

## Зміст

**До запровадження Державної Фармакопеї України**

Товмасян Є.К., Гризодуб О.І., Крупа Н.О., Матвієнко Т.М., Югіна І.І., Георгієвський В.П.  
Монографії на готові лікарські засоби Державної Фармакопеї України..... 5

**Фітохімічні дослідження**

Котова Е.Е., Котов А.Г., Леонтьєв Д.Д.  
Застосування методу ВЕТШХ для визначення кількісного вмісту  
сесквитерпеноїдів у коренях і кореневищах *Inula helenium* L..... 15

Попова Н.В., Литвиненко В.І., Бовтенко В.О.  
До питання стандартизації настойки плодів стручкового перцю ..... 20

Комісаренко М.Ф., Комісаренко М.А., Буняєва О.С.  
Прості фурукумарини та бензофуранові глікозиди деяких видів роду псоралея ..... 24

Кошовий О.М.  
Дослідження фенольних сполук спиртового екстракту  
з листя *Eucalyptus viminalis* Labill. .... 27

Криворучко О.В., Канаан Х.М., Ковальов В.М.  
Хромато-мас-спектрометричний аналіз компонентного складу  
бурих водоростей *Padina pavonica* (L.) Gaill. і *Fucus vesiculosus* L..... 32

Льїна Т.В., Ковальова А.М., Горяча О.В.  
Хроматографічне дослідження фенолпропаноїдів трави *Galium carpathicum* Klok. .... 36

**Готові лікарські засоби**

Андрюкова Л.М., Фетисова О.Г., Сигенко Л.М.  
Оцінка величин дози препаратів-генериків українського виробництва  
та референтних препаратів – етап фармацевтичної розробки очних крапель ..... 40

**Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості**

Губаревич І.Г., Нікішина Л.Є., Комарова Ю.А., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.  
Розробка методики та нормування вмісту  
супровідних домішок у новій субстанції фенсукциналі ..... 45

Котов А.Г., Котова Е.Е., Хохленкова Н.В., Ярних Т.Г., Буряк М.В., Вовк О.Г.  
Порівняльний аналіз нормативної документації на сировину дуба кора..... 57

**Технологія лікарських засобів**

Алмакаєва Л.Г., Шевченко І.В., Алмакаєв М.С.  
Дослідження з розробки складу та технології ін'єкційного  
лікарського засобу на основі байкаліну й амінокислоти..... 61

Зборовська Т.В., Безчаснюк О.М., Губін Ю.І., Коваленко С.М.  
Технологія створення рідких лікарських засобів для орального  
застосування на основі солей цинку для застосування у педіатрії..... 65

- 
- Рецензенти: д.фарм.н. Алмакаєва Л.Г.; чл.-кор. НАНУ, д.фарм.н., професор Георгієвський В.П.; д.фарм.н., професор Загорій В.А.; к.фарм.н. Котов А.Г.; к.х.н Куликов А.Ю.; д.х.н., професор Литвиненко В.І.; д.б.н., професор Маслова Н.Ф.; к.мед.н. Чайка Л.О.
  - Випуск підготували: Саматов Р.С., Тихоненко Т.М., Тихоненко Н.І.
  - Рекомендовано до друку Вченою радою ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 4 від 19.07.10.
  - Підписано до друку 15.09.10. Тираж 500 прим.
-

**Фармакологічні дослідження***Маслова Н.Ф., Крамаренко О.О., Бомко Т.В., Шаломай А.С.*

Вплив Корвітину на деякі показники реології та системи гемостазу у тварин з експериментальним цукровим діабетом ..... 70

*Щокіна К.Г., Штриголь С.Ю., Іщенко О.М.*

Експериментальне вивчення фрігопротекторної дії рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіна-1 (APIL-1) ..... 76

**Організація діяльності фармацевтичних підприємств***Посилкіна О.В., Горбунова О.Ю.*

Впровадження комплексу стандартів логістичного обслуговування клієнтів промислових фармацевтичних підприємств в умовах менеджменту якості..... 82

*Світлична К.С., Посилкіна О.В.*

Побудова інтегрованої системи менеджменту на фармацевтичних підприємствах ..... 88

## Содержание

### **К введению в действие Государственной Фармакопеи Украины**

<i>Товмасын Е.К., Гризодуб А.И., Крупа Н.А., Матвиенко Т.Н., Югина И.И., Георгиевский В.П.</i> Монографии на готовые лекарственные средства Государственной Фармакопеи Украины .....	5
--	---

### **Фитохимические исследования**

<i>Котова Э.Э., Котов А.Г., Леонтьев Д.Д.</i> Применение метода ВЭТСХ для определения количественного содержания сесквитерпеноидов в корнях и корневищах <i>Inula helenium</i> L. ....	15
<i>Попова Н.В., Литвиненко В.И., Бовтенко В.А.</i> К вопросу стандартизации настойки стручкового перца .....	20
<i>Комиссаренко Н.Ф., Комиссаренко Н.А., Буняева Е.С.</i> Простейшие фурукумарины и их гликозиды некоторых видов рода псоралея .....	24
<i>Кошевой О.Н.</i> Исследование фенольных соединений спиртового экстракта из листьев <i>Eucalyptus viminalis</i> Labill. ....	27
<i>Криворучко Е.В., Канаан Х.М., Ковалев В.Н.</i> Хромато-масс-спектрометрический анализ компонентного состава бурых водорослей <i>Padina pavonica</i> (L.) Gaill. и <i>Fucus vesiculosus</i> L. ....	32
<i>Ильина Т.В., Ковалева А.М., Горячая О.В.</i> Хроматографическое исследование фенилпропаноидов травы <i>Galium carpaticum</i> Клок.....	36

### **Готовые лекарственные средства**

<i>Андрюкова Л.Н., Фетисова Е.Г., Сигенко Л.Н.</i> Оценка величин дозы препаратов-генериков украинского производства и референтных препаратов – этап фармацевтической разработки глазных капель .....	40
--	----

### **Стандартизация лекарственных средств и валидация методик контроля качества**

<i>Губаревич И.Г., Никишина Л.Е., Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.</i> Разработка методики и нормирование содержания сопутствующих примесей в новой субстанции фенсукцинала .....	45
<i>Котов А.Г., Котова Э.Э., Хохленкова Н.В., Ярных Т.Г., Буряк М.В., Вовк А.Г.</i> Сравнительный анализ нормативной документации на сырье дуба кора.....	57

### **Технология лекарственных средств**

<i>Алмакаева Л.Г., Шевченко И.В., Алмакаев М.С.</i> Исследование по разработке состава и технологии инъекционного лекарственного средства на основе байкалина и аминокислоты .....	61
<i>Зборовская Т.В., Безчаснюк Е.М., Губин Ю.И., Коваленко С.Н.</i> Технология создания жидких лекарственных средств для орального применения на основе солей цинка для применения в педиатрии .....	65

### **Фармакологические исследования**

<i>Маслова Н.Ф., Крамаренко Е.А., Бомко Т.В., Шаломай А.С.</i> Влияние Корвитина на некоторые показатели реологии и системы гемостаза у животных с экспериментальным сахарным диабетом.....	70
---	----

*Щекина Е.Г., Штрыголь С.Ю., Ищенко А.М.*

Экспериментальное изучение фригопротекторного действия  
рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 (АРИЛ-1)..... 76

**Организация деятельности фармацевтических предприятий**

*Посылкина О.В., Горбунова О.Ю.*

Внедрение комплекса стандартов логистического  
обслуживания клиентов промышленных фармацевтических  
предприятий в условиях менеджмента качества ..... 82

*Светличная К.С., Посылкина О.В.*

Построение интегрированной системы  
менеджмента на фармацевтических предприятиях ..... 88

## До запровадження Державної Фармакопеї України

УДК 615.2/.3:615.11(477)

Товмасян Е.К., Гризодуб А.И., Крупа Н.А., Матвиенко Т.Н., Юдина И.И.,  
Георгиевский В.П.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

### Монографии на готовые лекарственные средства Государственной Фармакопеи Украины

Показана актуальность введения в Государственную Фармакопею Украины монографий на готовые лекарственные средства (ГЛС). Представлены статус разрабатываемых монографий, их классификация и принципы выбора перечня исследуемых объектов. Разработан алгоритм создания монографий, описаны их структура и формат. Обсуждаются различия в подходах стандартизации ГЛС в ведущих Фармакопеях.

С 1 октября 2001 года в Украине введена в действие Государственная Фармакопея (ГФУ) [1-4], гармонизованная с Европейской Фармакопеей (ЕФ) [5], что соответствует курсу Украины на интеграцию в Европейский Союз. В настоящее время ГФУ 1-го издания представлена основным изданием (2001 год [1]) и Дополнениями (Дополнение 1.1 - 2004 год [2], Дополнение 1.2 - 2008 год [3] и Дополнение 1.3- 2010 год [4]). Фармацевтическое производство в Украине за эти годы претерпело значительные изменения, что приблизило переход отечественных производителей к обязательному выполнению требований надлежащей производственной практики (GMP). Неотъемлемой частью этого процесса стала ГФУ, которая способствует повышению качества отечественных лекарственных средств до европейского и мирового уровня, одновременно учитывая реальные возможности отечественных производителей.

До введения в действие Дополнения 1.2 ГФУ не содержала монографий на готовые лекарственные средства (ГЛС), а лишь устанавливала общие требования к дозированным лекарственным формам (раздел «Общие статьи на лекарственные формы», 29 статей). Начиная с Дополнения 1.2, принимая во внимание актуальность задачи, ГП «Украинский фармакопейный центр качества лекарственных средств» (далее Фармакопейный центр) приступил к разработке и введению в ГФУ монографий на ГЛС.

Целью данной работы является освещение актуальности введения в ГФУ монографий на ГЛС, представление их статуса, классификации, принципов составления перечня объектов исследования, алгоритма разработки монографий, их структуры и формата.

#### 1. Актуальность введения в ГФУ монографий на ГЛС

Как известно, ГФУ устанавливает единый минимальный уровень требований, которые

являются обязательными для всех предприятий и учреждений Украины, независимо от их формы собственности, изготавливающих, хранящих, контролирующих и реализующих лекарственные средства. Лекарственные препараты, ввозимые в Украину и выпускаемые отечественными производителями, должны выдерживать установленные ГФУ требования. Информация регистрационного досье на препарат, в котором, в частности, приводятся требования по контролю качества препарата, показатели качества и их регламентация, является конфиденциальной информацией. Разработка единого стандарта (с минимальными требованиями к качеству) на конкретный препарат и введение его в ГФУ — общедоступный законодательный документ — создает базу для:

- защиты отечественного рынка от некачественных препаратов (как отечественных, так и импортных);
- разработки нормативных документов по контролю качества препаратов, и особенно генериков, создаваемых отечественными производителями.

Одной из первоочередных задач ГФУ и особенно монографий на ГЛС является не подтверждение качества лекарственных средств конкретного производителя (для этого есть спецификация), а выявление лекарственных средств не соответствующих фармакопейным требованиям.

#### 2. Основа для создания монографий ГФУ на ГЛС

Концепция создания ГФУ основана на ее гармонизации с требованиями ЕФ [5]. Являясь наблюдателем в ЕФ, Украина получила разрешение использовать интеллектуальную собственность ЕФ, т.е. в качестве основы для разработки статей ГФУ использовать статьи ЕФ.

Это значительно облегчило процесс разработки четырех томов ГФУ 1-го издания.

В ЕФ нет статей на конкретные ГЛС (к ним можно отнести лишь монографии на вакцины и иммуносыворотки для применения человеком и отдельно для ветеринарии, препараты инсулина и некоторые другие биологические препараты), есть лишь общие статьи на дозированные формы. Во введении к ЕФ [5] приведены причины отказа ЕФ от разработки монографий на ГЛС.

- Спецификацию на конкретный препарат утверждает компетентный уполномоченный орган конкретной страны ЕФ, исходя из данных фармацевтической разработки и исследований по стабильности, а также национальных особенностей. Единая для всех стран ЕФ спецификация для дозированной формы конкретного действующего вещества в большинстве случаев неуместна.
- Спецификации на ГЛС зависят от факторов, связанных с конкретным составом. Единый и обязательный для всех стандарт качества ГЛС конкретного действующего вещества может в условиях многонациональной ЕФ затруднить процесс инновации и установления критериев приемлемости, которые чаще скорее условны, нежели необходимы.
- Процесс гармонизации и стандартизации фармацевтических препаратов привел ко включению в общие статьи на дозированные формы испытаний и требований, которые являются общими, универсальными для практически всех ГЛС. Общие статьи на дозированные формы и введенные испытания являются основой для разработки производителями регистрационной документации (спецификации), а компетентным уполномоченным органам - основой их оценки.
- Проблема использования стандартных образцов (стандартные образцы ЕФ предназначены, только для контроля субстанций, описанных в ЕФ) также решаема. Согласно общей статье ЕФ «5.12. Стандартные образцы», стандартные образцы ЕФ пригодны и для анализа ГЛС, если выполняются требования статьи (5.12).

Подход ЕФ (являющейся Фармакопеей большого количества высокоразвитых государств) в вопросе актуальности включения монографий на ГЛС не совсем приемлем для ГФУ, являющейся фармакопеей развивающегося государства в плане меняющейся нормативно-правовой базы контроля качества лекарственных средств.

Всемирно признанными законодателями стандартов качества ГЛС считаются USP [6] и

BP [7]. Монографии на ГЛС есть в Китайской [8] и Международной Фармакопее Всемирной организации здравоохранения [9]. Статьи на ГЛС были в ГФ X [10], но уже в ГФ XI [11, 12] они отсутствовали, в связи с распадом СССР и остановкой работ по созданию ГФ. По сути, стала не приемлема концепция стандартизации, реализованная в ГФ СССР относительно ГЛС: одна страна - одна общая для всех производителей технология производства ГЛС — одна единая для всех фармакопейная статья.

Отметим, что отечественные производители при разработке своих регистрационных досье на ГЛС используют монографии USP и BP. В то же время использование статей BP и USP при создании монографий ГФУ, которая, в отличие от регистрационных досье, методов контроля качества и спецификаций, является официальным, опубликованным, общедоступным изданием, без согласия администраций этих Фармакопей означает нарушение их авторских прав. Стратегия разработки же национальных монографий, не гармонизированных с USP и BP, является не целесообразной, поскольку:

- приведет к отклонению ГФУ от мирового фармакопейного процесса гармонизации и интеграции;
- снизит ценность таких монографий для отечественных производителей, работающих на экспорт;
- разработка монографий на ГЛС является весьма дорогостоящим процессом, поскольку требует разработки методик, их валидации, а также анализ большого количества образцов аналогичных препаратов разных производителей.

Анализируя ситуацию, можно сделать вывод, что наиболее приемлемый стратегический путь разработки и введения монографий на ГЛС в ГФУ — это гармонизация требований с USP и/или BP.

В этой связи Фармакопейным центром были проведены переговоры с USP. С 2009 года Фармакопейному центру, первому из уполномоченных органов стран СНГ, был предоставлен статус наблюдателя в Конвенции USP, а с 15.02.2010 — статус постоянного члена. 2 июня 2010 года подписан Договор между USP и Фармакопейным центром Украины о предоставлении Фармакопейному центру права переводить, копировать и адаптировать статьи USP с целью введения их в ГФУ. В настоящее время аналогичные переговоры ведутся и с администрацией BP.

Однако, получение разрешения от USP отнюдь не означает технический перевод моно-



графий на ГЛС USP для включения их в ГФУ. Любая монография на ГЛС опирается на соответствующие общие статьи на дозированные лекарственные формы, фармако-технологические испытания и методы анализа, а также на монографии на соответствующие субстанции и отражает фактический уровень производства и контроля качества отечественных производителей и системы государственного контроля.

В общем случае, методики контроля качества ГЛС должны быть гармонизованы с соответствующими методиками на субстанции (в противном случае трудно обеспечить совместимость показателей качества исходных субстанций и ГЛС). Стандартизация субстанции проводится соответствующими фармакопейными методами. Отметим, что большая часть (но не все) принципиальных фармакопейных требований и методов контроля лекарственных средств уже прошли или проходят процесс гармонизации в рамках работы Международной комиссии по гармонизации (ICH).

Поскольку идеология ВР основана на гармонизации с ЕФ, то все общие статьи и тексты, методы анализа, а также монографии на субстанции гармонизованы ВР с ЕФ, то есть подходы ГФУ совпадают с подходами ВР.

Идеология USP в ряде случаев кардинально отличается от подходов ЕФ и ВР, а, следовательно, и от ГФУ. Кроме того, использование методик конкретных Фармакопей требует и использования стандартных образцов этих Фармакопей, поскольку фармакопейные монографии валидированы именно для данных стандартных образцов.

Все эти проблемы требуют концептуальных решений в рамках научного направления «Готовые лекарственные средства» отдела ГФУ Фармакопейного центра.

### 3. ГЛС в Дополнении 1.2 и Дополнении 1.3 ГФУ

Начиная с Дополнения 1.2, в отдельный раздел ГФУ были введены 8 национальных монографий на ГЛС. Их выбор был основан на таких принципах:

- простые, широко распространенные составы жидких лекарственных форм для наружного применения, приготавливаемые как в производственных условиях, так и в условиях аптек: спиртовые растворы борной кислоты, йода, камфоры, салициловой кислоты;
- стерильные рассыпки антибиотиков для инъекции (цефазолин натрия для инъекций, цефтриаксон натрия для инъекций и цефотаксим натрия для инъекций) — препараты, максимально прослеживаемые к субстанциям;

— клопидогреля таблетки — в Фармакопейном центре накоплены экспериментальные данные по анализу и разработке НД на данную дозированную форму и есть разрешение от фирмы на включение материалов по контролю качества данного препарата в ГФУ.

В Дополнении 1.3 список монографий на ГЛС был пополнен еще 27 монографиями, выбор которых проведен исходя из:

- национального перечня основных лекарственных средств и изделий медицинского применения;
- перечня жизненно важных препаратов ВОЗ;
- номенклатуры крупнейших отечественных производителей;
- опыта разработки Фармакопейным центром методов контроля качества, спецификаций на конкретные ГЛС, анализа большого количества серий различных препаратов.

Все монографии на ГЛС ГФУ можно разделить на следующие типы:

- *Монографии на отечественные ГЛС.* Данные монографии разрабатываются для ГЛС, которые применяются только в Украине и в других странах СНГ (например, спиртовые растворы борной кислоты, камфоры, салициловой кислоты и др.). Методики контроля качества таких ГЛС прошли многолетнюю апробацию на предприятиях Украины и не вызывают сомнений.
- *Монографии, гармонизованные с ЕФ.* Данные монографии разрабатываются для ГЛС, которые по составу практически совпадают с субстанциями (например, стерильные рассыпки антибиотиков). Методики контроля качества таких ГЛС совпадают с методиками контроля субстанций. Некоторые трудности возникают с фармако-технологическими тестами и регламентацией содержания примесей.
- *Монографии, гармонизованные с USP.* Данные монографии разрабатываются на основе материалов USP.
- *Монографии смешанного типа.* Данные монографии разрабатываются с учетом требований на субстанции по монографиям ГФУ-ЕФ, часть требований по контролю качества ГЛС гармонизованы с USP или ВР или являются национальными. Подобные монографии позволяют максимально учесть национальные особенности Украины и в то же время использовать валидированные методики и установить международные стандарты качества. Отметим, что именно так и поступали в СССР. Это большая часть и наиболее приемлемая форма монографий ГФУ на ГЛС.

В этой классификации возможно также появление монографий, гармонизованных с ВР, в случае получения Фармакопейным центром разрешения на использование материалов ВР.

В настоящее время все статьи, введенные в ГФУ, опираются на соответствующие монографии ГФУ-ЕФ на субстанции и вспомогательные вещества. В Дополнении 1.2 заметна тенденция подбора объектов, максимально прослеживаемых к требованиям статей на субстанции. Однако данный подход, в значительной степени, исчерпал себя, поскольку в методиках контроля качества лишь незначительного количества ГЛС могут практически без изменений использоваться методики контроля качества соответствующих субстанций.

#### 4. Статус монографий ГФУ на ГЛС и алгоритм их разработки

Принцип разработки монографий на ГЛС в USP основан на тщательном анализе материалов, представленных производителями или заинтересованными сторонами. В некоторых случаях в лабораториях USP проводятся дополнительные необходимые исследования, например, апробация, валидация методик или разработка методов. Несмотря на то, что представление материалов производителями - процесс добровольный, после введения в действие монографии USP, ее требования становятся обязательными для всех лекарственных средств, зарегистрированных в США Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов (FDA). Следует отметить, что, поскольку в Украине, согласно Закону Украины «О лекарственных средствах» [13], ГФУ имеет законодательный характер, ее требования обязательны для всех предприятий и всех препаратов, зарегистрированных в Украине. Соответственно, статус монографий ГЛС такой же, т.е. их требования обязательны для всех предприятий-производителей ГЛС.

Исходя из опыта работы отдела ГФУ, сформулирован следующий алгоритм разработки монографий на ГЛС:

1. Обоснование выбора объекта исследования:

- анализ номенклатуры жизненно важных препаратов ВОЗ;
- анализ национальной номенклатуры основных лекарственных средств;
- анализ номенклатуры отечественных производителей;
- простота состава (в основном однокомпонентный состав, что предполагает и меньшее количество вспомогательных веществ).

2. Изучение и сравнительный анализ монографий ведущих Фармакопей (USP, ВР, Международной Фармакопей), а также доступных спецификаций производителей.

3. Изучение монографий ЕФ на субстанции, проверка их наличия в ГФУ или необходимость разработки/пересмотра.

4. Разработка проекта монографии ГФУ на ГЛС, учитывающего требования ведущих Фармакопей и национальные особенности Украины.

5. Валидация методик анализа.

6. Экспериментальное подтверждение соответствия требованиям проекта монографии.

7. Размещение на сайте Фармакопейного центра или публикация проектов монографий в журнале «Фармаком».

8. Рассмотрение, обсуждение полученных замечаний, согласование с заинтересованными сторонами.

9. Публикация монографии в ГФУ.

#### 5. Монографии на ГЛС USP, ВР и ГФУ

##### *5.1. Формат и структура монографий на ГЛС в ГФУ, их отличия от монографий на ГЛС ВР и USP*

Несмотря на многолетний процесс гармонизации Фармакопей, существуют немало принципиальных и второстепенных различий между ними. К числу несущественных различий можно отнести формат и стиль самих фармакопейных статей. Следует отметить, что процесс гармонизации никак не затрагивает этот аспект, поскольку мировые, не гармонизованные Фармакопей (например, USP, JP [14], Китайская [8]) имеют свою концепцию оптимальной структуры, формата и стиля.

USP в своем новом издании USP 33-NF 28 (действующем с 1 мая 2010 года по 30 апреля 2011 года) ввела новый формат частных монографий. Ниже приведены разделы и их последовательность в монографиях на ГЛС:

Название (на английском языке);

Определение (с указанием содержания действующего вещества)

Идентификация (испытания)

Количественное определение

Фармако-технологические испытания (например, для твердых дозированных форм: «Растворение», «Однородность дозированных единиц»; для оральных суспензий: «Однородность дозированных единиц», «Извлекаемый объем» и др.)

Специфические испытания (например, для инъекций: «рН»; «Механические включения», «Стерильность», «Бактериальные эндотокси-



ны»; для оральных суспензий: «рН», «Седиментация» и др.)

Дополнительные требования (например; «Упаковка и хранение»; «Маркировка»; USP - стандартный образец (название и ссылка) и др.)

ВР [7] гармонизирована с ЕФ, но имеет свою специфическую структуру и подход к стандартизации. Статьи, гармонизованные с ЕФ, полностью аналогичны соответствующим статьям ЕФ. Вводится своя нумерация статей на методы анализа (они представлены в разделе Приложения (Appendix) под своими номерами), большая часть статей имеет национальную часть, в которой приведены дополнительные требования, альтернативные методы анализа и др.

Структура монографий ВР на ГЛС:

Название (на английском языке)

Фармакологическое действие и применение

Определение (включая «Содержание действующего вещества», иногда и «Описание»)

Идентификация (испытания)

Испытания

Количественное определение

В необходимых случаях, аналогично монографиям на субстанции, вводятся разделы «Производство» и «Маркировка», которые, по требованиям статьи «Общие замечания», хотя и не являются исчерпывающими, но обязательны и призваны обратить внимание на наиболее важные моменты.

Специалисты отдела ГФУ в самом начале работ по созданию ГФУ совместно с широким кругом специалистов отечественной фармацевтической отрасли разработали формат и стиль статьи ГФУ - это гармонизованный с ЕФ адаптированный перевод соответствующей статьи ЕФ и национальная часть. Формат статей ГФУ в значительной степени аналогичен формату статей ВР. При создании монографий ГФУ на ГЛС был использован уже отработанный формат, используемый при разработке и оформлении монографий на субстанции. Это позволяет поддерживать единый формат и стиль всей ГФУ, а также дает возможность пользователю проследить связь препарата с соответствующей субстанцией. Отметим, что все статьи на ГЛС в Дополнениях 1.2 и 1.3 являются полностью национальными.

Одним из условий Соглашения Фармакопейного центра с USP является необходимость четко продемонстрировать прослеживаемость источника информации. В этой связи возникает необходимость разработки дизайна/формата/места ссылки. Вопрос усложняется тем фактом, что в рамках одного испытания могут быть модификации и отклонения от текста USP. Напри-

мер, в испытании «Растворение» условия проведения теста, прибор, время, нормирование могут быть основаны на требованиях USP, а пробоподготовка - национальная. В настоящее время ведется поиск оптимального решения данной проблемы.

