті, також мають бути зазначені рубрики УДК.
5. Матеріали до публікації обов'язково мають включати резюме (російською, українською та англійською мовами), та відомості про кожного з авторів із зазначенням прізвища, ім'я та по батькові, наукового звання (посади) (із зазначенням року), наукового ступеня (із зазначенням року), місця роботи, службового та домашнього телефонів.
6. До статті має бути прикладений експертний висновок про можливість публікації у відкритому друці.
7. До статті мають бути прикладені всі використані в роботі таблиці, графіки та ін.; список літератури надається у відповідності до загальноприйнятих правил оформлення.
8. У статті не допускається скорочень слів, крім загальноприйнятих у науковій літературі. Усі вимірювання подаються у системі одиниць СИ. Усі аббревіатури мають бути розшифровані. У числах, що являють собою десяткові дробі, цілі числа від дробової частини слід відокремлювати крапкою.
9. Усі вищезазначені матеріали мають бути надані до редакції також на магнітному носії (дискета, диск).
10. Комп'ютерний набір статті має виконуватися у текстовому редакторі MS Word 97, у разі набору в іншій версії – у форматі RTF. Формули мають бути набрані у редакторі формул, що убудований до MS Word (Microsoft Equation 3.0.).

11. Вимоги до ілюстративного матеріалу:

- ілюстрації мають бути виконані на професійному рівні, відповідати основному змісту статті та мають бути підписаними;
- графіки, діаграми та ін. краще будувати у табличному редакторі Excel 97. Якщо даний ілюстративний матеріал створений за допомогою інших програм, зображення слід подавати у векторному форматі WMF. Так як журнал видається у чорно - білому виконанні, графіки мають бути виконані з відповідними відтінками;
- на графіках мають бути зазначені експериментальні точки;
- фотографії, файли із растровими зображеннями мають бути високої якості та не мати дефектів (подряпини, плями, погана різкість, муар та ін.). Формати файлів TIFF, BMP;
- криві, виконані на різних самописцях, мають бути розпечатані на білих аркушах без сітки;
- структурні хімічні формули обов'язково мають бути набрані в спеціалізованих програмах типу ChemWin та надані у векторному форматі WMF;
- різні види ілюстративного матеріалу не мають дублювати один одного.

12. Редакція залишає за собою право редагувати статті.

13. Матеріали статті автору не повертаються.

14. При невиконанні зазначених вимог статті розглядатися не будуть.

15. За достовірність інформації в публікаціях відповідальність несуть автори.