Решено также при включении метода USP наряду с ГФУ-стандартом приводить ссылку на стандартный образец USP (USP RS), название которого дается на английском языке. На наш взгляд, введение названия на английском языке упрощает пользователю задачу поиска данного стандартного образца в каталоге стандартов USP при необходимости его покупки.

## 5.2. Разделы монографий на ГЛС ГФУ

Название. Приводится, как правило, международное непатентованное или традиционное (например, анальгин — вместо *метамизол натрия*; новокаин — вместо *прокаина гидрохлорид* и др.) название препарата на украинском, латинском и английском языках, как это принято в монографиях на субстанции. В отечественной фармакопейной практике и в нормативных документах предприятия также соблюдается подобный стиль, с той лишь разницей, что не приводится английское название. Английское название поддерживает связь ГФУ с ЕФ, USP или ВР.

Определение. Приводится не в формате ВР или USP, а в формате монографий на субстанции ГФУ, что позволяет сохранить единообразие формата и стиля. Дается определение препарата — название действующего вещества (во всех случаях) и в необходимых случаях указаны вспомогательные вещества (например: в растворах для инъекций/инфузий растворитель — вода для инъекций), состав (например: *камфорный спирт*: камфора рацемическая 10 г; спирт (70 % (об/об))).

Для того, чтобы не повторять в монографии на ГЛС общие требования на данную дозированную форму, приводится ссылка на соответствующую общую статью.

Содержание действующего вещества. В этой части монографии приводится информация о пределах содержания действующего вещества в ГЛС.

Вводная часть монографий на растворы может содержать также «Описание».

*В качестве примера:*

АНАЛЬГИНА РАСТВОР ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ<sup>N</sup>  
*Analgin solutio pro injectionibus*

### ANALGIN INJECTION

Анальгина раствор для инъекций является стерильным раствором метамизола натриевой соли в воде для инъекций.

Препарат должен соответствовать требованиям статьи «Лекарственные средства для парентерального применения» и приведенным ниже требованиям.

**Содержание метамизола натриевой соли ( $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S \cdot H_2O$ ).** Не менее 95.0 % и не более 105.0 % от номинального содержания.

**Описание.** Прозрачная, бесцветная или слегка желтоватая, или зеленовато-желтоватая жидкость.

Содержание действующего вещества в ГЛС зависит от дозированной формы, субстанции, ее концентрации, технологической специфики и требований надлежащей производственной практики (GMP). По требованиям GMP отклонение содержания действующего вещества в ГЛС на момент выпуска не должно превышать  $\pm 5\%$  от номинального. В общих статьях ГФУ на таблетки, капсулы, гранулы и порошки для орального и наружного применения в национальной части приведены требования по отклонениям содержания действующего вещества от номинального содержания. Как правило, для гранул, порошков для орального и наружного применения отклонение содержания допускается в пределах  $\pm 10\%$ , в то время как для таблеток и капсул (в зависимости от дозировки): при дозировке менее 1 мг —  $\pm 15\%$ ; от 1 мг до 10 мг —  $\pm 10\%$ , от 10 мг до 100 мг —  $\pm 7.5\%$ ; более 100 мг —  $\pm 5\%$ .

Исходя из опыта уже разработанных статей, можно проследить следующую закономерность: в USP, как правило, пределы более широкие и нередко несимметричные, в то время как в ВР — узкие и симметричные. Можно заметить, что для антибиотиков USP регламентирует нижний предел и расширяет верхний, поскольку для терапевтического эффекта препарата первоочередным является обеспечение доставки минимально эффективной дозы. Верхний предел в таких случаях не актуален, поскольку с экономической точки зрения ни один производитель не заложит большой избыток субстанции при условии, что хранение препарата не сопряжено с разложением субстанции. Запас верхнего предела в случае антибиотиков или витаминов необходим также для обеспечения надлежащего содержания действующего вещества в конце срока годности препарата.

Следует отметить, что вопрос о допусках содержания действующих веществ в дозированных ГЛС, который был столь актуальным в советское время и в отечественной фармакопейной практике в начале 90-х годов, в настоящее время практически потерял свою актуальность. Это связано с обязательным соответствием всех дозированных ГЛС требованиям ГФУ

по однородности содержания — общие статьи 2.9.6. *Однородность содержания действующего вещества в единице дозированного лекарственного средства* и 2.9.40. *Однородность дозированных единиц*. Если среднее (обычно из 20 единиц) содержание действующего вещества в ГЛС сильно отличается от номинального, то практически невозможно удовлетворить требования этих статей. Поэтому испытание «Количественное определение» в дозированных ГЛС все больше превращается в характеристику подлинности (как и в субстанциях). Учитывая это, целесообразным представляется подход USP, которая для большинства дозированных ГЛС устанавливает единые допуски:  $\pm 10\%$  от номинального содержания. Целесообразность введения данного подхода в ГФУ в настоящее время изучается.

#### Идентификация

Целью данного раздела обычно является не полная расшифровка состава препарата, а подтверждение подлинности действующих веществ, а также установление отличий от возможных близких по строению лекарственных соединений. Чаще всего используют известные химические реакции на действующее вещество, спектрофотометрические методы, ТСХ, ВЭЖХ, которые помимо идентификации используют также для определения количественного содержания или содержания сопутствующих примесей.

По концепции ЕФ и, соответственно, ГФУ одним из приоритетных методов подтверждения подлинности субстанций является абсорбционная спектрометрия в инфракрасной области (2.2.24). В монографиях на субстанции, где возможно или необходимо, подлинность подтверждают несколькими методами. ИК-спектрометрия входит в перечень «Первой идентификации», которую обычно используют во всех случаях. По требованиям Фармакопей тест допускается не проводить и ограничиться испытаниями «Второй идентификации» только в том случае, если данная серия субстанции, была раньше сертифицирована на соответствие всем требованиям монографии [4].

ВР [7] в большинстве случаев в монографиях на ГЛС вводит тесты, используемые для контроля субстанций. При проведении ИК-спектрометрии сравнивают спектр испытуемого образца препарата со стандартным спектром ФСО. Данный подход во многом эквивалентен методу, основанному на использовании удельного показателя поглощения, который широко используется в ВР вместо метода стандарта для количественного спектрофотометрического

определения. Применение стандартных спектров и удельного показателя поглощения предъявляет высокие требования к оборудованию и квалификации персонала.

В соответствии с идеологией USP и ГФУ, для количественного спектрофотометрического определения используют не метод с использованием удельного показателя поглощения, а метод стандарта. Метод стандарта предъявляет гораздо менее жесткие требования к оборудованию и квалификации персонала, чем метод на основе удельного показателя поглощения, и является поэтому более надежным при рутинном фармакопейном контроле качества. В соответствии с этой идеологией, в ГФУ и USP практически не используют стандартные спектры при проведении ИК-идентификации.

Вопрос о целесообразности создания банка стандартных спектров ГФУ находится пока на стадии обсуждения. *В настоящее время принципиальная позиция ГФУ по этому вопросу – сравнение со спектром ФСО.*

Для USP [6] характерно не использовать для идентификации ИК-спектрометрию действующего вещества (практически обязательную для субстанций) в монографиях на ГЛС, а подтверждать подлинность по основному пику на хроматограмме, полученной при количественном определении. На наш взгляд, подход USP в этом вопросе рационален и, соответственно, ИК-спектрометрию для подтверждения подлинности можно не проводить, если при контроле качества препарата используются хроматографические методы анализа. В этом случае в раздел, посвященный идентификации, вводится требование об одинаковости величин удерживания основного пика/пятна на хроматограмме испытуемого раствора и раствора сравнения в испытании на сопутствующие примеси или количественном определении.

Для идентификации ГЛС широко применяют также метод абсорбционной спектроскопии в ультрафиолетовой и видимой областях (2.2.25). ВР при введении данного метода в раздел «Идентификация» указывает области длин волн и длину волны максимума. Подход ГФУ состоит в применении метода стандарта - сравнение спектров поглощения испытуемого раствора и растворов стандартного образца (ГФУ 1.2 «2.2.25. Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимых областях» [3]).

#### Испытания

В этом разделе монографии приводится тот минимальный перечень испытаний, которые непременно следует провести. Здесь обычно

не указывают фармако-технологические испытания, которые требуются для данной дозированной формы, поскольку они описаны в соответствующей общей статье, на которую дается ссылка. Это испытания «Истираемость таблеток» и «Устойчивость таблеток к раздавливанию» для таблеток, испытания «Механические включения» и «Стерильность» для инъекций, «Микробиологическая чистота» для нестерильных ГЛС (отметим, что этот тест не приводится и для субстанций), однако их следует непременно проводить при контроле качества ГЛС.

В то же время некоторые испытания, несмотря на то что приведены в соответствующих общих статьях, указываются и в частных, например «*Однородность дозированных единиц*». Целью такого повтора является исключение возможности не проведения данного испытания. Возможно, в будущем исчезнет подобная необходимость. В Дополнениях 1.2 и 1.3 ГФУ данный тест вводился с указанием метода анализа (расчетно-весовой метод или метод прямого определения). Однако, поскольку в статье «2.9.40. *Однородность дозированных единиц*» (Таблица 2.9.40-1) четко указано, в каких случаях какой метод использовать, в Дополнении 1.4 и в последующих изданиях будет только введен тест и дано указание о соответствии требованиям общей статьи (со ссылкой).

Например:

«Однородность дозированных единиц (2.9.40). Выдерживает требования.»

Чаще всего данный тест не вводится в монографию ВР [7], если препарат выпускается как в однодозовой, так и в многодозовой упаковке.

Данное испытание вводится в частные монографии на ГЛС USP с указанием метода проведения испытания по однородности (т.е. расчетно-весовой метод или метод прямого определения). Общая статья USP <905> «*Uniformity of dosage units*» гармонизована с ЕФ и, следовательно данное испытание, приведенное в ГФУ, соответствует этим требованиям. Примечательно, что по требованиям статьи на однородность допускается применение разных методов количественного определения действующего вещества в препарате и однородности, поэтому в большинстве случаев в этом разделе не описывается процесс определения. Но в особых случаях, в USP приводится и эта информация, что, на наш взгляд, очень разумно. В обоснованных случаях мы планируем также вводить подобную информацию.

Тест *Растворение* для твердых дозированных лекарственных форм (ТДЛФ) также мож-



но отнести к числу испытаний, которые обязательны в соответствии с требованиями общих статей. Применение теста «Растворение» для характеристики качества ТДЛФ основано на предположении, что после перехода в раствор фармакологические свойства этих препаратов определяются только характеристиками самой активной субстанции. Поэтому стандартизация степени (т.е., фактически скорости) растворения активного вещества в тесте «Растворение» позволяет в значительной степени стандартизовать и биодоступность этих ТДЛФ. Тест «Растворение» - важная часть изучения стабильности ТДЛФ во время разработки препарата, контроля качества и пострегистрационных изменений. После регистрации препарата для рутинного контроля качества различных серий препарата обычно используется уже разработанная методика растворения с четко оговоренными условиями проведения испытания и нормированием, что гарантирует воспроизводимость полученных результатов в процессе производства препарата от серии к серии, стабильность препарата в течение установленного срока годности и качество конечного продукта относительно базовых, стандартизованных серий.

В монографиях ВР на ГЛС испытание на растворение предполагается, исходя из требования общей статьи на лекарственную форму, однако сам тест и, соответственно, детали проведения испытания приводятся не всегда.

В USP в монографиях на ГЛС приводится тест с информацией о приборе, скорости вращения, среде растворения, времени растворения, методе определения и нормирование. В определенных случаях указываются альтернативы проведения испытания.

Поскольку требования по регламентации, приведенные в соответствующей статье ЕФ, ВР и ГФУ «2.9.3. Тест «Растворения» для твердых дозированных форм», в целом, гармонизованы с USP <711> *Dissolution* [6], то можно считать приемлемым подход ГФУ: гармонизовать испытание на конкретный препарат с USP.

По требованиям национальной части общей статьи «Лекарственные средства для парентерального применения» [3] следует проводить испытание «Цветность». Наши исследования привели к выводу, что в монографии ГФУ на ГЛС не целесообразно вводить это испытание, поскольку препарат с аналогичными фармакологическими свойствами и характеристиками в зависимости от введенных в состав вспомогательных веществ будет иметь разные показатели цветности. Информация о цветности инъекционных растворов иногда приводится

в монографиях ВР (например, в статье на бета-метазона раствор для инъекций и др.).

*Сопутствующие примеси.* Как правило, это одно из обязательных испытаний, как для субстанций, так и для ГЛС. Подход USP - не всегда вводить испытание на сопутствующие примеси в монографии на ГЛС. Их контроль в субстанции и количественное определение действующих веществ в ГЛС считаются достаточными для гарантии качества препарата. В ВР непременно проводится контроль примесей как в субстанции, так и в ГЛС.

В соответствии с требованиями общих статей ГФУ-ЕФ «5.10. Контроль примесей в субстанциях для фармацевтического применения» и «Субстанции для фармацевтического применения» [2, 4], испытание на сопутствующие примеси является обязательным при контроле качества субстанций. В соответствии с отечественной практикой, контроль сопутствующих примесей является обязательным и для ГЛС, однако акценты здесь смещаются. Общий принцип — в ГЛС технологические примеси субстанции не контролируют, а контролируют лишь продукты деградации. Это связано с тем, что технологические примеси не могут накапливаться при хранении, и их количество не может превышать требований, установленных для субстанций. Однако в ГЛС могут контролироваться фармакологически опасные или сигнальные (свидетельствующие о нефармакопейном качестве исходных субстанций) технологические примеси. Примером является контроль правовращающего изомера в таблетках клопидогреля [3].

*Количественное определение.* Данный раздел контролирует содержание действующего вещества/веществ в ГЛС. Как уже упоминалось выше, для дозированных ГЛС количественное определение в настоящее время все более приобретает характер подлинности. Причиной этого является испытание на однородность содержания, которое дает больше информации, чем количественное определение из 20 дозированных единиц (по ГФУ). Однако, в любом случае это один из важнейших (если не важнейший) раздел монографии на ГЛС.

При выборе метода количественного определения существуют два подхода, которые можно условно назвать «американским» и «британским» (по названиям Фармакопей, где они наиболее последовательно применяются).

«Американский» подход заключается в использовании селективного метода количественного определения (обычно ВЭЖХ). При этом сопутствующие примеси обычно не контроли-

руют, поскольку в различных ГЛС содержатся разные вспомогательные вещества, способные помешать определению примесей.

«Британский» подход заключается в использовании неселективного метода количественного определения (чаще всего спектрофотометрии) и контроле сопутствующих примесей. Недостаточная селективность метода количественного определения компенсируется контролем примесей.

Типичным примером применения «американского» и «британского» подходов являются монографии на таблетки парацетамола в ВР и соответствующие им таблетки ацетаминофена в USP. В ВР количественное определение проводится неселективным спектрофотометрическим методом с использованием удельного показателя поглощения. Параллельно проводится контроль сопутствующих примесей методом ВЭЖХ. В USP количественное определение проводится селективным методом ВЭЖХ, но примеси не контролируются.

Оба подхода имеют свои недостатки и преимущества (хотя в данном случае «британский» подход выглядит предпочтительнее за счет использования ВЭЖХ для контроля примесей). Основным преимуществом «американского» подхода является более широкая область применения, поскольку достаточно трудно подобрать методику контроля примесей, которая была бы применима для всех ГЛС, находящихся на рынке (вспомогательные вещества могут мешать определению). С другой стороны, «британский» подход гораздо более информативный, поскольку контролирует продукты разложения. Учитывая это, во многих случаях имеет место сочетание обоих подходов. Так, для таблеток ацетилсалициловой кислоты (аспирина по USP) USP подкрепляет ВЭЖХ-количественное определение контролем содержания салициловой кислоты этим же методом. ВР при контроле качества субстанции сопутствующие примеси контролирует методом ВЭЖХ, а в таблетках уже ограничивается лишь цветной реакцией на салициловую кислоту, а количественное определение, как для субстанции, так и для таблеток проводит титрованием. В отечественной практике принято проводить количественное определение при контроле качества таблеток ацетилсалициловой кислоты методом спектрофотометрии (в субстанции - титрование), а салициловой кислоты — цветной реакцией (в субстанции - ВЭЖХ).

Для ГФУ предпочтительнее комбинация обоих подходов. В случае инъекций контроль примесей является обязательным. В качестве

метода количественного определения во всех случаях предпочтительнее специфичная ВЭЖХ. В случае мягких лекарственных средств предпочтителен подход USP, поскольку наличие ряда вспомогательных веществ может значительно повлиять на объективный результат испытания на сопутствующие примеси.

*Маркировка.* Статус данного раздела в монографиях ГФУ определен в статье «Общие замечания», т.е. «Маркировка является предметом национальных и наднациональных законодательств, а также международных соглашений. Таким образом, информация в разделе "Маркировка" не претендует на полноту. Она ориентирована прежде всего на фармакопейные цели, и обязательными являются только те положения, которые необходимы для подтверждения соответствия продукта монографии. Вся остальная информация носит рекомендательный характер» [3].

В монографиях на ГЛС раздел «Маркировка» вводится, только в тех случаях, когда необходимо указать;

- жизненно важную информацию: Например в монографии «*Натрия хлорида раствор для инъекций или инфузий, 9 мг/мл*»: «Если препарат предназначен для инфузий, требуется указывать осмолярность в миллиосмолах на литр». Данная информация необходима для расчета терапевтической дозы.
- специфическое применение: в монографиях на спиртовые растворы камфоры, йода, салициловой кислоты и др.: «Препарат предназначен для наружного применения».

Принципиальным является подход USP относительно маркировки некоторых таблеток с модифицированным высвобождением. Например: для таблеток карбамазепина в монографию вводится требование о необходимости указывать в маркировке время растворения и метод определения. Как было выяснено в USP, подобная информация в маркировке приводится для контролируемых органов, и указывает на то, что препарат, обладая аналогичным качеством и фармакологическими характеристиками, может иметь иные показатели растворения.

ВР в монографиях на ГЛС приведено фармакологическое действие препарата. В ГФУ принято решение не вводить эту информацию, поскольку фармакологические характеристики препаратов находится вне зоны фармакопейных компетенции и задач.

#### Выводы

Таким образом, разработка монографий на ГЛС в настоящее время является одной из приоритетных задач отдела ГФУ Фармакопей-

ного центра. Уже разработаны 74 монографии на ГЛС, 33 из которых введены в действие, а 42 (41 новая и 1 пересмотренная статьи) будут введены в Дополнение 4. Продолжается работа по выбору новых объектов исследования, изучаются подходы к стандартизации конкретных препаратов. Успешной работе над разработкой фармакопейных монографий на ГЛС способствует поддержка и критическая оценка отечественных производителей. Все проекты монографий на ГЛС размещаются на сайте Фармакопейного центра. В отделе ГФУ тщательно рассматриваются все замечания, предложения и вносятся соответствующие правки в проекты монографий.

Международное сотрудничество с ведущими Фармакопеями (ЕФ, USP и ВР) позволяют осуществлять государственную программу по интеграции Украины в ЕС и развивать национальную нормативную базу.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — 556 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — Доповнення 1. - 2004. - 520 с.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — Доповнення 2. - 2008. - 620 с.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 1-е вид. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — Доповнення 3. - 2009. - 280 с.
5. European Pharmacopoeia. - 7<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2010. — Vol 1, Vol. 2.
6. The United States Pharmacopoeia-The National Formulary. USP33-NF28. - The United States Pharmacopoeial Convention, Rockville. -2010.
7. British Pharmacopoeia. — London, 2009.
8. Pharmacopoeia of The People's Republic of China. — Beijing: Chemical industry press, 2000.
9. The International Pharmacopoeia. - 4<sup>th</sup> ed. - Geneva: World Health Organization, 2006.
10. Государственная Фармакопея СССР/ 10-е изд. - Москва, «Медицина», 1968. — 1079 с.
11. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1987. — 336 с.
12. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.
13. Закон України "Про лікарські засоби" // Відомості Верховної Ради України. - 1996 - № 22; 1997. - № 15; 1999 - № 34.
14. The Japanese Pharmacopoeia. - 14<sup>th</sup> ed.

#### Резюме

Товмасян Є.К., Гризодуб О.І., Крупа Н.О., Матвієнко Т.М., Юдіна І.І., Георгієвський В.П.

#### Монографії на готові лікарські засоби Державної Фармакопеї України

Показано актуальність введення до Державної Фармакопеї України монографій на готові лікарські засоби (ГЛЗ).

Представлено статус монографій, що розробляються, їх класифікація та принципи вибору переліку досліджуваних об'єктів. Розроблено алгоритм створення монографій, описано їх структуру та формат. Обговорюються відмінності у підходах стандартизації ГЛЗ у провідних Фармакопеях.

#### Summary

Tovmasyan E.K., Gryzodub A.I., Krupa N.A., Matvienko T.N., Yudina I.I., Georgievskiy V.P.

#### Monographs for preparations in the State Pharmacopoeia of Ukraine

The necessity of the introduction to the state Pharmacopoeia of Ukraine of the monograph to the preparations was shown. The status of developing monographs, their classification and principles of the compelling of the list of studied objects were shown. The algorithm of monographs development, their structure and format were elaborated. The differences of approaches to the standardisation of preparations in leading pharmacopoeias were discussed.

**Товмасян Ерануи Карпетовна.** Окончила Ереванский государственный университет (1984). К.б.н. Ст. науч. сотр. (2006). Руководитель научных направлений «Общие статьи на дозированные лекарственные средства и фармако-технологические испытания» и «Общие статьи и монографии на биологические продукты» отдела ГФУ ГП УНФЦКЛС. Ученый секретарь ГП УНФЦКЛС.

**Гризодуб Александр Иванович** (р. 1948). Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Директор ГП УНФЦКЛС (с 2005). Д.х.н. (1990). Профессор (1996). Член Международной ассоциации официальных аналитических химиков (1997). Член Международной федерации фармацевтов (2004). Член Научного Совета НАН Украины по проблеме «Аналитическая химия» (2004).

**Крупа Наталья Александровна.** Окончила Харьковский государственный университет им. А.М. Горького (1978). Начальник отдела стандартизации лекарственных средств ГП УНФЦКЛС.

**Матвиенко Татьяна Никитична.** Окончила Харьковский государственный университет им. А.М. Горького (1973). Главный специалист отдела стандартизации лекарственных средств ГП УНФЦКЛС.

**Юдина Ирина Ивановна.** Окончила харьковский государственный фармацевтический институт (1977). Главный специалист отдела стандартизации лекарственных средств ГП УНФЦКЛС.

**Георгієвський Віктор Петрович** (р. 1937). Окончил фармацевтическое отделение 1-го Московского медицинского института (1959). Д.фарм.н. (1980). Профессор (1983). Чл.-корр. НАН Украины (2003). Засл. деятель науки и техники Украины (1991). Главный научный консультант ГП УНФЦКЛС. Главный редактор журнала «Фармаком».



**Фітохімічні дослідження**

УДК 615.07:543.544.74]:582.998.1

Котова Э.Э., Котов А.Г., Леонтьев Д.Д.

Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств»

**Применение метода ВЭТСХ для определения количественного содержания сесквитерпеноидов в корнях и корневищах *Inula helenium* L.**

Разработана методика определения сесквитерпеноидов в корнях и корневищах *Inula helenium* L. методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ), изучены валидационные характеристики методики. Показана перспективность использования метода ВЭТСХ при разработке и усовершенствовании методик как количественной оценки, так и идентификации биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье.

Среди современных хроматографических методов, в значительной мере способствовавших развитию анализа органических и биоорганических соединений и совершенствованию способов препаративного разделения, заметное место занимает тонкослойная хроматография (ТСХ) [1]. Несмотря на другие доступные аналитические методы, такие как газовая хроматография (ГХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), ТСХ все еще остается полезным, быстрым, эффективным и дешевым методом разделения, идентификации, а в некоторых случаях и определения количественного содержания, сложных смесей биологически активных соединений из растительного сырья и компонентов растения [2, 3, 4].

Из-за высоких требований к аналитическим исследованиям, анализу и стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС), тонкослойная хроматография (ТСХ), приобретает несомненную важность. Так, Европейская Фармакопея в качестве обязательного теста для идентификации ЛРС, наряду с описанием макро и микроскопических характеристик, требует изучения хроматографического профиля характерных биологически активных веществ (БАВ) сырья методом ТСХ [5, 6].

Однако, учитывая современные требования к представлению полученных результатов исследований, подтверждающих их достоверность, становится очевидной проблема, связанная с объективной процедурой сохранения ТСХ-хроматограмм, возможностью их сравнения с имеющимися в литературе и собственными данными, а также возможностью количественной оценки разделенных в процессе хроматографирования исследуемых зон, что было невозможно из-за отсутствия специального оборудования [21-23].

Цифровые технологии фотосъемки и редактирования хроматограмм в мире развиваются с

необычайной скоростью. Существуют фирмы («Camag», «Shimadzu» и др.), которые специализируются на разработке лабораторного оборудования для тонкослойной хроматографии, начиная от автосамплеров для нанесения проб и заканчивая денситометрами с программным обеспечением для компьютерной обработки хроматограмм и выдачей результатов в виде качественной и объективной картинки исследуемого объекта, а также количественной оценки компонентов (в случае определения количественного содержания) [7].

В настоящее время метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) с использованием оборудования фирмы CAMAG позволяет решить весь комплекс валидационных исследований, обязательных при разработке и введении в нормативную документацию методик определения количественного содержания БАВ [8].

Целью данной работы явилась разработка метода определения количественного содержания суммы сесквитерпеновых лактонов в корневищах и корнях девясила высоким методом ВЭТСХ с использованием оборудования фирмы CAMAG.

Широкое применение девясила высокого (*Inula helenium* L. сем. *Asteraceae*) как в народной, так и в официальной медицине обусловлено разнообразием его химического состава. Основное действие, благодаря которому девясил высокий применяется в народной медицине, - отхаркивающее. Присущи экстракту девясила также и кардиотонический, коронарорасширяющий, спазмолитический, антиаритмический и гипотензивный терапевтический эффекты [9].

В корневищах и корнях этого растения находится эфирное масло, содержание которого достигает 5 % [10], в состав масла входит смесь

сесквитерпеновых лактонов типа эвдесмана (селинана). Основными компонентами этой смеси являются алантолактон ((0.5-2.02) %), изоалантолактон ((0.99-2.73) %) и их гидрированные производные - дигидроалантолактон, дигидроизоалантолактон, тетрагидроаланто-лактон и др. [11]. Кроме того, в подземных органах девясила содержится до 40 % инулина [12].

Сумма сесквитерпеновых лактонов девясила являлась действующим началом препарата «Алантон», широко применяемого в конце 90-х годов XX столетия при лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки [13].

Нормативным документом, до сегодняшнего дня регламентирующим качество корневищ с корнями девясила остается статья в ГФ XI. В данном документе отсутствует идентификация с помощью метода ТСХ, а также методика определения количественного содержания основных действующих веществ [14].

В 70-80 годы XX столетия было предложено достаточно много различных методик определения сесквитерпеновых лактонов — это методы ГХ, полярографии, ВЭЖХ, СФ-метод. Каждый метод имел свою специфику, однако корреляции между ними практически не наблюдалось. Так, например, разница между определением методом ГХ и СФ составляла иногда 1.5-2 раза [15-17].

Нами ранее была разработана экспресс-методика определения количественного содержания сесквитерпеновых лактонов в подземных и наземных органах девясила высокого, полупродуктах и конечном продукте в процессе производства препарата «Алантон» с помощью метода ТСХ [18]. В процессе разработки данной методики были выбраны оптимальные хроматографические условия разделения основных компонентов суммы лактонов сырья (алантолактона, дигидроалантолактона, изоалантолактона и дигидроизоалантолактона), подобраны условия проявления хроматограмм, определен предел чувствительности методики, наработан стандартный образец (СО) изоалантолактона [19, 20]. Количественное содержание лактонов оценивалось визуальным способом путем сравнения интенсивности окраски зон на хроматограммах испытуемых растворов и растворов СО, без использования какого-либо оборудования, что не позволило провести необходимый комплекс валидационных исследований.

В связи с этим очевидной представляется перспективность использования современного оборудования фирмы САМАГ при разработке методик ВЭТСХ, и как частный случай, методи-

ки определения сесквитерпеновых лактонов в корневищах и корнях девясила.

*ВЭТСХ-методика определения количественного содержания сесквитерпеновых лактонов в корнях девясила*

*Приготовление раствора стандарта:* спиртовой 0.25 мг/мл раствор СО изоалантолактона (99 %).

*Приготовление испытуемого раствора:* 0.2 г измельченного сырья корней девясила, просеянного сквозь сито 315 нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин с 20 мл метанола. После охлаждения содержимое фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 25 мл, промывают шрот и фильтр 5 мл метанола, собирая промывные сливы в ту же мерную колбу, и доводят метанолом до метки.

*Хроматографическая пластина:* НРТLC plates silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck), размером 20 см × 10 см.

*Нанесение образца:* полосами с использованием Linomat 5, длина полосы — 10 мм, 9 треков, дистанция между треками -18.7 мм, дистанция от низа пластины — 10 мм, скорость нанесения — 150 нл/с, наносимые объемы - по 10 мкл, 15 мкл испытуемого раствора и от 5 мкл до 25 мкл раствора стандарта.

*Хроматографирование:* в дwoжелобковой камере 20 см × 10 см после 30 мин насыщения в смеси растворителей бензол - этилацетат - метанол (97:2.5:0.5). Пробег — 8 см от линии нанесения образцов. Затем пластину высушивают на воздухе в течение 15 мин.

*После-хроматографическая дериватизация:* обпыскивание 2 % раствором ванилина в 10 % растворе кислоты серной в спирте (50 % об/об) (15 мл раствора на пластину), затем нагревание пластины при температуре 120 °С в течение 10 мин.

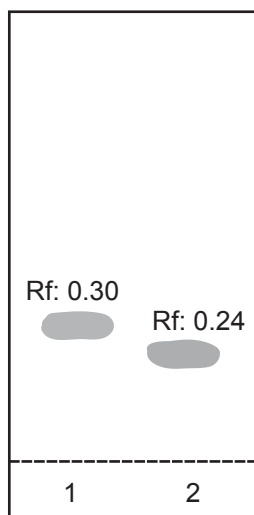
*Денситометрия:* измерение поглощения при длине волны 620 нм на TLC Scanner 3 и обработка результатов с использованием программного обеспечения winCATS, обсчет с помощью полиномиальной калибровки площади пиков.

*Результаты исследований и их обсуждение*

В ходе исследований показана удовлетворительная селективность методики, которая позволяет разделить изо- и дигидроизопроизводные алантолактона. В ходе разработки методики были выбраны условия хроматографирования, которые позволили четко разделить указанные БАВ девясила (на Рис. 1 приведена хроматограмма растворов СО изоалантолакто-

на (1) и дигидроизоалантолактона (2)). На Рис. 2 приведена денситограмма испытуемого раствора девясила, полученная в условиях разработанной методики, на которой видно четкое разделение пика изоалантолактона от пика дигидроизоалантолактона, что можно использовать в качестве теста на пригодность хроматографической системы.

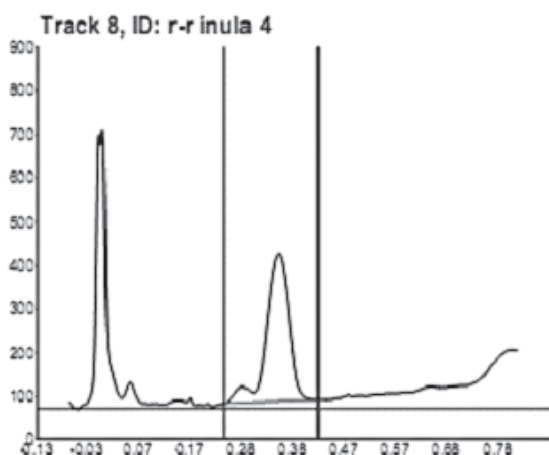
Рисунок 1



Хроматограмма растворов СО изоалантолактона (1) и дигидроизоалантолактона (2)

Предварительная оценка полученных денситограмм методом внутренней нормализации на содержание суммы дигидропроизводных алантолактона (от 7 % до 10 % от общего

Рисунок 2



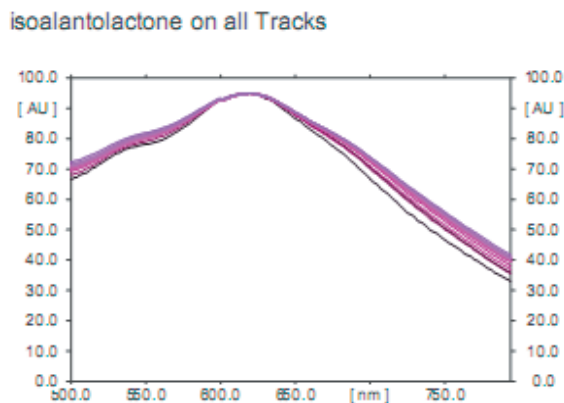
Peak	Start Rf	Start Height	Max Rf	Max Height	Max %	End Rf	End Height	Area	Area %
1	0.24	0.2	0.28	37.1	9.86	0.30	21.2	1002.3	7.06
2	0.30	21.4	0.35	339.5	90.14	0.42	0.0	13204.5	92.94

Денситограммы испытуемого раствора девясила, полученные в условиях разработанной методики  
1 пик — дигидроалантолактон, 2 пик — изоалантолактон.

содержания изоалантолактонов) подтвердила литературные данные о преобладающем содержании изоалантолактона среди сесквитерпеноидов девясила и позволила сделать вывод о возможности определения количественного содержания изоалантолактона, как доминантного компонента данного класса соединений в девяселе.

Чистота пика изоалантолактона на хроматограмме испытуемых растворов была подтверждена сравнением спектров поглощения пиков на хроматограммах растворов стандарта и испытуемых растворов. На Рис. 3 четко видно, что на всех треках идентифицирован изоалантолактон с максимумом поглощения при длине волны 620 нм.

Рисунок 3

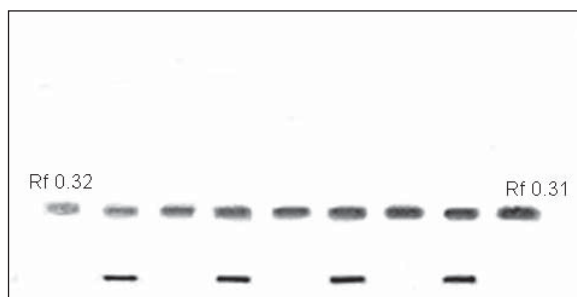


УФ-спектры зоны изоалантолактона, полученные при денситометрировании хроматограмм

### испытуемых растворов девясила и растворов СО изоалантолактона

Робасность методики изучали, контролируя значения  $R_f$  зоны изоалантолактона на пластине при нанесении как свежеприготовленных растворов, так и выдержанных в течение определенного времени, а также контролируя значения  $R_f$  зоны изоалантолактона свеженанесенных проб и проб, выдержанных на пластинке. В обоих случаях наблюдалась удовлетворительная стабильность положения зоны изоалантолактона, что, в свою очередь, подтверждало робастность методики.

Рисунок 4



**Устойчивость хроматографической системы (оценка по варьированию значений  $R_f$  на одной пластине)**

При изучении линейности методики для построения калибровочной кривой зависимости площади пика изоалантолактона от его концентрации в растворе были использованы 5 наносимых концентраций - от 1.24 мкг до 6.18 мкг; полученная при этом полиномиальная кривая имела удовлетворительные характеристики (Рис. 5).

Как видно из Рис. 5, получены удовлетворительные характеристики зависимости, а именно коэффициент корреляции ( $r$ ) равный 0.99953 и относительное стандартное отклонение ( $sdv$ ) 1.59.

Прецизионность методики оценивали:

— контролируя варьирование значения  $R_f$  зоны изоалантолактона на различных пластинках

Таблица 1

#### Прецизионность значений $R_f$ зоны изоалантолактона на различных пластинках и в различные дни

Зона	1	2	3	4	5	6	7	Среднее	RSD %	$\Delta R_f$
изоалантолактон	0.31	0.33	0.30	0.32	0.34	0.32	0.31	0.32	3.90	0.04

Таблица 2

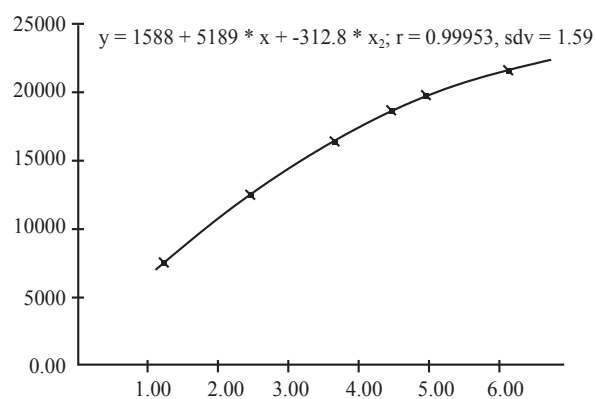
#### Прецизионность результатов количественного определения содержания изоалантолактона в одной серии сырья

	1	2	3	4	5	6	Среднее	RSD, %
содержание изоалантолактона в девясила, в процентах, серия 121109	2.99	2.98	2.91	2.94	2.96	3.00	2.96	1.18

и в различные дни (intermediate precision), при этом критерием приемлемости являлось варьирование значений не более чем на 0.05 [8] (результаты приведены в Табл. 1);

— по относительному стандартному отклонению результатов количественного определения изоалантолактона, полученных из 6 параллельных определений (включая различные аликвоты испытуемого раствора и различные пробоподготовки испытуемых растворов). Результаты приведены в Табл. 2.

Рисунок 5



**График зависимости площади пика от концентрации изоалантолактона и параметры уравнения регрессии, полученные при изучении линейности методики**

Правильность методики оценивали методом введено/найдено. К одинаковым навескам сырья, в котором предварительно определили содержание изоалантолактона, прибавляли три разных уровня концентраций СО изоалантолактона (45 %, 100 % и 150 %), проводили экстракцию и затем по методике определяли содержание изоалантолактона во всех образцах. Результаты приведены в Табл. 3.

#### Выводы

Разработана методика определения суммы лактонов в корнях и корневищах девясила методом ВЭТСХ. Изучены валидационные харак-



теристики методики, підтверджуючі її надійність і достовірність.

Показана перспективність використання методу ВЭТСХ при розробці і удосконаленні методик як кількісної оцінки, так і ідентифікації БАВ лікарсько-рослинного сировини, в частині девясилу високого.

ЛИТЕРАТУРА

- Шталь Э. Хроматография в тонком слое. - М.: Мир, 1965. - 508 с.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Доповнення 2. - Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. - 620 с.
- British Pharmacopoeia. - London: HMSO, 2001. - Vol. 1. - 1348 p.
- Schafgarbenkraut // Deutsches Arzneibuch. - Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1997.
- European Pharmacopoeia. - 7<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2010.
- Guide for the elaboration of monographs on herbal drugs and herbal drug preparations. - EDQM, 2007. - 22 p.
- Catalog Instrumental Thin-Layer Chromatography - Режим доступу: <http://www.camag.com>.
- Eike Reich, Anne Schibli. High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants. - New York: Thieme, 2006 - 264 с.
- Игнатович В.А. Исследование корней *Inula helenium*, произрастающей в горных местностях Казахстана / В.А. Игнатович // Науч. изв. Каз. мед. ин-та. - 1941. - № 8. - С. 132-138.
- Кількісне визначення сесквітерпенових лактонов девясилу високого методом газ-рідкої хроматографії / Росик Г.Г., Зинченко А.А., Резниченко А.А., Ковалев І.П. // Хім.-фармац. журн. - 1987. - Т. 21, № 5. - С. 632-634.
- Способ получения сесквітерпенових лактонов: А.с. 1498015 СССР, МКИ 35/78 / П.П. Хворост, П.П. Ветров, А.Г. Котов. - Публикації не підлягає. - 8 с.
- Bell D.J. Structural studies on inulin from *Inula helenium* and on leaves from *Dactylis glomerata* and *Lodium italicum* / D.J. Bell, A. Palmer // J. Chem. Soc. - 1952. - P. 3763-3770.
- Способ получения противоязвенного препарата «Алантон»: А.с. 1103394 СССР, МКИ 35/78 / П.П. Хворост, В.В. Зинченко, Н.Ф. Комиссаренко и др. - Публикації не підлягає.
- Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. - 11-е изд., доп. - М.: Медицина, 1989. - 400 с.

- Парофазное гидрирование в ГЖХ-анализе сесквітерпенових лактонов эвдесманового ряда / Г.Г. Росик, А.Г. Котов, В.И. Бескаравайный и др. // Химия природных соединений. - 1991. - № 6. - С. 797-801.
- Сесквітерпенові лактони оману високого та їх властивості / Котов А.Г., Сіренко Л.Я., Хворост П.П. и др. // Фармац. журн. - 1988. - № 1. - С. 52-55.
- Рыбаченко А.И. Подход к стандартизации растительного сырья при производстве фитохимических лекарственных препаратов / А.И. Рыбаченко // Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. / Под ред. В.П. Георгиевского и Ф.А. Конева. - ООО «РИРЕГ», 1996. - С. 233-249.
- Котов А.Г. Применение метода тонкослойной хроматографии для определения сесквітерпеновых лактонов девясилу / А.Г. Котов, П.П. Хворост // Тез. докл. II съезда фармацевтов Грузии. - Тбилиси, 1987. - С. 98.
- Котов А.Г. Терпеноїди та фенілпропаноїди деяких видів родини Asteraceae: Автореф. дис. ... к.фарм.н. - Харків, 1996.
- Способ получения изоалантолактона: А.с. 1476652, СССР, МКИ А 61 К 35/78 / А.Г. Котов, П.П. Хворост, В.В. Зинченко. - Публикації не підлягає. - 6 с.
- Кемертелидзе Э.П. Физико-химические методы анализа некоторых биологически активных веществ растительного происхождения / Э.П. Кемертелидзе, В.П. Георгиевский. - Тбилиси: Мецниереба, 1977. - 222 с.
- Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидных соединений / Георгиевский В.П., Рыбаченко А.И., Казаринов А.А., Козаков А.А. - Ростов-на-Дону: Изд-во РГУ, 1988. - 143 с.
- Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комиссаренко, С.Е. Дмитрук. - Новосибирск: Наука, 1990. - 332 с.

Резюме

Котова Е.Е., Котов А.Г., Леонтьев Д.Д.

**Застосування методу ВЕТШХ для визначення кількісного вмісту сесквітерпеноїдів у коренях і кореневищах *Inula helenium* L.**

Розроблено методику визначення сесквітерпеноїдів у коренях і кореневищах *Inula helenium* L. методом вискоєфективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ). Вивчено валідаційні характеристики методики. Показано перспективність використання методу ВЕТШХ при розробці й удосконаленні методик як кількісної оцінки, так і ідентифікації біологічно активних речовин у лікарської рослинної сировини.

Summary

Kotova E.E., Kotov A.G., Leontiev D.D.

**HPTLC for the quantification of sesquiterpenoids in *Inula helenium* L. root and rhizome**

The objective method of sesquiterpenoids quantification in *Inula helenium* L. roots and rhizomes by HPTLC was devel-

Таблица 3

Результаты определения правильности методики

Содержание изоалантолактона в наносимой пробе сырья, мкг	Добавки изоалантолактона, мкг	Теоретическое значение, мкг	Экспериментальное значение	Введено/найденно, %	RSD, %
2.4	1.05	3.45	3.53	102.3	1.26
			3.64	105.5	
			3.58	103.8	
2.4	2.24	4.64	4.65	101.2	1.16
			4.62	98.6	
			4.68	100.9	
2.4	3.54	5.94	5.85	97.5	1.60
			5.89	99.16	
			5.95	101.4	

oped. Validation indices of the method have been studied. The prospect of HPTLC use at the development and improving of both quantification and identification of biological active substances in the herbal drug was shown.

**Котова Элина Эдуардовна.** Окончила Харьковский государственный университет (1983). Ст. науч. сотр. отдела валидации и стандартных образцов ГП УНФЦКЛС. К.фарм.н. (2005).

**Котов Андрей Георгиевич.** Окончил Харьковский фармацевтический институт (1982). К.фарм.н. (1996). Ст. науч. сотр. (2004). Руководитель научного направления «Лекарственное растительное сырье» отдела ГФУ УНФЦКЛС.

**Леонтьев Денис Дмитриевич.** Окончил НТУ «ХПИ» (2009). Мл. науч. сотр. отдела валидации и стандартных образцов ГП УНФЦКЛС.

УДК 615.11:582.951.4

Попова Н.В., Литвиненко В.И., Бовтенко В.А.  
Национальный фармацевтический университет  
Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»

### К вопросу стандартизации настойки стручкового перца

Проведен анализ показателей качества настоек плодов стручкового перца, представленных в Фармакопеях разных стран. Показано, что такие показатели как идентификация методом ТСХ, количественный анализ суммы капсаициноидов методом ВЭЖХ могут быть использованы в отечественной нормативной документации на данный препарат. Отечественное сырье (плоды стручкового перца) содержит меньше капсаициноидов, чем нормировано монографией Европейской Фармакопеи (ЕФ) на данный вид лекарственного растительного сырья, поэтому в исследуемых образцах настоек содержание капсаициноидов ниже, чем указано в ЕФ. Показана необходимость разработки национальной монографии ГФУ на настойку плодов стручкового перца.

Плоды острых сортов стручкового перца издавна применяют в народной и официальной медицине. Из плодов производят настойку, густой экстракт, перцовый пластырь, мазь «Эспол», линименты перцово-камфорный и перцово-аммиачный, мазь от обморожения и др. За рубежом выпускают препараты на основе синтетического аналога капсаицина — нонивамида (например, мазь «Финалгон», Германия) [16].

Препараты плодов стручкового перца применяют внутрь и наружно как согревающее, отвлекающее средство при миозите, радикулите, как средство, стимулирующее аппетит, при диспепсии, коликах, диарее, метеоризме, спазмах, зубной боли, повышенной сворачиваемости крови, морской болезни, алкоголизме, малярии, лихорадке, гиперлипидемии и для профилактики сердечных заболеваний [1, 2, 3, 4, 16].

Наружно препараты на основе плодов стручкового перца показаны при опоясывающем лишае, остеоартритах, ревматоидных артритах, пост-герпетической невралгии, невралгии тройничного нерва, диабетической невропатии, болях в спине, пост-хирургической невралгии. Назначают эти препараты при мышечных спазмах, в виде полосканий при ларингите. Интранасально их рекомендуют применять при аллергическом рините, постоянном рините, мигрени, головной боли, вызванной мигренью, синуситах [1, 2, 3, 4, 10, 16].

Биологическая активность препаратов стручкового перца обусловлена капсаициноидами, характеристика которых дана ранее [1, 2, 3, 10].

Большинство препаратов плодов стручкового перца готовят на основе настойки или густого экстракта, а за рубежом также и на основе смолы. Ниже приведены требования Фармакопей ряда стран, предъявляемые к плодам и препаратам стручкового перца [6, 7, 11, 12, 13] (Табл. 1).

Анализ требований различных фармакопей [7, 11, 12, 13, 18, 19] свидетельствует, что в различных странах препараты готовят из различных видов и разновидностей стручкового перца, которые содержат, соответственно, разное количество капсаициноидов (от 0.15 % до 0.40 %). Видно, что для импортных настоек и других препаратов стручкового перца пределы содержания действующих веществ выше по сравнению с отечественными препаратами. Следует принимать во внимание, что настойку плодов стручкового перца производят в разных странах по разным технологиям.

Целью настоящей работы является исследование показателей качества настойки плодов стручкового перца, производимой в Украине, для выяснения возможности гармонизации требований национальной законодательной базы (ГФУ) с Европейской Фармакопеей при разработке национальной монографии на настойку плодов стручкового перца.



Объектом исследований являлись образцы настойки плодов стручкового перца производства ОАО «Фитофарм» (серии 30406, 51109), а также настойки, полученные из плодов стручкового перца сортов «Украинский горький» и «Сацenni» серий 121009, 201009, 110909, 81009, 250909. Настойки получены методом мацерации в соотношении 1:10 с применением спирта (90 % об/об). Настойки представляют собой прозрачную жидкость красновато – желтоватого цвета со слабым запахом и жгучим вкусом.

*Идентификация. Тонкослойная хроматография*

Европейская Фармакопея рекомендует проводить тонкослойный хроматографический анализ настойки плодов стручкового перца, используя в качестве системы растворителей смесь вода - метанол (20:80). Для обнаружения капсаициноидов хроматографическую пластинку обрабатывают метанольным раствором дихлорохинонхлоримида и выдерживают в парах аммиака. Капсаициноиды проявляются в виде синих пятен. Анализ проводят в видимом свете. ФС 42-1259-93 рекомендует проводить ТСХ-анализ на пластинках сорбфил марки ПТСХ-П-А-УФ в камере с эфиром, проявление проводят аналогичным реактивом, обнаруживается одно пятно (Рис. 1).

Для хроматографического анализа 10 мл настойки встряхивали с 10 мл гексана, выдерживали до расслоения и использовали гексановый слой. Для получения раствора сравнения 1 мг капсаицина-стандарта [15] растворяли в 5 мл диэтилового эфира. На хроматографическую пластинку (Silicagel 60F<sub>234</sub>, фирма «Merck») наносили полосами по 20 мкл каждого раствора. Хроматографирование (12 см) проводили в камере с системой растворителей вода - метанол (20:80). Пластинку высушивали на воздухе и проявляли метанольным раствором дихлорохинонхлоримида с последующим выдерживанием в парах аммиака. На хроматограмме раствора сравнения обнаруживается два пятна, соответствующих капсаицину и дигидрокапсаицину. Хроматографическим анализом всех исследуемых образцов настоек стручкового перца получено по два пятна, соответствующих веществам-стандартам при анализе в системе растворителей вода - метанол (20:80) и одно пятно — при хроматографировании в диэтиловом эфире (Рис. 1).

*Количественный анализ*

ФС 42-1259-93 рекомендует оценивать в настойке стручкового перца содержание сухого

Таблица 1

**Фармакопейные требования, предъявляемые к качеству плодов и препаратов стручкового перца**

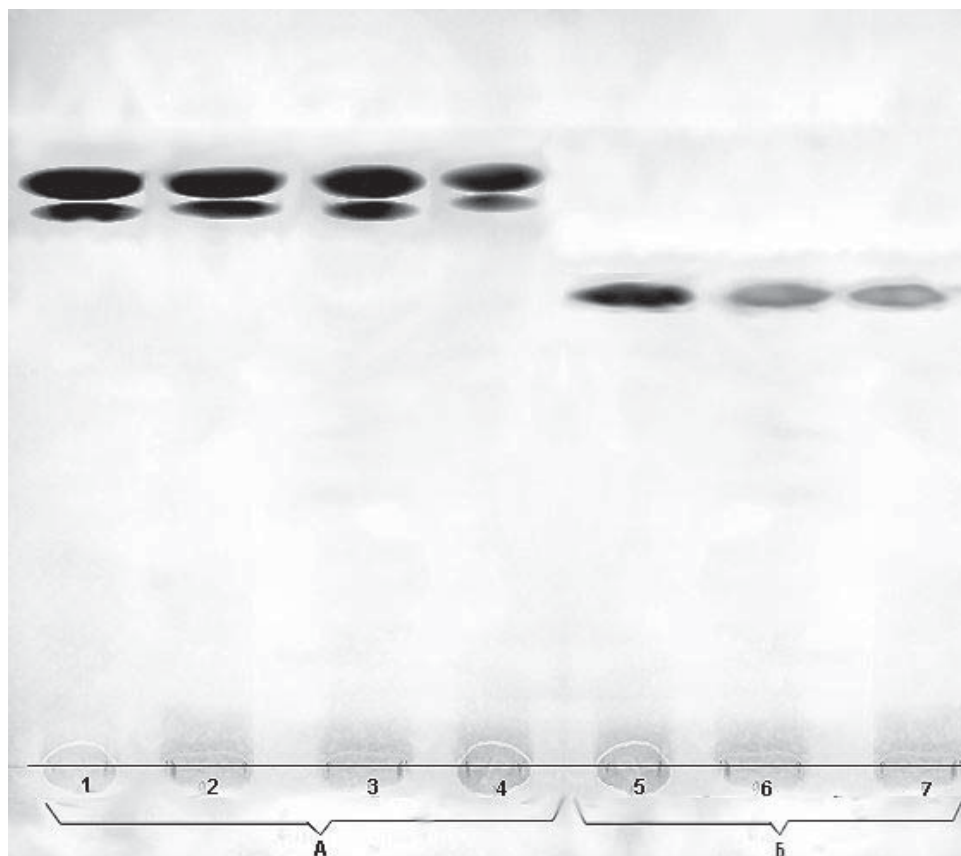
Страна, АНД	Вид перца, препараты	Содержание капсаициноидов, %
ГОСТ 14260-89 [7]	плоды <i>C. annuum</i> L.	не менее 0.15 % суммы капсаициноидов
ФС 42-1259-93 [18]	настойка, спирт (90 % об/об), 1:10	не менее 0.01% капсаициноидов, не менее 1% экстрактивных веществ
ФС 42-1978-98 [19]	густой экстракт	не менее 0.6 % суммы капсаициноидов
ЕФ [6]	плоды <i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>minimum</i> (Miller) Heiser и мелкоплодных разновидностей <i>Capsicum frutescens</i> L.	не менее 0.4 % суммы капсаициноидов
	настойка перца стандартизованная, получают из плодов с помощью спирта (от 70% об/об до 85% об/об) или из рафинированной и количественно определенной смолы стручкового перца	от 90 % до 110 % от указанного номинального содержания суммы капсаициноидов, в пересчете на капсаицин, которого должно быть от 0.020 % до 0.060 % (м/м)
	рафинированная и количественно определенная смола стручкового перца, получают экстракцией плодов органическим растворителем	от 6.5 % до 8.0 % суммы капсаициноидов
Япония [11]	плоды <i>C. annuum</i> L.	не менее 9 % экстрактивных веществ, извлекаемых эфиром; не менее 0.1% суммы капсаициноидов (капсаицин и дигидрокапсаицин)
	настойка (1:10)	не менее 0.01 % суммы капсаициноидов
Германия [12]	плоды <i>C. frutescens</i> L. s. l.	не менее 0.4 % суммы капсаициноидов
	настойка, 1:10 (г/мл), спирт (90 % об/об)	не менее 0.01 % капсаициноидов
США	Плоды <i>C. annuum</i> L. var. <i>conoides</i> Irish, <i>C. annuum</i> L. var. <i>longum</i> Sendt, <i>C. frutescens</i> L.	не менее 12.0 % экстрактивных веществ, извлекаемых эфиром
	смола плодов стручкового перца	не менее 8.0 % суммы капсаициноидов

остатка (не менее 1.0 %) и сумму капсаициноидов (не менее 0.01 %) спектрофотометрическим методом [4, 5, 18], ЕФ — сумму капсаициноидов (от 0.02 % (м/м) до 0.06 % (м/м)) методом ВЭЖХ [6]. Кроме того, ЕФ регламентирует содержание этанола, метанола и 2-пропанола, анализ которых проводили в соответствии с ГФУ [21, 22, 23].

Анализ содержания суммы капсаициноидов в исследуемых образцах настоек плодов струч-

кового перца проводили методом ВЭЖХ в соответствии с [6]. Данная методика была воспроизведена на жидкостном хроматографе фирмы «Waters» с ручным инжектором Rheodyne 7725i с дальнейшей компьютерной обработкой результатов исследования с использованием программы «Мультихром для Windows». Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора «Waters 2487»,  $\lambda = 225$  нм. Хроматографическая колонка из нержавеющей стали, размер 0.25 м

Рисунок 1



Типичная хроматограмма (ТСХ) образцов настойки стручкового перца

А — система растворителей вода - метанол (20:80),

Б — диэтиловый эфир,

1-7 — образцы настоек (Табл. 2).

Таблица 2

Результаты анализа настоек плодов стручкового перца

Образец	Сухой остаток, %	Сумма капсаициноидов, %	Этанол	Метанол	2-пропанол
серия 121009	1.20	0.048	88 %	< 0.05 %	< 0.05 %
серия 81009	1.97	0.012	88 %	< 0.05 %	< 0.05 %
серия 201009	2.02	0.020	87 %	< 0.05 %	< 0.05 %
серия 250909	1.54	0.050	88 %	< 0.05 %	< 0.05 %
серия 110909	1.36%	0.017	87 %	< 0.05 %	< 0.05 %
ОАО «Фитофарм», серия 51109	1.17	0.040	87 %	< 0.05 %	< 0.05 %
ОАО «Фитофарм», серия 300406	1.23	0.046	87 %	< 0.05 %	< 0.05 %

× 4.6 мм, заполненная октадецилсиликагелем Symmetry Shield RP18 с размером частиц 5 мкм или аналогичная, удовлетворяющая требованиям пригодности хроматографической системы; подвижная фаза: ацетонитрил – 1.38 % раствор натрия дигидрофосфата (1:1), доведенная до рН (3.0±0.2) 5М раствором кислоты фосфорной, дегазированная любым удобным способом; скорость подвижной фазы 1.0 мл/мин; температура колонки 30 °С. Уравновешивают колонку подвижной фазой в течение около 45 мин. Содержание суммы капсаициноидов в образцах настоек стручкового перца проводили в пересчете на капсаицин [15]. Хроматограммы капсаицина – стандарта и настойки стручкового перца аналогичны тем, что приведены в работе [20]. Результаты определения суммы капсаициноидов, сухого остатка, этанола и примесей (метанол и 2-пропанол) приведены в Табл. 2 [14, 14а, 21, 22, 23].

Результаты анализа исследуемых образцов настоек стручкового перца свидетельствуют, что по содержанию экстрактивных веществ они соответствуют требованиям ФС 42-1259-93, а содержание суммы капсаициноидов в образцах настоек соответствует как требованиям ФС, так и ЕФ (за исключением серии 81009 и 110909). Содержание спирта и примесей (метанол и 2-пропанол) находится в допустимых пределах.

**Выводы**

1. Сравнительный анализ требований, предъявляемых к настойке плодов стручкового перца в различных Фармакопеях, показывает разное содержание капсаициноидов (от 0.01 % до 0.06 %), что обусловлено использованием за рубежом плодов стручкового перца с более высоким содержанием капсаициноидов (от 0.15 % до 0.40 %). Установлено, что по монографии ЕФ и ФС 42-1259-93 настойку плодов стручкового перца производят разными способами.

2. Результаты анализа отечественных образцов настоек стручкового перца методом ТСХ показывают, что они соответствуют требованиям ЕФ. Во всех образцах идентифицированы капсаицин и дигидрокапсаицин. По содержанию суммы капсаициноидов и экстрактивных веществ исследуемые образцы настоек стручкового перца соответствуют требованиям ФС 42-1259-93.

3. Полученные результаты могут быть использованы при разработке национальной монографии на настойку плодов стручкового перца.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Govindarajan V.S. Capsicum – production, technology, chemistry and quality. Part I. History, botany, cultivation and

primary processing / V.S. Govindarajan // CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition. - 1985. - Vol. 22. - № 2. – P. 109–176.

2. Govindarajan V.S. Capsicum – production, technology, chemistry and quality. Part II. Processed products, standards, world production, and trade / V.S. Govindarajan // CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition. - 1986. - Vol. 23. - № 3. - P. 207-288.

3. Capsicum The genus Capsicum // Ed. by A.Krishna De. - London: Taylor & Francis Ltd, 2003. – 300 p.

4. Попова Н.В. Фитохимическое изучение растений рода перец стручковый: Автореф. дисс. ... к. фарм.н. - Харьков, 1985. - 20 с.

5. Определение суммы капсаициноидов в экстракте стручкового перца густом / Данельяц В.А., Черныш Л.Я., Шостенко Ю.В., Понгликова И.А., Ковалев И.П. – Фармация. - 1984. - Т. 32, № 5. - С. 35-37.

6. European Pharmacopoeia. - 6<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: Council of Europe, 2009. - P.1404-1407.

7. ГОСТ 14260-89. Плоды перца стручкового. Технические условия

8. Проблемы введения монографий на лекарственное растительное сырье в Государственную Фармакопею Украины / Гризодуб А.И., Георгиевский Г.В., Тихоненко Т.М. и др.// Фармаком. - 2004. - № 4. - С. 3-17.

9. Котов А.Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослину сировину до Державної фармакопеї України / А.Г. Котов. - Фармаком. - 2009. - № 1. - С. 5-19.

10. Попова Н.В. Лекарственные растения мировой флоры / Н.В. Попова, В.И. Литвиненко – Харьков, 2008. - 510 с.

11. Japanese Pharmacopoeia. - Tokyo, Labour and Welfare, 2001 – 1090 p.

12. Deutscher Arzneibuch. - Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1986.

13. The United States Pharmacopoeia - 27<sup>th</sup> ed. - The United States Pharmacopoeial Convention; Rockville, 2004.

14. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.

14а. Государственная фармакопея СССР: Вып 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.

15. ВФС 42-1753-87. Капсаицин – стандарт.

16. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России - М.: АстраФармСервис, 2009. - 1760 с.

17. Deutsches Arzneibuch. - Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 1997.

18. ФС 42-1259-93. Настойка перца стручкового.

19. ФС 42-1978-98. Густой экстракт плодов перца стручкового.

20. Попова Н.В. К вопросу о стандартизации плодов стручкового перца украинских сортов / Н.В. Попова, В.И. Литвиненко, В.А. Бовтенко // Фармаком. – 2010. - № 2. - С. 21-29.

21. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид.- Харків: РІРЕГ, 2001 - Доповнення 1. – 2004. – 520 с.

22. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. – Доповнення 2. - Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.

23. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. – Доповнення 3. - Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2009. – 280 с.

**Резюме**

Попова Н.В., Литвиненко В.І., Бовтенко В.О.

**До питання стандартизації настойки плодів стручкового перцю**

Проведено аналіз показників якості настоек стручкового перцю, наведених у Фармакопеях різних країн. По-

казано, що такі показники як ідентифікація методом ТШХ, кількісне визначення вмісту суми капсаїциноїдів методом ВЕРХ можуть бути використані у вітчизняній нормативній документації на даний препарат. Вітчизняна сировина (плоди стручкового перцю) містить менше капсаїциноїдів ніж нормовано монографією Європейської Фармакопеї (ЄФ) на даний вид лікарської рослинної сировини, тому у досліджуваних зразках настоек вміст капсаїциноїдів нижчий, ніж зазначено в ЄФ. Показано необхідність розробки національної монографії ДФУ на настойку плодів стручкового перцю.

#### Summary

Popova N.V., Litvinenko V.I., Bovtenko V.A.

#### To the matter of the standardization of capsicum tincture

An analysis of the quality indices of capsicum tincture of different Pharmacopoeias was conducted. It was shown that such indices as TLC identification, assay of the sum of capsaicinoids by HPLC could be used in national normative documentations for this drug. National herbal drug (capsicum fruits) contained less capsaicinoids than it was required by EP (European

Pharmacopoeia) for this herbal drug. That was the reason for the less content of capsaicinoids in tinctures compared to EP requirements. The necessity for the development of the national monograph for capsicum fruits tincture was shown.

**Попова Наталия Вячеславовна.** Окончила Харьковский фармацевтический институт (1981). Доцент кафедры фармакогнозии Национального фармацевтического университета.

**Литвиненко Василий Иванович.** Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Д.х.н. (1990). Профессор (1991). Академик АИН Украины. Зав.сектором химии и технологии фенольных препаратов ГП ГНЦЛС.

**Бовтенко Владимир Александрович.** Окончил Харьковский государственный университет (1994). Науч. сотр. лаборатории аналитической химии ГП ГНЦЛС.

УДК 547.587.57

Комиссаренко Н.Ф., Комиссаренко Н.А., Буняева Е.С.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»

Национальный фармацевтический университет

## Простейшие фурукумарины и их гликозиды некоторых видов рода псоралея

Исследованы простейшие фурукумарины и бензофурановые гликозиды *Psoralea acaulis* Stev. (псоралеи бесстебельной), *P. bituminosa* L. (п. смолистой) и *P. drupacea* Bunge (п. костянковой). В сырье п. бесстебельной обнаружены псорален, псораленозид, выделенные в индивидуальном кристаллическом состоянии. П. смолистая и п. костянковая содержат, наряду с псораленом и псораленозидом, также изопсорален (ангелицин) и изопсораленозид.

На территории бывшего Советского Союза произрастает три вида псоралей [1].

*Psoralea acaulis* Stev. (п. бесстебельная) — многолетнее растение с укороченными стеблями. Произрастает на Кавказе и Западном Закавказье. Из плодов выделен фурукумарин псорален, который среди природных веществ обладает самой высокой фотосенсибилизирующей активностью [3]; изопсорален (ангелицин) в этом виде псоралеи не обнаружен [2].

*P. bituminosa* L. (п. смолистая) - многолетнее растение высотой (50-60) см, произрастает на сухих склонах и холмах в Крыму, на Кавказе и Предкавказье. Из плодов выделены псорален и ангелицин, обладающие антиоксидантным, мембраностабилизирующим, противовоспалительным и анаболическим действием [5].

*P. drupacea* Bunge (П. костянковая) — многолетнее растение высотой (70-130) см. Произрастает на холмах, подгорных долинах и в предгорьях в Средней Азии. Все части растения содержат фурукумарины псорален и ангелицин. Из плодов этого растения на Ташкентском ХФЗ

производят фотосенсибилизирующий препарат «Псорален» [4, 10, 11].

#### Материалы и методы

Плоды п. бесстебельной заготавливали в Западном Закавказье, плоды п. смолистой собраны в Крыму на склонах гор, плоды п. костянковой приобретены на Ташкентском ХФЗ. Сырье заготавливали во второй половине сентября.

Температуру плавления определяли на блоке Кофлера. Вещества для анализа высушивали в вакууме ( $10^{-2}$  мм рт. ст.) над  $P_2O_5$  при температуре (110-115) °С в течение 5 ч. УФ-спектры снимали на спектрофотометре СФ-16. Оптическое вращение определяли на приборе СПУ-Е.

Экстракция и выделение фурукумаринов и бензофуранозидов из плодов видов псоралеи. По 2 кг вальцованных плодов п. бесстебельной, п. смолистой, п. костянковой экстрагировали метанолом до истощения. Метанольные извлечения упаривали до полного удаления растворителя. Сухой остаток растворяли в 350 мл воды и фильтровали через складчатый фильтр. Для



выделения изопсоралена (ангелицина) полученный водный фильтрат из плодов каждого вида тщательно выбалтывали вначале циклогексан-петролейноэфирной смесью в соотношении (1:2). Затем псорален извлекали из воды бензольно-этилацетатной смесью (9:1) до полного извлечения. В результате получено 132 г изопсоралена (ангелицина) и 73 г псоралена.

Водный остаток после отделения изопсоралена (ангелицина) и псоралена смешивали с оксидом алюминия кислым [6] и высушивали. Затем помещали на колонку с оксидом алюминия кислым (d = 5 см, h = 55 см), колонку промывали хлороформом, а затем хлороформно-этилацетатной смесью, увеличивая концентрацию этилацетата в смеси до 90 %; выделяли первый гликозид. Продолжали промывать колонку этилацетатом до выделения другого гликозида.

Таким образом, из плодов п. смолистой выделены два фурукумарина псорален и изопсорален (ангелицин) и два их гликозида, из плодов п. бесстебельной выделены псорален и псораленозид, из плодов п. костянквой выделены два фурукумарина (псорален, изопсорален (ангелицин)) и два их гликозида.

**Изопсорален (ангелицин) (вещество 1).** Фурукумарин. Кристаллизуется из метанола в форме игл с температурой плавления (138-140) °С. Общая формула C<sub>11</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>. При обработке бумажной хроматограммы спирто-водным раствором КОН вещество проявляет ярко-голубую флуоресценцию. Вещество не дает депрессии температуры плавления с достоверным образцом изопсоралена.

**Псорален (вещество 2).** Выделенный фурукумарин является простейшим линейно построенным веществом. Имеет общую формулу C<sub>11</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>, температуру плавления (162-164) °С. При обработке метанольно-водным раствором КОН фурукумарин проявляется в УФ-свете в виде золотисто-желтого пятна. Выделенное вещество не дает депрессии температуры плавления с достоверным образцом псоралена.

**Изопсораленозид (вещество 3).** Выделенное вещество имеет общую молекулярную формулу C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>, температуру плавления (103-105) °С,  $[\alpha]_D^{20} + 4$  (с = 0.9; MeOH).

**Ферментативный гидролиз вещества 3.** 90 мг вещества 3 растворяли в 5 мл воды, прибавляли 90 мг сухого ферментного препарата виноградной улитки [7], тщательно перемешивали ферментируемую смесь и выдерживали в термостате при температуре (37-40) °С в течение 1 сут. Полноту гидролиза контролировали с помощью хроматографирования на бумаге, импрегнированной водой, в качестве подвижной фазы использовали смесь толуол - н-бутанол (4:1), насыщенную водой (35 %). По истечении указанного времени в ферментируемой смеси вещество 3 не обнаруживалось. Затем ферменты осаждали 20 мл этанола. Полученную смесь нагревали до кипения и фильтровали через фильтр, уплотненный кизельгуром.

После упаривания фильтрата остаток кристаллизовали из небольшого количества этанола. Выпавшие кристаллы (78 мг) имели температуру плавления (139-140) °С, не давали депрессии температуры плавления с достоверным образцом изопсоралена. В ферментируемом растворе в ряде систем растворителей обнаружена D-глюкоза. Таким образом, исследуемое вещество 3 идентифицировано с изопсораленозидом.

**Псораленозид (вещество 4).** В отличие от изопсораленозида, псораленозид присутствует во всех частях п. бесстебельной. Гликозид 4 кристаллизуется из изопропилового спирта в виде пластинчатых кристаллов (183 мг), температура плавления кристаллов (124-127) °С,  $[\alpha]_D^{21} - 62.5$  (с = 0.58; MeOH). Общая формула C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>.

**Ферментативный гидролиз вещества 4.** 75 мг вещества 4 растворяли в 5 мл воды, прибавляли 80 мг сухого фермента, полученного из виноградной улитки [7], тщательно перемешивали ферментируемую смесь и выдерживали в термостате при температуре (37-40) °С в течение 1 сут. Полноту гидролиза контролировали с помощью хроматографирования на бумаге, импрегнированной водой, в качестве подвижной фазы использовали смесь бензол - н-бутанол (4:1), насыщенную водой (35 %). По истечении указанного времени в ферментируемой смеси вещество 4 не обнаруживалось. Затем ферменты осаждали 15 мл этанола. Полученную смесь нагревали до кипения и фильтровали через фильтр, уплотненный кизельгуром.

Таблица 1

Содержание фурукумаринов и их гликозидов в плодах исследованных видов рода псоралея (% , м/м)

Виды рода псоралея	Изопсорален	Псорален	Изопсораленозид	Псораленозид
п. бесстебельная	—	0.65	-	0.15
п. смолистая	0.65	0.51	0.15	0.17
п. костянквой	0.59	0.49	0.13	0.09

После упаривания фильтрата остаток кристаллизовали из небольшого количества этанола. Выпавшие кристаллы (78 мг) имели температуру плавления (139-140) °С, тщательно перемешивали ферментируемую смесь и выдерживали в термостате при температуре (37-40) °С в течение 1 сут. Полноту гидролиза контролировали с помощью хроматографирования на бумаге, импрегнированной водой, в качестве подвижной фазы использовали смесь толуол - н-бутанол (4:1), насыщенную водой (35 %). По истечении указанного времени в ферментируемой смеси вещество 4 не обнаруживалось. Затем ферменты осаждали 20 мл этанола. Полученную смесь нагревали до кипения и фильтровали через фильтр, уплотненный кизельгуром.

После упаривания фильтрата остаток кристаллизовали из метанола. Выпавшие кристаллы (51 мг) имели температуру плавления (160-162) °С. Общая формула, УФ-флуоресценция их идентична псоралену. В маточнике установлено наличие D-глюкозы (1:1).

Таким образом, исследуемое вещество 4 идентифицировано с псораленозидом. Оно выделено из 3 видов псоралеи: п. бесстебельной, п. смолистой и п. костянковой.

#### Результаты анализа и их обсуждение

На территории бывшего СССР произрастает три вида рода псоралея: п. бесстебельная, п. смолистая и п. костянковая. П. бесстебельная отличается от двух других видов псоралеи по составу БАВ. Она не содержит изопсоралена (ангелицина) и ее гликозида изопсораленозида и продуцирует псорален и его гликозидированную форму псораленозид. В плодах и других органах п. смолистой и п. костянковой содержатся изопсорален (ангелицин), изопсораленозид, псорален и псораленозид.

Подготовленную для разделения смесь фурукумаринов изопсоралена (ангелицина) и псоралена, а также их гликозидов изопсораленозида и псораленозида помещали на колонку силикагеля с 7 % кизельгура (d = 4 см, h = 90 см). Из колонки элюировали петролейным эфиром с 5 % бензола изопсорален (ангелицин). Изопсораленозид, псорален и псораленозид, выделены в индивидуальном кристаллическом состоянии.

*Изопсорален (ангелицин)* (вещество 1). Структура ангелицина была доказана Шпетом и Песта [8] на основании изучения продуктов его окисления. По структуре он является фууро-2',3':7,8-кумарином, температура плавления (138-140) °С, УФ-спектр вещества 1 имеет максимум в диапазоне длин волн (240-300) нм.

*Псорален* (вещество 2). По структуре псорален является простейшим представителем линейно построенных фурукумаринов. Шпет с соавторами [9] установили строение псоралена как фууро-2',3':7,6-кумарины. Вещество 2 имеет общую формулу C<sub>11</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>, температура плавления (160-162) °С. Это простейший фурукумарин, являющийся родоначальником большинства природных фурукумаринов. Кристаллизуется вещество 2 из метанола в виде игольчатых кристаллов. Среди природных веществ обладает самой высокой фотосенсибилизирующей активностью [8].

*Изопсораленозид* (вещество 3). По структуре вещество 3 представляет собой глюкопираноизофурукумариновую кислоту. При кипячении гликозида в воде происходит изомеризация цис-формы в транс-форму, то есть в β-d-глюкопиранозидоизофурукумаровую кислоту, при гидролизе которой образуется устойчивая изофурукумаровая кислота. ИК/КВг/ν<sub>max</sub>см<sup>-1</sup>: 3399, 2922, 1633, 1555, 1466, 1425, 1345, 1279, 1208, 1162, 1072, 894, 753, 612. ИК-спектр идентичен ИК-спектру изопсораленозида.

*Псораленозид* (вещество 4). Одним из основных биологически активных веществ растений рода псоралея является β-γ-глюкозофурукумариновая кислота: ИК/КВг/ν<sub>max</sub>см<sup>-1</sup>: 3400, 2922, 1637, 1554, 1464, 1423, 1345, 1294, 1192, 1162, 1075, 1041, 898, 840, 765, 730, 623. ИК-спектр вещества 4 полностью соответствует псораленозиду. Для подтверждения полученных результатов было проведено ферментативное расщепление вещества 4 ферментами виноградной улитки. В результате расщепления вещества 4 ферментами образовалась свободная D-глюкоза и псорален, что подтверждает структуру исследуемого вещества.

#### Выводы

Изучен химический состав видов псоралеи, произрастающих на территории бывшего СССР: п. бесстебельной, п. смолистой и п. костянковой.

Из плодов п. бесстебельной выделены псорален и псораленозид. Из плодов п. смолистой и п. костянковой выделены псорален, изопсорален (ангелицин), а также гликозиды псораленозид и изопсораленозид.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Psoralea L. Псоралея // Растительные ресурсы СССР. — Л.: Наука, 1987. — С. 175-178.
2. Самылина И.А. Изучение кумаринов некоторых отдельных представителей семейства бобовых: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — М., 1966. — 20 с.
3. Комиссаренко Н.Ф. Географическое распространение растений, содержащих псорален / Н.Ф. Комиссаренко, И.Г. Зоз // Растительные ресурсы. — 1976. — Т. 12. — Вып. 3. — С. 333-347.



4. Машковский М.Д. Лекарственные средства. - Изд. 13-е, новое. - Харьков, 1997. - Т. 2. - С. 224.
5. Анаболическая, антиоксидантная, гепатозащитная и противовоспалительная активности некоторых кумаринов и хромонов / Комиссаренко Н.Ф., Сальникова С.И., Комиссаренко А.Н., Дроговоз С.М. // Растительные ресурсы. - 1993. - Т. 29. - Вып. 3. - С. 1-7.
6. Колесников Д.Г. Кумарины борщевики сибирского (*Heracleum sibiricum* L.) / Д.Г. Колесников, Н.Ф. Комиссаренко, В.Т. Чернобай // Медицинская промышленность СССР. - № 6. - С. 532-535.
7. Комиссаренко С.Н. Карденолидные гликозиды семян *Ornithogalum magnum* Kraech. et Schischk.- биозиды родекосид и орнитозид / С.Н. Комиссаренко // Фармаком. - 2007. - № 3. - С. 54-58.
8. Späth E., Hiller R. // Ber. Dtsch. Chem. Ges. - 1939. - Bd. 72. - S. 1577.
9. Späth E., Majunath B., Pailer M., H. Jois H. // Ber. Dtsch. Chem. Ges. - 1936. - Bd. 69. - S. 1087.
10. Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. / Под ред. В.П. Георгиевского и Ф.А. Конева. - ООО «РИРЕГ», 1996. - 784 с.
11. Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комиссаренко, С.Е. Дмитрук. - Новосибирск: Наука, 1990. - 332 с.

**Резюме**

Комиссаренко М.Ф., Комиссаренко М.А., Буняева О.С.

**Прості фуурокумарини та бензофуранові глікозиди деяких видів роду псоралея**

Досліджено прості фуурокумарини та бензофуранові глікозиди *Psoralea acaulis* Stev. (псоралеї безстеблової),

*P. bituminosa* L. (п. смолянистої) та *P. drupacea* Bunge (п. костянкової). У сировині п. безстеблової виявлено псорален, псораленозид, виділені в індивідуальному кристалічному стані. П. смоляниста та п. костянкова містять, поряд із псораленом і псораленозидом, також ізопсорален (ангеліцин) та ізопсораленозид.

**Summary**

Komissarenko N.F., Komissarenko N.A., Bunyaeva E.S

**Simple furocoumarins and their glycosides of some speaces of *Psoralea* L.**

Simple furocoumarines and benzofurane glycosides of *Psoralea acaulis* Stev., *P. bituminosa* L. and *P. drupacea* Bunge have been studied. In the herbal drug of *Psoralea acaulis* Stev. have been found psoralen and psoralenoside in free and crystal state. *P. bituminosa* L. and *P. drupacea* Bunge contain additionally isopsoralen (angelitsin) and isopsoralenoside.

**Комиссаренко Николай Федотович.** Д, фарм.н. (1980). Профессор (1983). Роботал в ГП ГНЦЛС (1957-1999).

**Комиссаренко Николай Андреевич.** Студент 3 курсу Національного фармацевтичного університета.

**Буняева Елена Сергеевна.** Студентка 3 курсу Національного фармацевтичного університета.

УДК 615.322:581.45:582.883.4

Кошовий О.М.

Національний фармацевтичний університет України

**Дослідження фенольних сполук спиртового екстракту з листя *Eucalyptus viminalis* Labill.**

Досліджено склад фенольних сполук спиртового екстракту із листя *Eucalyptus viminalis* Labill., виділено та ідентифіковано 2 фенолкарбонові кислоти: галова та елагова; 5 гідроксикоричних кислот: *n*-кумарова, кавова, ферулова, хлорогенова та неохлорогенова; 6 кумаринів: кумарин, умбеліферон, скополетин, дафноретин, скополін та скимін; 5 флавоноїдних агліконів: лутеолін, кемпферол, кверцетин, мірицетин та ізорамнетин; 2 флавоноїдних глікозиди: астрагалін та ізокверцитрин. У спиртовому екстракті з листя *Eucalyptus viminalis* Labill. встановлено вміст похідних гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів і поліфенольних сполук. Спиртовий екстракт із листя *Eucalyptus viminalis* Labill. виявляє антимікробну активність по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*.

В Україні та Російській Федерації зареєстровано близько 50 комплексних препаратів (інгаліпт, каметон, ефкамон, інгакамф, алором, бронхікум, гевкамен, камфомен, пектусин та ін.), до складу яких входять біологічно активні речовини (БАР) листя евкаліпта, зокрема, ефірна олія, основним компонентом якої є 1,8-цинеол (евкаліптол). Крім того вітчизняною фармацевтичною промисловістю випускається антистафілококовий препарат хлорофіліпт у різних лікарських формах: 0.25 %, 1 % спиртовий, 2 % олійний розчин, спрей, таблетки та супозиторії [1]. Для виготовлення зазначених

лікарських форм використовують густий екстракт хлорофіліпту, який отримують із листя евкаліпта прутувидного екстракцією 96 % спиртом і подальшою обробкою розчином міді сульфату [2].

Раніше нами було проведено системне дослідження БАР листя евкаліпта прутувидного (*Eucalyptus viminalis* Labill.) та його шроту після виробництва густого екстракту хлорофіліпту [3]. На основі комплексної переробки сировини створено препарат «Евкабол», який захищено патентом України на винахід [4]. Відомо, що основними БАР листя евкаліпта прутувидного

є хлорофіли *a* та *b*, терпеноїди, фенольні сполуки: фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, прості феноли [3].

Продовжуючи дослідження БАР евкаліпта прутувидного та препаратів на його основі, ми звернули увагу на те, що густий спиртовий екстракт із листя евкаліпта прутувидного, який у подальшому обробляють розчином міді сульфату, контролюється тільки за значенням густини розчину та не має жодних даних про його хімічний склад. Не досліджено також наскільки подальша обробка екстракту впливає на його антимікробну активність [2].

Метою даної роботи є дослідження хімічного складу спиртового екстракту з листя евкаліпта прутувидного, зокрема фенольних сполук, та вивчення його антимікробної активності.

#### Експериментальна частина

Об'єктом дослідження став густий спиртовий екстракт із листя евкаліпта прутувидного, наданий ДП «ДЗ ДНЦЛЗ» ДАК «Укрмедпром». Проводили аналіз п'яти серій екстракту.

Для ідентифікації, виділення та встановлення складу фенольних сполук спиртового екстракту з листя евкаліпта прутувидного використовували фракціонування у системі рідина - рідина, метод паперової хроматографії (ПХ) і хроматографії у тонкому шарі сорбенту (ТШХ).

У результаті попереднього хімічного дослідження фенольного складу отриманого екстракту встановлено наявність таких груп фенольних сполук: прості феноли, похідні гідроксикоричної кислоти, кумарини, флавоноїди та поліфенольні сполуки.

Із одержаного спиртового екстракту за допомогою фракціонування у системі рідина - рідина виділили хлороформну й етилацетатну фракції.

Хроматографічний аналіз на папері показав, що хлороформна фракція містить кумарини, хлорофіли, фосфоліпіди та терпенові сполуки, а етилацетатна — кумарини, флавоноїди та гідроксикоричні кислоти.

**Похідні гідроксикоричної кислоти.** Етилацетатну фракцію упарювали та хроматографували з достовірними зразками похідних гідроксикоричної кислоти у системах: I — *n*-бутанол - кислота оцтова - вода (4:1:2) і II — 15 % кислота оцтова з подальшою обробкою хроматограм парою аміаку та діазореактивом. Встановлено, що в екстракті містяться *n*-кумарова (I —  $R_s = 0.90$ ; II —  $R_s = 0.60$ ), кафеїна (I —  $R_s = 0.80$ ; II —  $R_s = 0.50$ ), ферулова (I —  $R_s = 0.88$ ; II —  $R_s = 0.55$ ), хлорогенова (I —  $R_s = 0.62$ ; II —  $R_s = 0.70$ ) та не-

охлорогенова (I —  $R_s = 0.64$ ; II —  $R_s = 0.75$ ) кислоти. У подальшому ці сполуки було виділено в індивідуальному стані методом препаративної ТШХ та ідентифіковано на основі фізичних, хімічних властивостей та їх УФ-спектральної характеристики.

**Кумарини.** Для виявлення кумаринових сполук хлороформну й етилацетатну фракції хроматографували на папері у системах хлороформ (формамід 25 %), гексан (формамід 25 %) та на пластинках Silicagel 60 F 254 (фірма «Merck») у системі бензол — етилацетат (3:2). При перегляді хроматограм у фільтрованому УФ-світлі та обробці 10 % спиртовим розчином калію гідроксиду та діазореактивом у хлороформній фракції виявлено не менше 4 речовин кумаринової природи, в етилацетатній — не менше 2 речовин. Паралельно проводили хроматографування розчинів стандартних зразків кумаринів і порівнювали значення їх  $R_f$  із плямами речовин на хроматограмі досліджуваного екстракту [7].

Для диференціації виявлених речовин кумаринової природи від похідних коричної кислоти було проведено реакцію відщеплення різних замісників у кумариновому ядрі йодистоводневою кислотою у середовищі рідкого фенолу й оцтового ангідриду [6].

Для цього хлороформну фракцію випарювали до видалення розчинників, а залишок змішували із 3 мл суміші кислота йодистоводнева - рідкий фенол - оцтовий ангідрид (6:1:1). Колбу зі зворотним холодильником нагрівали на гліцериновій бані до температури 130-135 °С протягом 2 год. Реакційну суміш охолоджували, розводили водою до об'єму 50 мл, переносили у ділильну лійку, обробляли 2 рази етилацетатом порціями по 0.1 мл і хроматографували на папері у системі гексан (формамід 25 %) паралельно із достовірним зразком кумарину. Після хроматографування хроматограму висушували та обробляли 10 % спиртовим розчином калію гідроксиду та переглядали в УФ-світлі. При цьому виявлено пляму із блакитно-зеленою флуоресценцією, що збігається за значенням  $R_f$  і кольором флуоресценції із достовірним зразком кумарину («Sigma Chemical Company», США) та свідчить про наявність у випробовуваній сировині речовин кумаринової природи [6].

Таким чином, у хлороформній фракції екстракту ідентифіковано кумарин, умбеліферон, скополетин і дафноретин, в етилацетатній — скополін та скимін.

**Флавоноїди.** Етилацетатну фракцію екстракту вивчали за допомогою двомірної ПХ (Filtrak № 4): I — *n*-бутанол — кислота оцтова -

вода (4:1:2); II — 2 % кислота оцтова. Хроматографічно було виявлено не менше 8 флавоноїдних сполук.

Для встановлення аглікону, що входить до складу цих сполук, після гідролізу суми глікозидів досліджуваної фракції 5 % кислотою сірчаною методом ПХ із достовірними зразками агліконів у системах *n*-бутанол — кислота оцтова - вода (4:1:2), 30 % та 60 % кислота оцтова, хлороформ - кислота оцтова - вода (13:6:2) було ідентифіковано лютеолін, кемпферол, кверцетин, мірицетин та ізорамнетин. Продукти гідролізу суми глікозидів було розділено методом колонкової хроматографії (сорбент — поліамід). У результаті отримано кемпферол і кверцетин, які ідентифікували за температурою плавлення та характеристикою УФ-спектрів ( $\lambda_{\max}$  368 нм, 267 нм та  $\lambda_{\max}$  372 нм, 256 нм, відповідно). Крім того, в етилацетатній фракції було ідентифіковано 2 глікозиди флавоноїдної природи — ізокверцитрин та астрагалін.

**Поліфенольні сполуки.** У результаті хроматографічного вивчення спиртового екстракту та продуктів його гідролізу (5 % кислота сірчана) за допомогою паперової хроматографії (ПХ) у системах: I — *n*-бутанол - кислота оцтова - вода (4:1:2), II — 5 % кислота оцтова, III — 30 % кислота оцтова та IV — 60 % кислота оцтова з використанням 1 % спиртового розчину заліза (III) хлориду, як хромогенного реактиву, встановлено наявність галової й елагової кислот і гало-, елаготанінів.

*Кількісне визначення груп БАВ в екстракті з листя евкаліпта прутовидного*

Кількісне визначення похідних гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів і поліфенольних сполук проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали у кюветі із товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі Spresol 1500 (Швейцарія) за відповідної довжини хвилі [3]. Аналізу підлягало 5 серій екстракту. Статистичну обробку результатів проводили згідно вимог ДФУ [5].

**Похідні гідроксикоричної кислоти.** Вміст похідних гідроксикоричних кислот визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на кислоту хлорогенову, тому що її концентрація серед усіх виділених кислот найбільша. Максимум поглинання РСЗ кислоти хлорогенової виявляються за довжини хвилі 327 нм, тому вимірювання проводили саме за цієї довжини хвилі [3, 8].

1.0 г (точна наважка) густого екстракту кількісно переносили у мірну колбу місткістю 100.0 мл, розчиняли у 96 % спирті, доводили об'єм тим самим розчинником до позначки та

перемішували (розчин А). 1.0 мл розчину екстракту поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл, доводили об'єм спиртом (20 % об/об) до позначки, перемішували та фільтрували. Вимірювали оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 327 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм [3, 8]. Паралельно 0.05 г (точна наважка) кислоти хлорогенової (ДСТУ 6-09-14-66) поміщали у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняли у спирті (20 % об/об) і доводили об'єм тим самим розчинником до позначки. 1.0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 50 мл, доводили об'єм спиртом (20 % об/об) до позначки, перемішували та вимірювали оптичну густину у таких самих умовах, що і досліджуваний розчин. Як розчин порівняння використовували спирт (20 % об/об).

Вміст суми похідних гідроксикоричної кислоти в екстракті листя евкаліпта прутовидного, у відсотках, у перерахунку на кислоту хлорогенову, обчислювали за формулою:

$$\frac{D_1 \times a_0 \times 100 \times 1 \times 25 \times 100 \times 100}{D_0 \times a_1 \times 1 \times 50 \times 100 \times (100 - W)}$$

де:

$D_1$  — оптична густина випробовуваного розчину;

$D_0$  — оптична густина розчину РСЗ кислоти хлорогенової;

$a_1$  — наважка екстракту, у грамах;

$a_0$  — наважка РСЗ кислоти хлорогенової, у грамах;

$W$  — втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

**Флавоноїди.** Вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на рутин, тому що попередні дослідження показали наявність в листі евкаліпта флавоноїдних сполук, переважно похідних кверцетину [3, 8].

2.0 мл розчину А поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 2.0 мл 3 % алюмінію хлориду у 96 % спирті, доводили об'єм спиртом (70 % об/об) до позначки та перемішували. Через 30 хв вимірювали оптичну густину отриманого комплексу за довжини хвилі 417 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували розчин, що містить 2.0 мл розчину А, доведений у мірній колбі місткістю 25 мл спиртом (70 % об/об) до позначки [3, 8].

Паралельно за тих самих умов проводили випробування із РСЗ рутину: 0.01 г (точна наважка) рутину (ФС 42-2508-87), висушеного при температурі 135 °С до постійної маси, поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл, розчиняли

у 96 % спирті, доводили об'єм 96 % спиртом до позначки та перемішували. До 1 мл отриманого розчину РСЗ рутину додавали 2.0 мл 3 % алюмінію хлориду та доводили спиртом (70 % об/об) до об'єму 25.0 мл [3, 8]. Як розчин порівняння використовували розчин РСЗ рутину, доведений у мірній колбі місткістю 25 мл спиртом (70 % об/об) до позначки.

Перед вимірюванням оптичної густини розчини фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату.

Вміст суми флавоноїдів в екстракті, у відсотках, у перерахунку на рутин, обчислювали за формулою:

$$\frac{D_1 \times a_0 \times 100 \times 1 \times 25 \times 100 \times 100}{D_0 \times a_1 \times 2 \times 25 \times 25 \times (100 - W)}$$

де:

$D_1$  — оптична густина випробуваного розчину;

$D_0$  — оптична густина розчину комплексу РСЗ рутину з алюмінію хлоридом;

$a_1$  — наважка екстракту, у грамах;

$a_0$  — наважка РСЗ рутину, у грамах;

$W$  — втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

**Поліфенольні сполуки.** Вміст суми поліфенольних сполук визначали спектрофотометричним методом, у перерахунку на кислоту галову, тому що вона є їх основним компонентом. Максимум поглинання РСЗ кислоти галової виявляється за довжин хвиль 214 нм та 270 нм. Вимірювання доцільніше проводити за довжини хвилі 270 нм, тому що при цьому вплив супровідних речовин на результати вимірювання менший [3, 8].

1.0 мл розчину А поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл, доводили об'єм розчину спиртом (40 % об/об) до позначки та перемішували. 1.0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл і доводили об'єм тим самим розчинником до позначки. Вимірювали оптичну густина одержаного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 270 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували спирт (40 % об/об) [3, 8].

Вміст суми поліфенольних сполук, у відсотках, у перерахунку на кислоту галову, обчислювали за формулою:

$$\frac{D \times 100 \times 25 \times 25 \times 100}{540 \times m \times 1 \times 1 \times (100 - W)}$$

де:

$D$  — оптична густина випробуваного розчину;

$m$  — маса наважки екстракту, у грамах;

540 — питомий показник поглинання розчину кислоти галової у спирті (40 % об/об) за довжини хвилі 270 нм;

$W$  — втрата в масі при висушуванні сировини, у відсотках.

Результати кількісного визначення БАР представлено в Табл. 1.

Таблиця 1

**Кількісний вміст фенольних сполук у густому спиртовому екстракті з листя евкالیпта прутувидного**

Метод	Кількісний вміст, % (у перерахунку на сухий залишок)
<i>похідні гідроксикоричної кислоти, у перерахунку на кислоту хлорогенову</i>	
спектрофотометричний	6.96±0.02
<i>флавоноїди, у перерахунку на рутин</i>	
спектрофотометричний	2.93±0.01
<i>фенольні сполуки, перерахунку на кислоту галову</i>	
спектрофотометричний	17.14±0.02

Вивчення антибактеріальної активності екстракту проводили в Інституті мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова в лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ під керівництвом к.б.н. Осолодченко Т.П. методом дифузії в агар [9]. Відповідно до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності препаратів використовували рефренс-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NCTC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *S. pyogenosa* 2432 та *Candida albicans* ATCC 885/653. Для дослідження використовували 1 % спиртовий розчин екстракту. Як препарат порівняння використовували 1 % спиртовий розчин хлорофіліпту (ТОВ «ДЗ «ДНЦЛЗ», серія 031109). Результати дослідження антимікробної активності екстрактів наведено в Табл. 2.

Із табл. 2 видно, що екстракт із листя евкالیпта прутувидного виявляє антимікробну активність по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis* нарівні із хлорофіліптом, та, на відміну від хлорофіліпту, зовсім не впливає на *E. coli* та *S. pyogenosa*.

**Висновки**

Досліджено склад фенольних сполук спиртового екстракту з листя евкالیпта прутувидного, зокрема виділено та ідентифіковано 2 фенолкарбонові кислоти: галова та елагова; 5 гідроксикоричних кислот: *п*-кумарова, кавова, ферулова, хлорогенова та неохлорогенова; 6 кумаринів: кумарин, умбеліферон, скополетин,



Таблиця 2

**Антимікробна активність екстракту з листя евкаліпта прутовидного та 1 % спиртового розчину хлорофіліпту**

Мікроорганізм	Діаметр зони затримки росту, мм	
	1 % спиртовий розчин екстракту листя евкаліпта прутовидного	1 % спиртовий розчин хлорофіліпту
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	28	24
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	23	23
<i>E. coli</i> ATCC 25922	ріст	12
<i>Proteus vulgaris</i> NCTC 4636	ріст	ріст
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	14	12
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	ріст	ріст
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	ріст	ріст
<i>S. pyogenosa</i> 2432	ріст	13
<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	ріст	ріст

дафноретин, скополін та скимін; 5 флавоноїдних агліконів: лутеолін, кемпферол кверцетин, мірицетин та ізорамнетин; 2 флавоноїдних глікозиди — астрагалін та ізокверцитрин.

Встановлено вміст фенольних сполук в спиртовому екстракті з листя евкаліпта прутовидного: похідні гідроксикоричної кислоти складають 6.96±0.02 %, флавоноїди — 2.93±0.01%, поліфенольні сполуки — 17.14±0.02%. Результати проведених досліджень можна використати для подальшої стандартизації екстракту.

Спиртовий екстракт із листя евкаліпта прутовидного виявляє антимікробну активність по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis* на рівні із хлорофіліптом.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Компендиум 2008. Лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: Морион, 2008. — 2270 с.
2. Пат. № 5242 Україна, МПК А61К35/78. Спосіб одержання хлорофіліпту: Пат. № 5242 Україна, МПК А61К35/78 В.Л. Надтока, Н.Г. Божко, А.О. Грижко. - № 2753048/SU; Заявл. 25.04.79; Опубл. 28.12.94, Бюл. № 7-1.
3. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О.М. Кошовий, А.М. Комісаренко, А.М. Ковальова, Л.М. Малоштан, І.М. Мудрик // Фармаком. — 2005. — № 2/3. — С. 151-161.
4. Пат. на винахід № 79383 Україна, МПК А61К 36/61, А61Р 29/00. Спосіб одержання засобу з протизапальною та анаболічною активністю: Пат. на винахід № 79383 Україна, МПК А61К 36/61, А61Р 29/00 О.М. Кошовий, О.М. Гомон, І.М. Мудрик, Л.М. Малоштан та ін. (Україна). — № а 2005 11279; Заявл. 28.11.2005; Опубл. 11.06.2007, Бюл. № 8. — 5 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр", 2008. — 620 с.
6. Гиоргобиани Э.Д. Действие йодистоводородной и хлористоводородной кислот на природные кумарины / Э.Д. Гиоргобиани, Н.Ф. Комиссаренко // Сообщ. АН ГрССР. — 1969. — Т. 32, № 2. — С. 265 — 268.
7. Кумарины листьев *Eucalyptus viminalis* / О.Н. Кошевой, А.Н. Комиссаренко, А.М. Ковалева, Я.В. Дьяконова // Химия природных соединений. — Т. 45., № 4. — 2009. — С. 532 — 533.

8. Розробка метода стандартизації нового лікарського засобу піфламін / А.М. Ковальова, Г.В. Георгієвський, В.М. Ковальов, А.М. Комісаренко, М.М. Тимченко // Фармаком. - 2002. — № 2. -С. 92-97.

9. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Здоров'я, 2002. — 410 с.

**Резюме**

Кошевой О.Н.

**Исследование фенольных соединений спиртового экстракта из листьев *Eucalyptus viminalis* Labill.**

Исследован состав фенольных соединений спиртового экстракта из листьев *Eucalyptus viminalis* Labill., выделены и идентифицированы 2 фенолкарбоновые кислоты: галловая и эллаговая; 5 гидроксикоричных кислот: *p*-кумаровая, кофейная, феруловая, хлорогеновая и неохлорогеновая; 6 кумаринов: кумарин, умбеллиферон, скополетин, дафноретин, скополин и скимин; 5 флавоноидных агликонов: лутеолин, кемпферол, кверцетин, мирицетин и изорамнетин; 2 флавоноидных гликозида: астрагалин и изокверцитрин. В спиртовом экстракте из листьев *Eucalyptus viminalis* Labill. установлено содержание производных гидроксикоричной кислоты, флавоноидов и полифенольных соединений. Спиртовой экстракт из листьев *Eucalyptus viminalis* Labill. проявляет антимикробную активность по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Basillus subtilis*.

**Summary**

Koshevoy O.N.

**The study of phenol substances of the *Eucalyptus viminalis* Labill. leaves alcohol extract**

The composition of phenol substances of *Eucalyptus viminalis* Labill. leaves alcohol extract has been studied. 2 phenol acids (gallic and ellagic), 5 hydroxycinnamic acids (*p*-coumaric, caffeic, ferulic, chlorogenic and neochlorogenic), 6 coumarins (coumarin, umbelliferon, scopoletine, dafnoretine, scopoline and scimin), 5 flavonoidic aglicons (luteolin, kaempferol, quercetin, miricetin and isoramnetin), 2 flavonoidic glycosides (astragaline and isoquercitrin) were isolated and identified. The content of hydroxycinnamic acids, flavonoids and polyphenol compounds were determined in the *Eucalyptus viminalis* Labill. leaves alcohol extract. The alcohol extract of the *Eucalyptus viminalis* Labill. leaves has antibacterial activity against to *S. aureus*, *B. subtilis*.

**Кошовий Олег Миколайович** (н. 1981). Закінчив Національний фармацевтичний університет (2003). К.фарм.н. (2008). Доцент кафедри хімії природних сполук НФаУ.

Криворучко Е.В., Канаан Х.М., Ковалев В.Н.  
Национальный фармацевтический университет  
Ливанский университет

### Хромато-масс-спектрометрический анализ компонентного состава бурых водорослей *Padina pavonica* (L.) Gaill. и *Fucus vesiculosus* L.

Методом хромато-масс-спектрометрии в бурых водорослях *Padina pavonica* (L.) Gaill. и *Fucus vesiculosus* L. идентифицировано до 70 компонентов, основными из которых являются пальмитиновая, миристиновая и олеиновая кислоты, сквален, неофитадиен, гексагидрофарнезиллацетон и фитол.

Уменьшение традиционных природных источников сырья для различных отраслей народного хозяйства способствовало привлечению внимания к фактически нетронутым недрам Мирового океана, занимающего более 2/3 поверхности Земли. Наряду с минеральными ресурсами, Мировой океан — величайший производитель органических веществ на нашей планете. Только водоросли синтезируют каждый год почти в 10 раз больше жиров, белков и углеводов, чем все наземные растения [1, 2]. Наиболее общую классификацию биологически активных веществ (БАВ) гидробионтов предложил Шойер [2]. Согласно этой классификации, все БАВ морских организмов разделяются на: изопреноиды (сесквитерпеноиды, дитерпеноиды, тритерпеноиды, каротиноиды), стерины, производные бензола (фенолы, бензохиноны, флавоноиды, нафталины, нафтопирины, антрацены), азотсодержащие соединения (аминокислоты, алициклические соединения, соединения с атомом азота в кольце, полициклические соединения), неароматические соединения с неразветвленной углеродной цепью (жирные кислоты, углеводороды, серосодержащие соединения, циклические эфиры, лактоны, кетокислоты).

Первым стеринном, изолированным из морских организмов, был сквален. Для различных видов гидробионтов характерны более или менее постоянные стерины. Так, например, для бурых водорослей типичными стеринами являются фукостерин и его изомер саргастерин, обладающие гипохолестеринемическим действием. В нескольких видах зеленых и бурых водорослей обнаружен острестерин — 24-метилхолеста-5,24(28)-диен-3 $\beta$ -ол, в ряде случаев являющийся преобладающим стеринном водорослей.  $\beta$ -ситостерин — весьма распространенный стерин наземных растений, наоборот, в морской флоре встречается редко. Обычно морские организмы продуцируют наиболее сложные по составу терпеноиды — политерпены и их различные кислородсодержа-

щие производные. Так, например, у некоторых представителей бурых и зеленых водорослей обнаружены  $\alpha$ -пинен, терпинолен, 1,8-цинеол, карвон, линалоол, гераниол, у красных — виридианол [1, 2, 7, 8-13]. Интересным для изучения для нас стал терпеноидный состав слоевищ *Padina pavonica* (L.) Gaill. и *Fucus vesiculosus* L. Ранее мы изучали жирнокислотный, макро- и микроэлементный состав этих водорослей, определяли в них количественное содержание каротиноидов и хлорофиллов [3-6, 14, 15].

Целью настоящей работы являлось хромато-масс-спектрометрическое определение компонентного состава слоевищ падины павлиньей (*Padina pavonica* (L.) Gaill.) — бурой водоросли семейства диктиотовые (*Dictyotaceae*) и фукуса пузырчатого (*Fucus vesiculosus* L.) — бурой водоросли семейства фукусовые (*Fucaceae*).

#### Материалы и методы

Слоевища водорослей заготавливали в июле 2009 года в прибрежной полосе Средиземного моря вблизи г. Тир (Ливан).

Для исследований использовали виалы Agilent вместимостью 22 мл с открытыми крышками и силиконовым уплотнением. В уплотнении просверливали отверстие, куда вставляли воздушный холодильник, представляющий собой обычную стеклянную трубку длиной 50 см и диаметром (5-7) мм. Затем в виалу помещали 1 г испытуемого растительного сырья, заливали водой до половины уровня виалы, прикручивали крышку с холодильником и помещали в небольшую песчаную баню с регулируемым подогревом. Степень подогрева рассчитывали заранее таким образом, чтобы пары кипящей воды не уходили из холодильника, а поднимались не выше 75% его длины. Кипятили в течение 1 ч, затем трубку с крышкой снимали, а обратный холодильник промывали дважды (1-2) мл пентата. Смыв собирали в виалу Agilent вместимостью 12 мл с закрытой крышкой и силиконовым уплотнением. В полученный раствор прибавляли (10-15) мг натрия сульфата и выпаривали в токе особо чистого азота до объема 50 мкл.



Таблица

Компонентный состав слоевищ *Padina pavonica* (L.) Gaill. и *Fucus vesiculosus* L.

№	Время удерживания	Вещество	Содержание, % (м/м)					
			1	2	3	4	5	6
1.	3.15	гексаналь	—	—	—	—	0.11	0.18
2.	4.57	диметилсульфоксид	—	0.28	—	—	—	—
3.	5.02	гептаналь	—	—	—	—	0.03	0.05
4.	6.38	гептаналь-2	—	—	—	—	0.06	0.12
5.	6.90	3-оксимасляная кислота	—	—	—	—	—	0.23
6.	7.36	2-амилфуран	—	—	—	—	0.06	0.09
7.	8.55	капроновая кислота	—	0.45	—	0.76	0.05	—
8.	9.39	2-октеналь	—	—	—	—	0.02	0.05
9.	10.36	энантовая кислота	—	—	—	0.28	—	—
10.	10.91	нонаналь	—	—	—	0.26	0.16	0.12
11.	10.94	глицерин	—	—	18.64	—	—	—
12.	11.27	2,6-диметилциклогексанол	0.61	0.17	—	—	—	—
13.	13.57	каприловая кислота	—	—	—	0.43	—	—
14.	14.28	деканаль	—	—	—	0.36	—	—
15.	16.05	3-этил-4-метил-1Н-пиррол-2,5-дион	—	0.36	—	—	0.23	0.20
16.	16.15	2-деценаль	—	—	—	—	0.21	0.69
17.	16.78	1,5-октадиен-3-ол	—	—	—	—	—	1.41
18.	16.81	пеларгоновая кислота	—	—	—	0.81	—	—
19.	16.85	виниламилкетон	—	—	—	—	1.85	—
20.	21.71	2-ацетилциклопентанон	—	0.77	—	—	—	—
21.	23.56	β-ионон	1.83	0.29	—	—	—	—
22.	25.08	дигидроактинидиолид	—	0.87	0.17	—	0.75	0.49
23.	26.22	лауриновая кислота	—	1.08	0.13	—	—	—
24.	28.28	тридекановая кислота	—	0.70	—	—	—	—
25.	28.38	фитан	—	—	—	1.45	—	—
26.	29.42	лолиолид	—	—	—	—	—	10.14
27.	29.72	миристиновая кислота	—	9.16	3.74	7.25	31.12	20.84
28.	29.93	этилмиристат	—	—	0.91	—	—	—
29.	30.50	неофитадиен	—	2.22	1.76	16.16	0.76	1.32
30.	30.60	гексагидрофарнезилacetон	2.29	1.63	0.34	—	5.32	4.33
31.	30.81	неофитадиен (изомер)	—	—	0.47	6.12	0.96	0.47
32.	31.04	неофитадиен (изомер)	—	—	0.90	—	—	—
33.	31.90	пальмитолеиновая кислота	—	—	0.90	3.27	—	—
34.	32.19	пальмитиновая кислота	—	19.05	13.30	12.5	25.93	34.61
35.	32.38	этилпальмитат	—	7.97	5.29	—	—	—
36.	33.65	фитол	—	1.04	—	—	1.25	—
37.	33.92	олеиновая кислота	—	6.12	2.94	3.36	15.43	6.84
38.	33.93	стеариновая кислота	—	—	—	—	—	0.94
39.	34.02	этиллинолеат	—	—	0.40	—	—	—
40.	34.08	этилолеат	—	6.27	7.39	—	—	—
41.	34.11	линолевая кислота	—	—	—	—	—	1.15
42.	34.30	этилстеарат	—	—	0.51	—	—	—
43.	35.15	γ-токоферол	—	0.21	18.17	—	—	—
44.	35.23	γ-токоферол (изомер)	—	0.91	—	—	—	—

№	Время удерживания	Вещество	Содержание, % (м/м)					
			1	2	3	4	5	6
45.	35.90	4,8,12,16-тетраметилгептадекан-4-олид	—	1.05	—	—	—	—
46.	37.33	β-токоферол	—	0.25	10.80	—	—	—
47.	37.66	β-токоферол (изомер)	—	1.55	10.80	—	—	—
48.	38.16	β-ситостерол	—	—	2.10	—	—	—
49.	39.68	сквален	26.99	2.19	—	17.02	—	—

Примечания:

- 1 — слоевица *Padina pavonica* (L.) Gaill.;
- 2 — хлороформный экстракт слоевищ *Padina pavonica* (L.) Gaill.;
- 3 — спиртовой экстракт слоевищ *Padina pavonica* (L.) Gaill.;
- 4 — слоевица *Fucus vesiculosus* L.;
- 5 — хлороформный экстракт слоевищ *Fucus vesiculosus* L.;
- 6 — спиртовой экстракт слоевищ *Fucus vesiculosus* L..

Состав определяли на хроматографе Agilent Technology 6890N с масс-спектрометрическим детектором 5973N. Условия анализа: хроматографическая колонка кварцевая, капиллярная HP-5MS. Длина колонки — 30 м, внутренний диаметр — 0.25 мм. Газ-носитель — гелий. Скорость газа-носителя — 1 мл/мин. Ввод пробы с делением потока — 1/50. Температура термостата — 50 °С с программированием 4 °/мин до 220 °С. Температура детектора и испарителя — 250 °С. Компоненты идентифицировали путем сравнения полученных масс-спектров химических веществ с масс-спектрами эталонных веществ из библиотеки масс-спектров NIST02, которые с наибольшей вероятностью идентифицировала программа распознавания [8]. Количественное содержание идентифицированных веществ определяли методом абсолютной калибровки.

Нами также был определен компонентный состав хлороформных и спиртовых экстрактов, полученных из водорослей. Хлороформные экстракты получали методом исчерпывающей экстракции сырья растворителем в аппарате Сокслета, спиртовые — экстракцией 96 % спиртом. Экстракты упаривали до полного удаления экстрагентов [3, 5].

#### Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенных исследований в слоевищах падины обнаружено 22 компонента, в хлороформном и спиртовом экстрактах этого сырья — 73 и 39 компонентов, соответственно. В слоевищах фукуса обнаружено 33 компонента, в хлороформном и спиртовом экстрактах этого сырья — 37 и 43 компонента, соответственно. Большая часть обнаруженных веществ идентифицирована (Таблица).

Из полученных данных видно, что в слоевищах бурых водорослей падины павлиньей и фукуса пузырчатого в значительном количестве обнаружен тритерпен сквален, который при биосинтезе выполняет функцию предшественников многих тритерпеноидов. Глицерин и β-ситостерол обнаружены только в спиртовом экстракте слоевищ падины. Из терпенов и их кислородсодержащих производных в сырье также идентифицированы: дитерпен фитол, входящий в состав хлорофилла и поэтому являющийся самым распространенным в растениях изопреноидом, гексагидрофарнезилацетон, неофитадиен и дигидроактиндиол. В слоевищах падины впервые обнаружены β-ионон, 2-ацетилциклопентанон; 4,8,12,16-тетраметилгептадекан-4-олид; 2,6-диметилциклогексанол и диметилсульфоксид. В слоевищах фукуса впервые обнаружены альдегиды гексаналь, гептаналь, гептаналь-2, 2-октеналь, 2-деценаль, нонаналь, деканаль, а также виниламилкетон, фитан, амилфуран, 1,5-октадиен-3-ол и монотерпеновый лактон лолиол, обладающий противоопухолевой активностью.

В слоевищах падины подтверждено содержание миристиновой, пальмитиновой, олеиновой кислот [5], обнаружены капроновая, лауриновая и тридекановая кислоты. В слоевищах фукуса пузырчатого подтверждено содержание миристиновой, пальмитиновой, олеиновой, линолевой кислот [3], обнаружены 3-оксимасяная, капроновая, энантовая, каприловая, пеларгоновая, пальмитолеиновая и стеариновая кислоты. В слоевищах падины (в хлороформном и спиртовом экстрактах) обнаружены витамины группы E (β- и γ-токоферолы), обладающие антиоксидантными свойствами.

В составе исследуемого сырья также идентифицированы алканы. В слоевищах падины обнаружены декан (0.36 %), тетрадекан (0.62 %), пентадекан (1.76 %), гексадекан (1.07 %), гептадекан (1.48 %), 2,6,10,14-тетраметилпентадекан (0.96 %), октадекан (1.06 %), докозан (1.44 %), трикозан (4.29 %), тетракозан (2.73 %), пентакозан (1.87 %), гексакозан (36.40 %), гептакозан (2.07 %). В слоевищах фукуса обнаружены декан (1.30 %), ундекан (0.56 %), додекан (1.07 %), 2,4-диметилундекан (0.37 %), 2,3,7-триметилгектан (0.31 %), тридекан (1.72 %), 2,6,11-триметилдодекан (0.98 %), тетрадекан (2.38 %), 2,6,10-триметилдодекан (0.98 %), пентадекан (2.01 %), гексадекан (2.56 %), гептадекан (1.57 %), эйкозан (1.47 %).

### Выводы

Хромато-масс-спектрометрическим методом проведена идентификация и установлено содержание БАВ слоевищ падины павлиньей (не менее 50 веществ) и фукуса пузырчатого (не менее 37 веществ). Некоторые вещества идентифицированы впервые.

В сырье исследуемых бурых водорослей преобладают пальмитиновая, миристиновая и олеиновая кислоты, сквален, неофитадиен, гексагидрофарнезиллацетон и фитол. В слоевищах падины также обнаружены глицерин,  $\beta$ -ситостерол,  $\beta$ - и  $\gamma$ -токоферолы,  $\beta$ -ионон; в слоевищах фукуса — лолиолд, нонаналь и др. БАВ.

Слоевища падины павлиньей и фукуса пузырчатого являются перспективным сырьем для дальнейшего фармакогностического изучения.

### ЛИТЕРАТУРА

- Барашков Г.К. Сравнительная биохимия водорослей / Г.К. Барашков. — М.: Пищевая промышленность, 1972. — 336 с.
- Биологически активные вещества гидробионтов — новый источник лекарств / Под ред. О.Г. Саканделидзе и Р.Е. Кипиани. — Кишинев: Штиинца, 1979. — 248 с.
- Канаан Х.М. Аміно- та жирнокислотний склад *Fucus vesiculosus* L. / Х.М. Канаан, О.В. Криворучко, Х.Я. Маклауф // Вісник фармації. — 2003. — Т. 36. - Вып. 4. — С. 60-63.
- Канаан Х.М. Макро-, мікроелементний та амінокислотний склад бурой водорості *Padina pavonica* / Х.М. Канаан, О.В. Криворучко, С. Авада, А. Яссін. // Вісник фармації. — 2009. — Т. 58. - Вып. 2. — С. 20-23.
- Канаан Х.М. Химический анализ жирных кислот, каротиноидов и хлорофиллов бурой водоросли *Padina pavonica* / Х.М. Канаан, Е.В. Криворучко, Г. Халаф и др. // ЖОФХ. — 2008. — Т. 6, № 2 (22). — С. 71-75.
- Криворучко О.В. Перспективи створення фітопрепаратів на основі бурих водорослей // Сьогодні та майбутнє фармації: Тез. доп. Всеукр. конгресу, м. Харків, 16-19 квітня 2008 року. — Х., 2008. — С. 151.
- Криворучко О.В. Фукус пухирчастий // Фармацевтична енциклопедія / Під ред. В.П. Черних. — К.: «МОПІОН», 2005. — С. 796-797.
- Черногород Л.Б. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea* (Asteraceae), содержащие фразганола / Л.Б. Черногород, Б.А. Виноградов // Растит. ресурсы. — 2006. — Т. 42. - Вып. 2. — С. 61-68.
- Amsler C.D. Algal Chemical Ecology / C.D. Amsler. — Verlag Berlin, Heidelberg: Springer, 2008. — 313 p.
- Cytotoxic xenicane diterpenes from the brown alga *Padina pavonica* (L.) Gaill. / N.E. Awad, M.A. Selim, H.M. Metawe et al. // Phytotherapy Research. — 2008. — Vol. 22, № 12. — P. 1610-1613.
- Bhakuni D.S. Bioactive Marine Natural Products / D.S. Bhakuni, D.S. Rawat. — India, NewDelhi: Anamaya Publishers, 2005. — 397 p.
- A comparative study on the sterol composition of some brown algae from the Black Sea / Z.G. Kamenarska, S.D. Dimitrova-Konaklieva, K.L. Stefanov et al. // J. Serb. Chem. Soc. — 2003. — Vol. 68, № 4-5. — P. 269-275.
- Chemical Composition of the Brown Alga *Padina Pavonia* (L.) Gaill. from the Adriatic Sea / Z.G. Kamenarska, M.J. Gasic, M. Zlatovic et al. // Botanica Marina. — 2002. — Vol. 45, № 4. — P. 339-345.
- Macroelements of *Fucus vesiculosus*, in Lebanon / H. Kanaan, E.V. Krivoruchko, H. Makhoul et al. // Arab Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2004. — Vol. 2, № 8. — P. 15-21.
- Trace elements and lipids in *Padina pavonica*, in Lebanon / H. Kanaan, E.V. Krivorushko, H. Makhoul et al. // Arab Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2005. — Vol. 2, № 10. — P. 21-28.

### Резюме

Криворучко О.В., Канаан Х.М., Ковальов В.М.

### Хромато-мас-спектрометричний аналіз компонентного складу бурих водоростей *Padina pavonica* (L.) Gaill. і *Fucus vesiculosus* L.

Методом хромато-мас-спектрометрії у бурих водоростях *Padina pavonica* (L.) Gaill. і *Fucus vesiculosus* L. ідентифіковано до 70 компонентів, основними з яких є пальмітинова, міристинова та олеїнова кислоти, сквален, неофітадієн, гексагідрофарнезиллацетон і фітол.

### Summary

Krivoruchko Ye.V., Kanaan H.M., Kovalev V.N.

### Chromato-mass-spectrometry analysis of the composition of *Padina pavonica* (L.) Gaill. and *Fucus vesiculosus* L.

About 70 substances from *Padina pavonica* (L.) Gaill. and *Fucus vesiculosus* L. have been identified by chromatomass-spectrometry method. The main compounds were palmitic, myristic and oleic acids, squalene, neophytadiene, hexahydrofarnesylacetone and phytol.

**Криворучко Елена Викторовна.** Окончила Харьковский фармацевтический институт (1992). К.фарм.н. (1996). Доцент кафедры фармакогнозии НФаУ (1999).

**Канаан Хуссейн Мусса.** Д.фарм.н. Профессор фармацевтического факультета Ливанского университета.

**Ковалев Владимир Николаевич.** Д.фарм.н. Профессор. Заведующий кафедрой фармакогнозии НФаУ.

Ільїна Т.В., Ковальова А.М., Горяча О.В.  
Національний фармацевтичний університет

### Хроматографічне дослідження фенілпропаноїдів трави *Galium carpaticum* Klok.

У траві *Galium carpaticum* Klok. хроматографічно виявлено 22 фенольні сполуки, серед них 8 фенолкарбонових кислот і 9 флавоноїдів. Методом вискоефективної рідинної хроматографії ідентифіковано 6 похідних фенілпропаноїдів та встановлено їх кількісний вміст: 3-кофеїлхіної кислоти (0.11 %), 3,5-дикофеїлхіної кислоти (0.04 %), 4,5-дикофеїлхіної кислоти (0.01 %), лютеолін-7-О-галактозиду (0.01 %), лютеолін-7-О-глюкозиду (0.16 %), лютеоліну (0.09 %). Вміст флавоноїдів у траві підмаренника карпатського, у перерахунку на цинарозид, становить (2.63±0.12) %, гідроксикоричних кислот – (1.47±0.05) %, у перерахунку на 3-кофеїлхіну кислоту.

Види роду підмаренник (*Galium* L.) родини маренові (*Rubiaceae* Juss.), широко розповсюджені в Україні, відрізняється поліморфізмом і гібридизацією, що утруднює їх визначення та класифікацію роду.

Підмаренники широко використовуються у народній медицині, що надає актуальності проблемі хімічного дослідження біологічно активних речовин (БАР) видів цього роду [8, 10-12].

Продовжуючи фітохімічне вивчення роду *Galium* [1 – 3, 5, 7, 9], нами хроматографічно досліджено БАР підмаренника карпатського (*Galium carpaticum* Klok.), розповсюдженого у гірських букових лісах Карпат. Рослина відноситься до секції *Leiogalium* (DC.) Ledeb., для видів якої характерними БАР є глікозиди апігеніну, лютеоліну, діосметину, кверцетину та похідні хлорогенової кислоти. Це створює передумови для використання представників цієї секції як перспективних джерел зазначених вище БАР.

Раніше було встановлено, що трава підмаренника карпатського містить іридоїди, терпеноїди, флавоноїди: лютеоліну-7-арабінозилглюкозид, ізоройфолін, палюстроїд, ізорутин; гідроксикоричні кислоти: 3- та 5-кумароїлхіну, хлорогенову; підземні органи – антрахінони [4]. Проте, систематичних робіт із дослідження БАР підмаренника карпатського не проводилось.

Метою даної роботи є встановлення складу та визначення вмісту фенілпропаноїдів у траві підмаренника карпатського.

#### Матеріали та методи

Сировину було заготовлено у фазі цвітіння в районі м. Яремче Івано-Франківської області влітку 2009 року.

Попереднє хроматографічне дослідження фенілпропаноїдів проводили методом паперової хроматографії (ПХ). Для цього у колбу місткістю 50 мл поміщали 1.0 г повітряно-сухої трави підмаренника карпатського, заливали 20 мл 70 % спирту, приєднували колбу до зворотного холодильника та нагрівали на водяній бані про-

тягом 1 год. Після охолодження суміш фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну колбу місткістю 20 мл і доводили розчинником до позначки (розчин А). Розчин А використовували для кількісного визначення флавоноїдів. 2 мл розчину А концентрували під вакуумом на водяній бані до половини попередньо взятого об'єму та використовували для хроматографування із вірогідними зразками лютеоліну, цинарозиду та 3-кофеїлхіної кислоти. Хроматографування проводили висхідним методом: одновимірну ПХ – у системі 2 % оцтова кислота; двовимірну ПХ – у системах: етилацетат – кислота мурашина - вода (10:2:3) – I напрямом, 15 % оцтова кислота – II напрямом. Після висушування хроматограми обробляли паром аміаку, 10 % спиртовим розчином натрію гідроксиду, 2 % спиртовим розчином алюмінію хлориду.

Для дослідження фенілпропаноїдів використовували вискоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ) [6, 13]. Для аналізу фенольних речовин методом ВЕРХ 500 мг здрібненої повітряно-сухої сировини зважували у мірній пробірці місткістю 5 мл і доводили 90 % метанолом до позначки. Витримували в ультразвуковій бані протягом 30 хв, настоювали при кімнатній температурі протягом (3-4) год, після чого знову поміщали в ультразвукову баню на 15 хв, потім розчин фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну пробірку місткістю 5 мл, доводили розчинником до позначки, після чого фільтрували крізь мембранний тефлоновий фільтр із розміром пор 0.45 мкм у віалу для аналізу. Для порівняння готували 0.05 % метанольні розчини 3-кофеїлхіної, 3,5-, 4,5-дикофеїлхіної кислот, лютеоліну, лютеоліну-7-глюкозиду, лютеоліну-7-галактозиду (використовували стандартні зразки фірми «Sigma»). Досліджувані сполуки підмаренника карпатського ідентифікували за часом утримування стандартних зразків і характеристиками УФ-спектрів.

Аналіз проводили на хроматографі фірми «Agilent Technologies» (модель 1100), укомп-



лектованим проточним вакуумним дегазатором G1379A, 4-х канальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, діодноматричним детектором G1316A. Використовували хроматографічну колонку розміром 2.1 × 150 мм, заповнену октадецилсилільним сорбентом зернистістю 3.5 мкм, «ZORBAX-SB C-18». Як рухому фазу використовували суміш трифтороцтової кислоти (TFA) та метанолу (MeOH) (Табл. 1).

Таблиця 1

Градiєнтний режим хроматографування

Час (хв)	A % (0.2% TFA)	B % 70 % MeOH (0.2% TFA)	C % 100 % MeOH
0	92	8	0
8	62	38	0
24	0	100	0
24.1	0	0	100
29	0	0	100
29.1	92	8	0
35	92	8	0

Умови хроматографування: швидкість подання рухомої фази 0.25 мл/хв; температура

колонок — 32 °С; об'єм проби — 5 мкл; довжина хвилі — 350 нм.

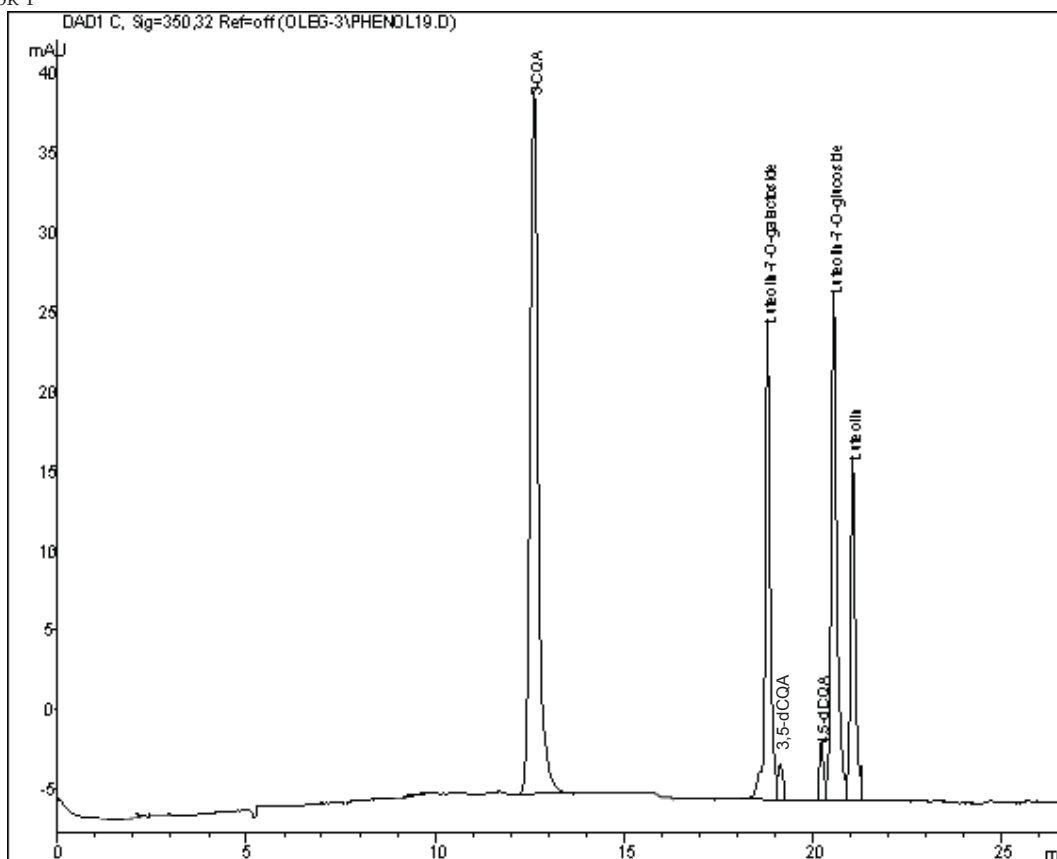
Кількісне визначення похідних гідроксикоричної кислоти та флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом, використовуючи розчин А. Вміст похідних гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову, визначали за довжини хвилі 327 нм (n = 5). Вміст суми флавоноїдів визначали за довжини хвилі 400 нм після утворення комплексу з алюмінію хлоридом, у перерахунку на комплекс цинариду з алюмінію хлоридом (n = 5).

Результати досліджень та їх обговорення

При дослідженні етанольного витягу трави підмаренника карпатського методом паперової хроматографії у 2 % оцтовій кислоті в УФ-світлі було виявлено 6 плям синьої, бірюзової та жовтої флуоресценції, із яких 5 відповідають фенолкарбонієвим та гідроксикоричним кислотам, 1 — флавоноїдам (у порівнянні із достовірним зразком було ідентифіковано 3-кофеїлхінову кислоту).

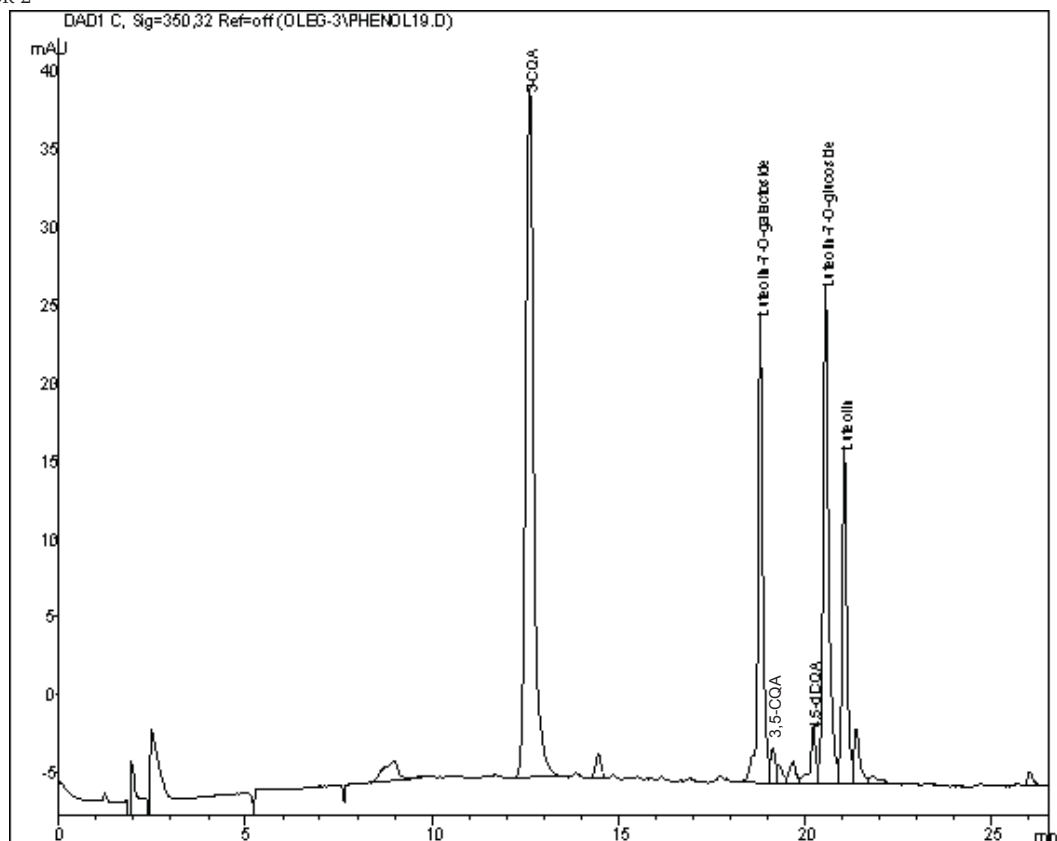
При хроматографуванні методом ПХ було виявлено 22 фенольні сполуки, із яких 8 сполук віднесено до фенолкарбонієвих і гідроксикоричних кислот, 9 — до флавоноїдів. За зна-

Рисунок 1



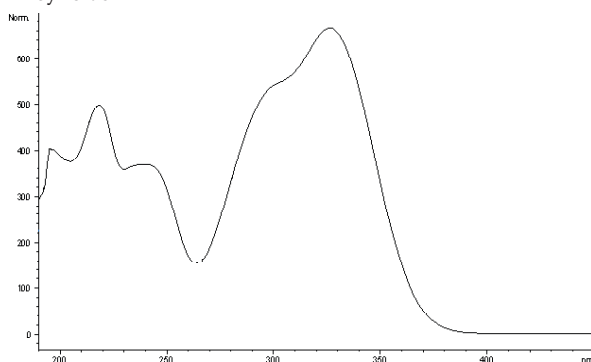
Хроматограма суміші стандартних зразків

Рисунок 2



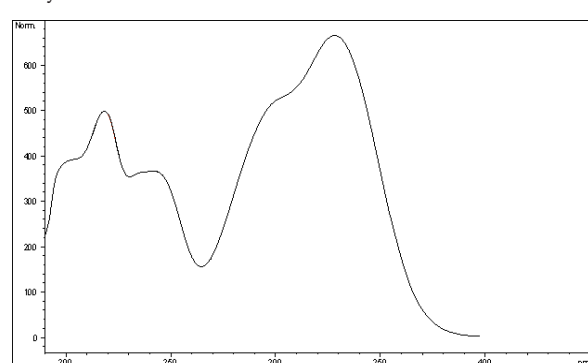
Хроматографічний профіль екстракту підмаренника карпатського трави

Рисунок 3



УФ-спектр СЗ 3-кофеїлхіної кислоти

Рисунок 4

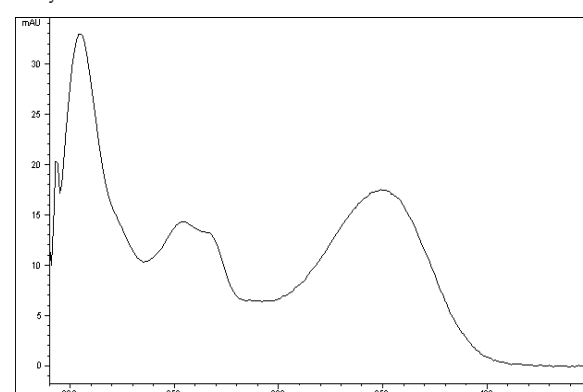


УФ-спектр СЗ дикофеїлхіних кислот

ченням  $R_f$ , характером забарвлення плям після обробки хромогенними реактивами при денному світлі, а також флуоресценції в УФ-світлі до і після обробки хромогенними реактивами у порівнянні з достовірними зразками було ідентифіковано 3-кофеїлхіну кислоту, лютеолін і цинарозид.

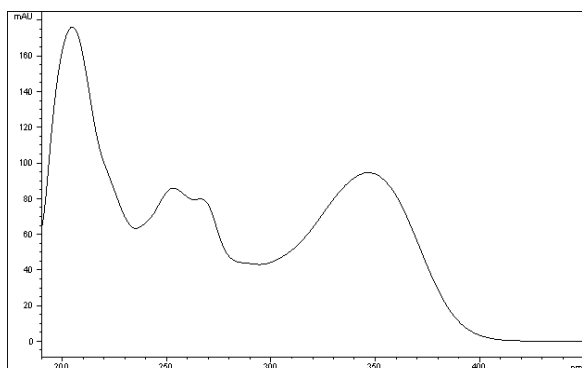
Метанольний екстракт підмаренника карпатського трави досліджували методом ВЕРХ (Рис 1, 2) УФ-спектри 6 фенілпропаноїдів повністю відповідають УФ-спектрам стандартних зразків (СЗ), що наведені на Рис. 3-7.

Рисунок 5



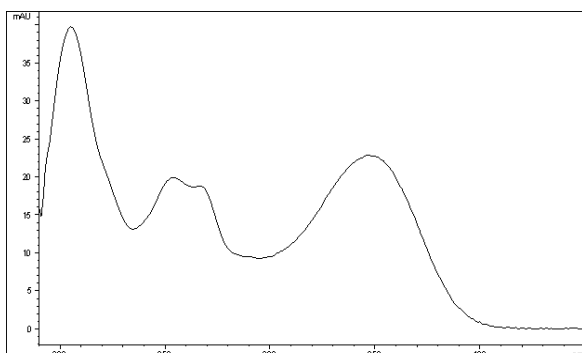
УФ-спектр СЗ лютеолін-7-О-галактозиду

Рисунок 6



УФ-спектр СЗ лютеолін-7-О-глюкозиду

Рисунок 7



УФ-спектр СЗ лютеоліну

У результаті дослідження методом ВЕРХ було виявлено та ідентифіковано 6 сполук, якісний склад і кількісний вміст їх у сировині наведено в Табл. 2.

Підмаренника карпатського трава містить (мг/100г сировини) гідроксикоричні кислоти: 3-кофеїлхіну – 106.2; 3,5-дикофеїлхіну – 37.4; 4,5-дикофеїлхіну – 4.8; флавоноїди: лютеолін-7-О-галактозид – 7.9; лютеолін-7-О-глюкозид – 157.8; лютеолін – 91.0. Основним компонентом гідроксикоричних кислот є 3-кофеїлхіна кислота. Незначну частину складають 3,5- та 4,5-дикофеїлхіні кислоти. Основним компонентом серед флавоноїдів є 7-О-глюкозид лютеоліну (цинарозид), що відрізняє

*Galium carpaticum* Клок. від інших представників роду, де превалюють рутин та ізорутин.

У результаті досліджень встановлено, що підмаренника карпатського трава містить (2.63±0.12) % флавоноїдів, (1.47±0.05) % гідроксикоричних кислот.

**Висновки**

У підмаренника карпатського трави хроматографічно виявлено 22 сполуки фенольної природи.

Вперше методом ВЕРХ ідентифіковано 6 фенольних сполук та встановлено їх кількісний вміст: 3-кофеїлхінової кислоти (0.11 %), 3,5-дикофеїлхінової кислоти (0.04 %), 4,5-дикофеїлхінової кислоти (0.01 %), лютеолін-7-О-галактозиду (0.01 %), лютеолін-7-О-глюкозиду (0.16 %), лютеоліну (0.09 %).

Вміст флавоноїдів, у перерахунку на цинарозид, у підмаренника карпатського трави становить (2.63±0.12) %, гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову, – (1.47±0.05) %.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Амінокислотний склад кореневищ з коренями і трави *Galium verum* L. / Т.В. Ільїна, О.В. Горяча, А.М. Ковальова, О.В. Андрусенко, А.М. Комісаренко // Фармаком. - 2009. - № 1. - С. 41-44.
2. Горяча О.В. Фенольні сполуки *Galium hercynicum* Weigel. / О.В. Горяча., Т.В. Ільїна, А.М. Ковальова // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених (21-22 квітня 2010 року). - Х.: Вид-во НФаУ, 2010. - С. 45.
3. Ільїна Т.В. Компонентний склад петролейної, хлороформної та етилацетатної фракцій трави *Galium verum* / Т.В. Ільїна, А.М. Ковальова, О.В. Горяча // Український біофармацевтичний журнал. - 2009. - № 5. - С. 31-36.
4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Carpfoliaceae-Plantaginaceae. - Л.: Наука, 1990. - 326 с.
5. Фенольні сполуки трави підмаренника сланкого / О.В. Горяча, М.О. Власенко, Ю.І. Кочубей, Т.В. Ільїна, А.М. Ковальова // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених (21-22 квітня 2010 року). - Х.: Вид-во НФаУ, 2010. - С. 44.
6. Хенке Х. Жидкостная хроматография. - М.: Мир химии, 2009. - 264с.

Таблиця 2

Ідентифіковані фенолпропаноїди підмаренника карпатського трави та їх вміст у сировині

№	Сполука	Вміст (%)	Вміст (мг/100 г сировини)	Час утримування, хв.	Спектральні характеристики (макс., нм)
1	3-кофеїлхіна кислота	0.11	106.2	12.64	218-243-304-327
2	3,5-дикофеїлхіна кислота	0.04	37.4	18.83	218-245-304-329
3	4,5-дикофеїлхіна кислота	0.01	4.8	20.24	220-240-308-327
4	лютеолін-7-О-галактозид	0.01	6.9	18.61	203-255-266-351
5	лютеолін-7-О-глюкозид	0.16	157.8	20.58	203-252-268-344
6	лютеолін	0.09	91.0	21.06	205-253-267-347

7. Хромато-мас-спектрометричне дослідження сполук етанольного екстракту з трави підмаренника справжнього / Т.В. Ільїна, А.М. Ковалева, О.М. Гриценко, О.В. Горяча // 36. наук.пр. НМАПО. - 2009. - Вип. 11. - Т. 1 — С. 427-432.
8. Chemical constituents of *Galium verum* / C. Zhao, J. Shao, D. Cao, Y. Zhang, X. Li // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. — 2009. — Vol. 34, № 21. - P. 2761-2764.
9. Essential oil from *Galium verum* flowers / T.V. Il'ina, A.M. Kovaleva, O.V. Goryachaya, A.N. Aleksandrov // Chemistry of Natural Compounds. — 2009. - Vol. 45, № 4. — P. 587-588.
10. Iridoidic pattern in endemic Sardinian plants: the case of *Galium* species / A.M. Serrilli, A. Ramunno, F. Amicucci, V. Chicarella, S. Santoni, M. Ballero, M. Serafini, A. Bianco // Nat. Prod. Res. — 2008. — Vol. 22. — № 10. — P. 618-622.
11. Iridoids, Flavonoids and Monoterpene Glycosides from *Galium verum* subsp. *verum* / O. Demirezer, F. Gürbüz, Z. Güvenalp, K. Stroch, A. Zeeck // Turk. J. Chem. — 2006. - № 30. — P. 525–534.
12. Phenolic compounds from *Galium aparine* var. *tenerum* / J. Yang, X. Cai, S. Mu, X. Yang // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. — 2009. — Vol. 34, № 14. — P. 1802-1804.
13. Rapid HPLC Analysis of Phenolic Compounds in Red Wines / M. Ibern-Gomez, C. Andres-Lacueva, R.M. Lamuela-Raventos, A.L. Waterhouse // Am. J. Enol. Vitic. — 2002. — Vol. 53, № 3. — P. 218–221.

**Резюме**

Ильина Т.В., Ковалева А.М., Горячая О.В.

**Хроматографическое исследование фенилпропаноидов травы *Galium carpaticum* Klok.**

В траве *Galium carpaticum* Klok. хроматографически обнаружены 22 фенольных соединения, среди них 8 фенолкарбоновых кислот и 9 флавоноидов. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии идентифицированы 6 производных фенилпропаноидов и установлено их количественное содержание: 3-кофеилхинной

кислоты (0.11 %), 3,5-дикофеилхинной кислоты (0.04 %), 4,5-дикофеилхинной кислоты (0.01 %), лютеолин-7-О-галактозида (0.01 %), лютеолин-7-О-глюкозида (0.16 %), лютеолина (0.09 %). Содержание флавоноидов в траве *Galium carpaticum* Klok., в пересчете на цинарозид, составляет (2.63±0.12) %, гидроксикоричных кислот — (1.47±0.05) %, в пересчете на 3-кофеилхинную кислоту.

**Summary**

Ilyina T.V., Kovalyova A.M., Goryachaya O.V.

**Chromatographic study of phenylpropanoids of *Galium carpaticum* Klok. herb**

In *Galium carpaticum* Klok. herb using chromatographic methods 22 phenolic compounds have been identified, among them 8 phenylcarboxylic acids and 9 flavonoids have been found. By HPLC 6 phenylpropanoid derivatives were identified and quantified: 3-caffeoylquinic acid (0.11 per cent), 3,5-dicaffeoylquinic acid (0.04 per cent), 4,5-dicaffeoylquinic acid (0.01 per cent), luteolin-7-O-galactoside (0.01 per cent), luteolin-7-O-glycoside (0.16 per cent), luteolin (0.09 per cent). The content of flavonoids in *Galium carpaticum* Klok. herb, expressed as cynaroside, were 2.63±0.12 per cent; the quantitative content of hydroxycinnamic acids, expressed as 3-caffeoylquinic acid, was 1.47±0.05 per cent.

**Ільїна Тетяна Василівна.** К.фарм.н. Доцент кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

**Ковальова Алла Михайлівна.** Д.фарм.н. Професор Національного фармацевтичного університету.

**Горяча Ольга Володимирівна.** Магістрант кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

## Готові лікарські засоби

---

УДК 615.457.07

Андрюкова Л.Н., Фетисова Е.Г., Сиденко Л.Н.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»

### Оценка величин дозы препаратов-генериков украинского производства и референтных препаратов – этап фармацевтической разработки глазных капель

Статья посвящена изучению величины дозы препаратов-генериков украинского производства и референтных препаратов в форме глазных капель. Установлено, что капельницы, применяемые для исследуемых препаратов, позволяют извлекать однородные по массе дозы, рассчитанные величины не превышают критерии приемлемости: воспроизводимость дозы дозирующими устройствами выборки - величины *RSD* не превышают 7.5 %, отклонения масс доз от  $X_{cp,tot} < (\pm 20) \%$ ; однородность масс дозы каждого вида капельниц - отклонения индивидуальных масс доз от  $X_{cp,tot} < (\pm 30) \%$ ,  $RSD_{tot} < 10 \%$ . Величины дозы препаратов-генериков и референтных препаратов отличаются. Различия в дозах препаратов рассмотрено комплексно: с точки зрения статистической значимости разницы, физиологически оптимального объема дозы, терапевтической эффективности.

Несмотря на достижения последних лет в области создания различных систем доставки лекарственных веществ (ЛВ) в глаз, такая система доставки как глазные капли продолжает оставаться наиболее распространенной лекарственной формой (ЛФ) в офтальмологии. Согласно

различным информационным источникам [1-4], на долю глазных капель приходится (70-80) % из общей номенклатуры ЛФ для офтальмологии, что связано с их более низкой стоимостью, простотой в применении, традиционно-стью технологии производства по сравнению с другими системами доставки.



Инстилляцию препарата проводят капельным путем на роговицу глаза или в конъюнктивальный мешок нижнего века. Водные глазные капли легко закапывать, но время контакта с поверхностью глаза минимально, поэтому они требуют частого применения. Учитывая специфическую природу абсорбции в тканях глаза, это может привести к передозировке и токсическим поражениям. Низкая биодоступность данной ЛФ связана с трудностью проникновения ЛВ во внутренние структуры глаза из-за различных анатомических и патофизиологических барьеров и характеристик, присущих данной ЛФ. Основными недостатками глазных капель являются: различие в дозировании, непродолжительное время действия, вытекание и вымывание из глаза, необходимость высоких концентраций ЛВ и системные побочные эффекты.

В качестве основных путей увеличения биодоступности глазных капель рассматривают следующие.

1. Увеличение концентрации ЛВ в каждой капле. Ограничениями в данном случае являются: не всегда приемлемая растворимость ЛВ, возможность проявления системных побочных эффектов после проникновения избыточной части дозы с высокой концентрацией ЛВ в системный кровоток, плохая переносимость [5].

2. Увеличение вязкости глазных капель, что способствует продлению времени контакта с поверхностью глаза и более медленному высвобождению ЛВ [6]. Ограничениями в данном случае являются: изменение вязкообразующей способности используемого вязкообразователя при изменении pH среды; изменение внешнего вида растворов производных целлюлозы во время стерилизации, который после охлаждения и встряхивания растворов восстанавливается; препараты с высокой вязкостью не всегда хорошо переносятся глазом, могут способствовать слипанию век; плохая смешиваемость со слезной жидкостью, что может помешать диффузии ЛВ.

3. Уменьшение размера капли до физиологически приемлемых величин (20-25) мкл. Номинальный объем капли, извлекаемой с помощью различных видов капельниц [7, 8], колеблется в широких пределах, вплоть до 60 мкл. Такой объем не может удерживаться между веками, так как максимальный объем, который конъюнктивальный мешок может вместить, оценен в 30 мкл, из которых приблизительно 7 мкл - объем слезы [9]. В зависимости от положения головы и силы рефлекса моргания, вызванного инстилляцией, большая часть пре-

парата выливается на щеку, в результате чего в конъюнктивальной полости остается только (10-20) мкл препарата.

Введение большого объема препарата, чем может вместить конъюнктивальный мешок, приводит не только к потере зачастую дорогостоящего лекарства, а, прежде всего, снижает его эффективность. Для оптимизации дозирования глазных капель проводится большое количество исследований по изучению величины капли, извлекаемой с помощью различных видов капельниц; влияния различных факторов на величину капли и однородность дозирования; зависимости между величиной капли и терапевтической эффективностью и др. Данный вопрос рассматривался в наших предыдущих работах [10, 11].

Оптимизация величины дозы глазных капель как одного из путей улучшения эффективности данной ЛФ является не только предметом исследований, а и реалией сегодняшнего дня. Ведущими зарубежными фирмами для ряда глазных капель указывается конкретная величина дозы-капли, в большинстве своем — это референтные препараты. В [12] указано, что для фармацевтически эквивалентных препаратов в форме глазных капель (допускается замена компонентов, обеспечивающих одну и ту же функцию ЛФ) не требуется подтверждение терапевтической эквивалентности с референтным препаратом. Однако, большое количество результатов научных исследований указывает на различный терапевтический эффект применения составов глазных препаратов с различными веществами, выполняющими одну и ту же функцию в ЛФ [13, 14].

Аналогичная ситуация и с величиной дозы глазных капель. Большие различия в величине дозы глазных капель могут оказать влияние на комфортность применения препарата, и, как следствие, привести к изменению его эффективности. Требования нормативных документов, действующих в Украине, в основном, направлены на необходимость предоставления доказательства доставки воспроизводимой дозы для дозирующего устройства, являющегося частью лекарственного препарата (изучение эксплуатационных качеств упаковки), на что указывается в [15], а также в требованиях к материалам регистрационного досье формата СТД, распространяющихся на все ЛФ, например, в разделе 3.2.Р.2.4. Система упаковка/укупорка (3.2.Р.2 «Фармацевтическая разработка») [16].

В настоящее время в Украине отечественные фармацевтические предприятия в качестве первичной упаковки глазных капель применя-

ют пластмассовые и стеклянные контейнеры с различными видами капельниц. Данные виды капельниц часто отличаются от таковых для референтных препаратов тем набором характеристик, которые оказывают влияние на величину капли. Для того, чтобы разработанный препарат соответствовал выработанным критериям качества и обеспечивал аналогичную эффективность, целесообразно проводить сравнение величины дозы с таковой у референтного препарата, извлекаемой из контейнеров с помощью капельниц.

Целью настоящей работы является изучение величин массы дозы препаратов-генериков украинского производства и референтных препаратов в форме глазных капель, извлекаемой из многодозовых контейнеров, а также однородность дозирования и оценка данных величин.

#### Объекты и методы

Объектами исследований являлись:

- контейнеры с капельницами, используемые украинскими фармацевтическими предприятиями в качестве первичной упаковки для глазных капель, описанные в [17];
- герметичные контейнеры вместимостью 1 мл, 5 мл, 10 мл из полиэтилена низкой плотности без добавок, соответствующего требованиям [15] (код капельниц **A, B**);
- сборные контейнеры вместимостью 5 мл и 10 мл из полиэтилена низкой плотности без добавок, соответствующего требованиям [18] (код капельницы **C**);

— контейнеры из стекла медицинского марки УСП-1 вместимостью 5 мл и 10 мл с прилагаемой крышечкой-капельницей в стерильной вакуумной упаковке (код капельниц **D, E**).

#### глазные капли:

- отечественного производства : тимолол 0.5 %, дексаметазон 0.1 %, тропикамид 0.5 %, ципрофлоксацин 0.3 %, калия йодид 2.0 %, выпускаемые в отдельных видах изучаемых контейнеров;
- референтные препараты на основе аналогичных ЛВ и их концентраций производства зарубежных фирм, зарегистрированные на рынке Украины.

Основные аспекты методики исследования изложены в работе [14]. В качестве дозы принята 1 капля препарата, извлекаемая капельными устройствами. Количество доз в исследованиях составляло 20 капель исследованных глазных капель для каждого из 5 контейнеров одной серии. Статистический анализ результатов проведен согласно [18] по схеме, описанной в [11].

#### Результаты исследований и их обсуждение

В соответствии с методологией, обоснованной в предыдущих наших работах, проведен статистический анализ результатов и рассчитаны величины критериев оценки однородности дозы [19, 20]: отклонения масс доз в выборках от объединенной средней массы дозы ( $X_{cp,tot}$ ), относительное стандартное отклонение  $RSD$ ,

Таблица 1

#### Критерии качества величины дозы глазных капель

Вид капельницы	$X_{cp,tot}$	$RSD_{tot}$	$RSD$
<i>глазные капли Тимолол 0.5 %</i>			
A	30.6	7.94	4.35
C	32.6	4.57	2.99
E	33.2	10.49	3.19
референтный препарат	30.7	3.75	1.54
<i>глазные капли Тропикамид 0.5 %</i>			
B	32.8	5.43	2.33
референтный препарат	26.7	5.12	2.02
<i>глазные капли Дексаметазон 0.1 %</i>			
A	29.9	6.68	7.32
C	36.8	4.43	1.95
E	41.0	11.25	4.69
референтный препарат	34.8	5.22	5.32
<i>глазные капли Ципрофлоксацин 0.3 %</i>			
C	38.1	4.02	5.40
референтный препарат	38.0	2.52	2.45
<i>глазные капли Калия йодид 2.0 %</i>			
D	42.8	1.3	5.46
референтный препарат	46.0	0.82	4.87

рассчитанное для средних масс доз капельниц выборки (*RSD*), отклонения индивидуальных масс дозы во всем массиве данных от объединенного среднего значения масс дозы, объединенное относительное стандартное отклонение массы дозы (*RSD<sub>tot</sub>*). Результаты основных показателей приведены в Табл. 1.

Установлено, что капельницы, применяемые для препаратов-генериков, также, как и для референтных препаратов, позволяют извлекать однородные по массе дозы (за исключением капельницы **Е**) — рассчитанные величины не превышают критерии приемлемости: воспроизводимость дозы дозирующими устройствами выборки — величины *RSD* не превышают 7.5 %, отклонения масс доз от  $X_{cp,tot} < (\pm 20) \%$ ; однородность масс дозы каждого вида капельниц - отклонения индивидуальных масс доз от  $X_{cp,tot} < (\pm 30) \%$ , *RSD<sub>tot</sub>* < 10 %.

Величины дозы препаратов-генериков и референтных препаратов отличаются. Различие в дозах необходимо рассматривать комплексно: с точки зрения статистической значимости разницы, физиологически оптимального объема дозы, терапевтической эффективности. Разница в массах дозы для препаратов ципрофлоксацина 0.3 % является статистически незначимой. Для препаратов Тимолол 0.5 % и Дексаметазон 0.1 % отечественного производства в одних видах капельниц разница в массах дозы является статистически незначимой, в других — не пре-

вышает 10 % и является статистически значимой. Величина дозы глазных капель калия йодида 2 % отечественного производства также отличается от зарубежных, приблизительно, на 10 %. Для препаратов тропикамида разница в массах дозы составляет более 20 %. Результаты сравнения как пример для отдельных препаратов приведены в Табл. 2.

Если принять за основу физиологически приемлемую величину капли 25 мкл (масса равняется  $25 \times 1.004 = 25.1$  мг), то из полученных результатов видно, что применяемые капельницы, как для отечественных капель, так и зарубежных, позволяют извлекать капли с большими величинами, разница составляет от ~ 7 % (тропикамид референтный) до 70 % (калия йодид референтный). Чем ближе величина дозы-капли к физиологически приемлемой величине, тем комфортнее в применении капли при других одинаковых показателях качества. В этом случае не будет происходить слезотечения и вымывания препарата из глаза.

При проведении ограниченных доклинического (ГП «ГНЦАС») и клинического изучения препаратов не было зафиксировано различия в эффективности и переносимости референтных препаратов и препаратов-генериков. В настоящее время сделать достоверное заключение об имеющихся различиях в эффективности рассматриваемых препаратов нет возможности, так как это предполагает получение большого

Таблица 2

Результаты оценки статистической значимости разницы массы дозы глазных капель отечественного производства и референтных препаратов

Показатель	Калия йодид 2 %		Тропикамид 0.5 %		Ципрофлоксацин 0.3 %	
	капельница D	референтный препарат	капельница B	референтный препарат	капельница C	референтный препарат
$X_{cp,t}$ , мг	<b>42.8</b>	46.0	<b>32.8</b>	26.7	<b>38.1</b>	
<i>n</i>	<b>4</b>	3	<b>4</b>	5	<b>5</b>	5
<i>v</i>	<b>3</b>	2	<b>3</b>	4	<b>4</b>	4
<i>S<sub>t</sub></i> , мг	<b>2.34</b>	2.24	<b>0.77</b>	0.54	<b>2.06</b>	0.93
<i>S<sub>x cp,t</sub></i> , мг	<b>1.17</b>	1.29	<b>0.38</b>	0.24	<b>0.92</b>	0.42
<i>RSD<sub>t</sub></i> , %	5.46	4.87	<b>2.33</b>	2.02	<b>5.40</b>	2.45
<i>RSD<sub>x cp,t</sub></i> , %	<b>2.73</b>	2.81	<b>1.17</b>	0.9	<b>2.41</b>	1.09
<i>F<sub>эксп.</sub></i>		1.09		2.02		4.88
	<i>F</i> (95 %; 3;2)	<b>19.16</b>	<i>F</i> (95 %; 3;4)	<b>6.591</b>	<i>F</i> (95 %; 4;4)	6,388
	<i>F</i> (99 %; 3;2)	<b>99.17</b>	<i>F</i> (99 %; 3;4)	<b>16.69</b>	<i>F</i> (99 %; 4;4)	15,98
<i>S<sub>tot</sub></i>		2.30		0.65		1.60
<i>S<sub>p</sub></i>		1.76		0.43		1.01
<i>t<sub>эксп.</sub></i>		1.85		14.10		0.03
	t(0.95;5)	2.5706	t(0.95;7)	2.3646	t(0.95;8)	2.3060
	t(0.99;5)	4.0321	t(0.99;7)	3.4995	t(0.99;8)	3.3554

массива информации о применении препаратов в клинической практике, то есть пострегистрационное изучение, в информационных источниках такие данные отсутствуют. Поэтому необходимость продолжения работ в данном направлении является очевидной.

### Выводы

Оптимизация величины дозы является одним из путей улучшения биодоступности глазных капель.

Сравнение величин дозы препаратов-генериков и референтных препаратов в форме глазных капель должно проводиться на стадии фармацевтической разработки лекарственных форм, что даст возможность предварительно оценить их терапевтическую эффективность.

Изучение однородности дозирования препаратов-генериков украинского производства и референтных препаратов в форме глазных капель показало соответствие изучаемых объектов выработанным критериям приемлемости, что дает основание сделать вывод о возможности извлечения однородных капель с помощью различных видов капельниц, являющихся составным элементом многодозовых контейнеров.

Оценка величин дозы препаратов-генериков украинского производства и референтных препаратов в форме глазных капель показала наличие различий. Данные различия оценены на уровне статистической значимости и физиологически приемлемых величин дозы-капли.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Rote List. 2007: Arzneimittelverzeichnis für Deutschland. — Aulendorf: ECV, 2007.
2. Державний формуляр лікарських засобів / Під редакцією В.Т. Чумака, В.І. Мальцева, А.М. Морозова, В.Д. Парія, А.В. Степаненко. - Випуск другий. — К., 2010.
3. Lang J.C. Ocular drug delivery conventional ocular formulations / J.C. Lang // Adv. Drug Deliveri Rev. - 1995. - № 16. — P. 39-43.
4. Le Boursais. Ophthalmic drug delivery systems - Recert advances / Le Boursais, L. Acar, H. Zia, P.A. Sado, T. Needham T., R. Leverage // Progress in Retinal & Eye Res.- 1998. — Vol. 1, № 17. — P. 33-58.
5. Ophthalmic dosage forms. - Режим доступа: <http://www.pua.edu.edu/PUASite/uploads/>.
6. Grass G.M. Relationship of chemical structure to corneal penetration and influence of low-viscosity solution on ocular bioavailability / Grass G.M., Robinson J.R. // J. Pharm. Sci. — 1984. - Vol. 73, № 8. — P. 1021-1027.
7. Urtti A. Minimizing systemic absorption of topically administered ophthalmic drugs / A. Urtti, L. Salminen // Surv. Ophthalmol. — 1993. - Vol. 37. - P. 435-456.
8. German E.J. Reliability of drop size from multi-dose eye drop bottles: is it cause for concern? / E.J. German, M.A. Hurst, D. Wood // Eye. - 1999. - № 13. — Pt. 1. - P. 93-100.
9. Самаль И.Н. Анатомия, физиология и патология органа зрения: Учебное пособие. — Псков, 2004. — 164 с.
10. Андриюкова Л.Н. Величина дозы глазных капель, извлекаемой из многодозовых контейнеров: актуальность, про-

блемы, направления исследований / Л.Н. Андриюкова // Фармаком. — 2008. - № 3. — С. 16-21.

11. Андриюкова Л.Н. Изучение величины дозы глазных капель украинского производства, извлекаемой из многодозовых контейнеров / Л.Н. Андриюкова // Фармаком. - 2009. - № 4. — С. 33-44.

12. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний центр». — 1-е вид. - Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. - С. 231-254.

13. Kikuchi T. Synergistic effect of EDTA and boric acid on corneal penetration of CS-088 / T. Kikuchi, M. Suzuki, A. Kusai, K. Iseki, H. Sasaki // Int. J. Pharm. — 2005. - Vol. 290, № 1-2. - P. 83-89.

14. Schrage N.F. Phosphate buffer in alkali eye burns as an inducer of experimental corneal calcification / N.F. Schrage, B. Schlossmacher, W. Aschenbrenner, S. Langefeld // Burns. — 2001. - Vol. 27, № 5. - P. 459-464.

15. Руководство 42-3.1: Руководства по качеству. Лекарственные средства. Фармацевтическая разработка / Н. Лапунов, В. Георгиевский, Е. Безуглая и др. — Киев: Морион, 2004. — 16 с.

16. Наказ МОЗ України № 426 від 28.06.2005 р. «Про затвердження Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення» (зі змінами, внесеними згідно з наказом МОЗ України № 95 від 01.03.2006 р.). — Київ, 2006. — 96 с.

17. Андриюкова Л.Н. Оценка однородности дозирования глазных капель из многодозовых контейнеров согласно требованиям Государственной Фармакопеи Украины к дозированию лекарственных форм в виде растворов / Л.Н. Андриюкова // Фармаком. - 2008. - № 4. - С. 46-55.

18. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний центр». — 1-е вид. — Харків: PIPEG, 2001. - Доповнення 1. - 2004. — 520 с.

19. Андриюкова Л.Н. Оценка величин относительных стандартных отклонений массы дозы глазных капель, извлекаемой из многодозовых контейнеров / Л.Н. Андриюкова // Фармаком. - 2010. - № 1. - С. 56-64.

20. Андриюкова Л.Н. Оценка величин отклонений массы дозы, как одного из критериев оценки однородности дозирования глазных капель, извлекаемых из многодозовых контейнеров / Л.Н. Андриюкова // Фармаком. - 2010. - № 2. - С. 40-52.

### Резюме

Андриюкова Л.М., Фетисова О.Г., Сиденко Л.М.

### Оцінка величин дози препаратів-генериків українського виробництва та референтних препаратів – етап фармацевтичної розробки очних крапель

Стаття присвячена вивченню величини дози препаратів-генериків українського виробництва та референтних препаратів у формі очних крапель. Встановлено, що крапельниця, застосовні для досліджуваних препаратів, дозволяють витягувати однорідні за масою дози, розраховані величини не перевищують критерії прийнятності: відтворюваність дози дозуючими пристроями вибірки - величини RSD не перевищують 7.5 %, відхилення мас доз від  $X_{cp,tot}$  ( $\pm 20$ ) %; однорідність мас дози кожного виду крапельниць - відхилення індивідуальних мас доз від  $X_{cp,tot}$  ( $\pm 30$ ) %, RSD<sub>tot</sub> < 10 %. Величини дози препаратів-генериків і референтних препаратів відрізняються. Відмінність у дозах препаратів розглянуто комплексно: із погляду статистичної значущості різниці, фізіологічно оптимального об'єму дози, терапевтичної ефективності.



## Summary

Andrukova L.N., Fetisova E.G., Sidenko L.N.

**Estimation of the dose size of Ukrainian generic drugs and referent drugs as a stage of pharmaceutical development of eye drops**

The article devoted to the study of the dose size of Ukrainian generic drugs and referent drugs in eye drops form. It was established that droplets which have been used for studied drugs allowed to obtain uniform by mass doses, calculated amounts have not increased acceptability criteria: repeatability of the dose by dosing device ( $RSD$  valued have maximum 7.5 per cent deviation from dose masses from  $X_{m,tot}$  minimum ( $\pm 20$ ) per cent); the uniformity of dose masses for each droplet (deviation of dose masses from  $X_{m,tot}$  minimum ( $\pm 30$ ) per cent,  $RSD_{tot}$  minimum 10 per cent). Values of doses of generic drugs and referent drugs are different. Differences in doses have been studied in complex: from the point of view of statistic difference, physiological optimal volume of dose, therapeutic effect.

**Андрюкова Лариса Николаевна.** Окончила Харьковский политехнический институт (1982), Национальный аэрокосмический университет «ХАИ» (2002). Зав. лабораторией глазных, ушных и назальных лекарственных форм (1996) ГП ГНЦАС. К.фарм.н. (1994). Ст. науч.сотр. (2000). Член редакционного совета Государственной Фармакопеи Украины.

**Фетисова Елена Геннадиевна.** Окончила Харьковский государственный университет (1995). Ст. науч. сотр. лаборатории глазных, ушных и назальных лекарственных форм ГП ГНЦАС (2008). К.фарм.н. (2008).

**Сиденко Лариса Николаевна.** Окончила Украинскую фармацевтическую академию (1998). Ст. науч. сотр. лаборатории глазных, ушных и назальных лекарственных форм ГП ГНЦАС (2008). К.фарм.н. (2007).

## Стандартизація лікарських засобів і валідація методик контролю якості

УДК 615.2/3.07

Губаревич І.Г., Нікішина Л.Є., Комарова Ю.А., Леонтьєв Д.А., Гризодуб О.І.  
Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»  
Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського АМН України

### Розробка методики та нормування вмісту супровідних домішок у новій субстанції фенсукциналі

Для нової субстанції — фенсукциналу — розроблено методику визначення супровідних домішок методом ВЕРХ та встановлено специфікації для їх вмісту у повній відповідності до ДФУ та міжнародних нормативних документів. Прогнозовано профіль можливих домішок — вихідних реагентів, продуктів побічних реакцій і продуктів деградації. Перевірено їх наявність для 7 серій субстанції тривалого зберігання та після дії стресових умов на субстанцію (високе рН, низьке рН, окиснення, висока температура, УФ-випромінювання). Знайдено всі ідентифіковані домішки. Неідентифіковані домішки знайдено у мінорних кількостях (не більше 0.02 %). Одержані результати з урахуванням максимальної добової дози фенсукциналу дозволили провести кваліфікацію домішок та обґрунтувати специфікацію для вмісту кожної специфікованої ідентифікованої домішки, кожної специфікованої неідентифікованої домішки, кожної неспецифікованої домішки, суми домішок. Обґрунтовано вимоги до придатності хроматографічної системи. Методику розроблено у відповідності до рекомендацій ДФУ до невизначеності результатів аналізу ( $\Delta_{imp} \leq 5\%$ ) та до незначущості пробопідготовки ( $\Delta_{sp} \leq 1.6\%$ ). Для методики розроблено відповідну пробопідготовку та введено метрологічно обґрунтовані вимоги до  $RSD$  паралельних хроматографувань. Для 5 із 6 домішок коефіцієнти відгуку відрізняються від коефіцієнта відгуку субстанції більше ніж на 20 %. Враховуючи, що утримання різних домішок регулюється різними компонентами рухомої фази, було вирішено використовувати як стандартні зразки всі 6 ідентифікованих домішок. Розроблена методика передбачає наявність типової хроматограми, наданої для інформації, за допомогою якої проводять ідентифікацію піків домішок субстанції фенсукциналу.

Фенсукцинал —  $\beta$ -фенілетиламід-2-оксисукцинанілової кислоти — є одним із похідних янтарної кислоти, що за структурою і механізмом дії здатний впливати на процеси вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів. Цей оригінальний антидіабетичний засіб, призначений для первинної, вторинної та третинної профілактики цукрового діабету I та II типів, здатний забезпечити нормалізацію метаболічних порушень на стадії маніфестації цукрового діабету та послабити діабетичні ускладнення, розроблено в Інституті проблем

ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського АМН України.

Метою даної роботи є розробка методики контролю супровідних домішок та обґрунтування їх нормування у субстанції фенсукциналу.

Методика також має бути валідована. Але через великий обсяг інформації валідації методики буде присвячена окрема публікація.

У процесі розробки методики необхідно вирішити такі основні питання [1, 2].

1. Визначити (теоретично) профіль домішок: потенційних домішок вихідних реагентів, продуктів побічних реакцій і продуктів деградації.

2. Розробити умови аналізу, за яких можливо визначити усі потенційні домішки.

3. Визначити, які домішки реально утворюються у процесі синтезу, у процесі зберігання та у стресових умовах (тобто які домішки має контролювати методика).

4. Обґрунтувати нормування вмісту домішок у субстанції.

5. Вирішити, які домішки як стандарти необхідно використовувати у методиці аналізу. Якщо домішки нормуються за піком субстанції, чи потрібно використовувати коефіцієнт перерахунку.

6. Виходячи з експериментальних даних і вимог сучасних стандартів якості, розробити вимоги щодо придатності хроматографічної системи.

Отже, сучасні вимоги [3] до якості нової фармацевтичної субстанції потребують глибокого знання хімізму реакцій і великого обсягу експериментальних досліджень.

### 1. Матеріали та методи

Визначення супровідних домішок субстанції фенсукциналу проводили методом обернено-фазової ВЕРХ в ізократичних умовах із детектуванням в УФ-області спектру за довжини хвилі 210 нм [4]. Для хроматографування використовували аналітичну колонку розміром 250 мм × 4.6 мм, заповнену силікагелем октисилільним, ендкепованим для хроматографії із розміром частинок 5 мкм. В якості рухомої фази використано суміш розчин натрію октан-

сульфонату у фосфатному буферному розчині рН 2.5 - метанол Р2 - ацетонітрил для хроматографії Р (54:26:20).

### 2. Профіль домішок

Одним із основних принципів Європейської Фармакопеї (ЄФ) є *принцип прозорості* (transparency of the monograph) [5]. Це означає, що монографія може контролювати тільки ті домішки, які в ній зазначені. Тому важливо вивчити повний профіль домішок фенсукциналу.

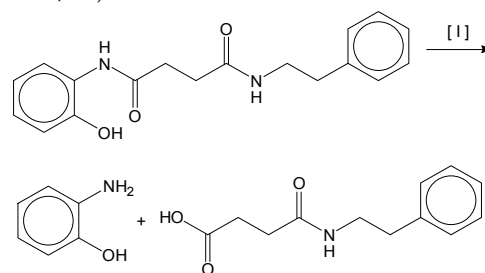
#### 2.1. Технологічні домішки (домішки синтезу)

Виходячи зі шляху синтезу можна спрогнозувати профіль можливих домішок синтезу:

#### 2.2. Домішки герпації

Первинна деградація молекули фенсукциналу може проходити двома шляхами внаслідок розриву однієї із двох ацетамідних груп.

1-й шлях: гідроліз амідної групи при *o*-гідроксифенілі призводить до утворення фенілетиламіду янтарної кислоти та *o*-амінофенолу (Таблиця 1):

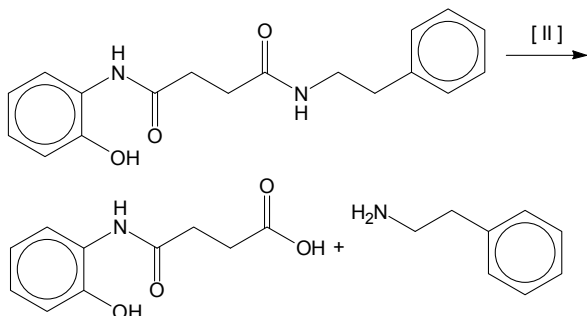


Таблиця 1

Технологічні домішки фенсукциналу

Домішка	Структурна формула	Найменування домішки у нормативній документації та на хроматограмі
<i>N</i> -( <i>o</i> -гідроксифеніл)-сукцинімід – напівпродукт синтезу		Домішка А (домішка 1, RelSub_1 на хроматограмах)
<i>N</i> -(фенілетил)-сукцинімід – побічний продукт синтезу		Домішка В (домішка 2, RelSub_2 на хроматограмах)
( <i>o</i> -гідроксифеніл)-амід янтарної кислоти – побічний продукт синтезу		Домішка С (домішка 3, RelSub_3 на хроматограмах)

2-й шлях: гідроліз за іншою амідною групою з утворенням (*o*-гідроксифеніл)-аміду янтарної кислоти (домішка В) та фенілетиламіну:



Виходячи із вищезазначеного, можна доповнити профіль можливих домішок синтезу потенційними домішками деградації фенсукциналу.

Домішка (*o*-гідроксифеніл)-амід янтарної кислоти (домішка В) вже була зазначена, як продукт можливого побічного процесу. Домішка Е та домішка F також є вихідними речовинами при синтезі фенсукциналу та поряд із про-

цесами деградації можуть бути наявними при неякісному очищенні фенсукциналу.

Отже, можна спрогнозувати 6 потенційно можливих домішок фенсукциналу. Синтетичні зразки усіх домішок, а також зразки фенсукциналу різних термінів зберігання наявні, і можна провести дослідження фактичного утворення даних домішок.

### 3. Визначення супровідних домішок

#### 3.1. Хроматографія

Хроматограма випробовуваного розчину фенсукциналу, «забрудненого» усіма потенційними домішками, наведена у нормативній документації (НД) для інформації та можливості ідентифікації усіх домішок фенсукциналу.

#### 3.2. Пробопіготовка

##### 3.2.1. Методика

Згідно із монографією ДФУ «Субстанції для фармацевтичного застосування» [3] вміст індивідуальної некваліфікованої домішки в суб-

Таблиця 2

Домішки деградації фенсукциналу

Домішка	Структура	Найменування домішки у нормативній документації та на хроматограмі
фенілетиламід янтарної кислоти – домішка деградації (шлях 1)		Домішка D (домішка 4, RelSub_4 на хроматограмах)
<i>o</i> -амінофенол – домішка деградації (шлях 2) та вихідний продукт синтезу		Домішка E (домішка 5, RelSub_5 на хроматограмах)
фенілетиламін – домішка деградації (шлях 2) та вихідний продукт синтезу		Домішка F (домішка 6, RelSub_6 на хроматограмах)

Таблиця 3

Характеристики піків на типовій хроматограмі, одержаній при визначенні домішок фенсукциналу

Домішка	Час утримування	Відносний час утримування
Домішка E	близько 3.5 хв	0.29
Домішка A	близько 3.7 хв	0.31
Домішка C	близько 4.1 хв	0.34
Домішка F	близько 4.6 хв	0.38
Домішка D	близько 5.9 хв	0.49
Домішка B	близько 9.1 хв	0.75
Фенсукцинал	близько 12 хв	1.0

станції не має перевищувати 0.1 %. Виходячи з цього, а також зі спектральних властивостей фенсукцину та його домішок і рекомендацій до незначущості невизначеності пробопідготовки, було підібрано робочі концентрації випробовуваних розчинів при визначенні та спосіб приготування розчинів.

За своїми властивостями фенсукцинал мало розчинний у воді, але розчиняється у водних розчинах, навіть зі значним вмістом органічної складової. Так, максимальна концентрація, що можливо отримати напряму розчиняючи фенсукцинал у рухомій фазі, становить дещо більше 1 мг/мл. При цьому процес розчинення протікає дуже повільно, потребує нагрівання та використання ультразвукової бані. Розчинення субстанції в органічних розчинниках при хроматографуванні призводить до появи небажаних додаткових системних піків на хроматограмах, що заважає, а подекуди й унеможливає, коректне визначення домішок у препараті. Тому

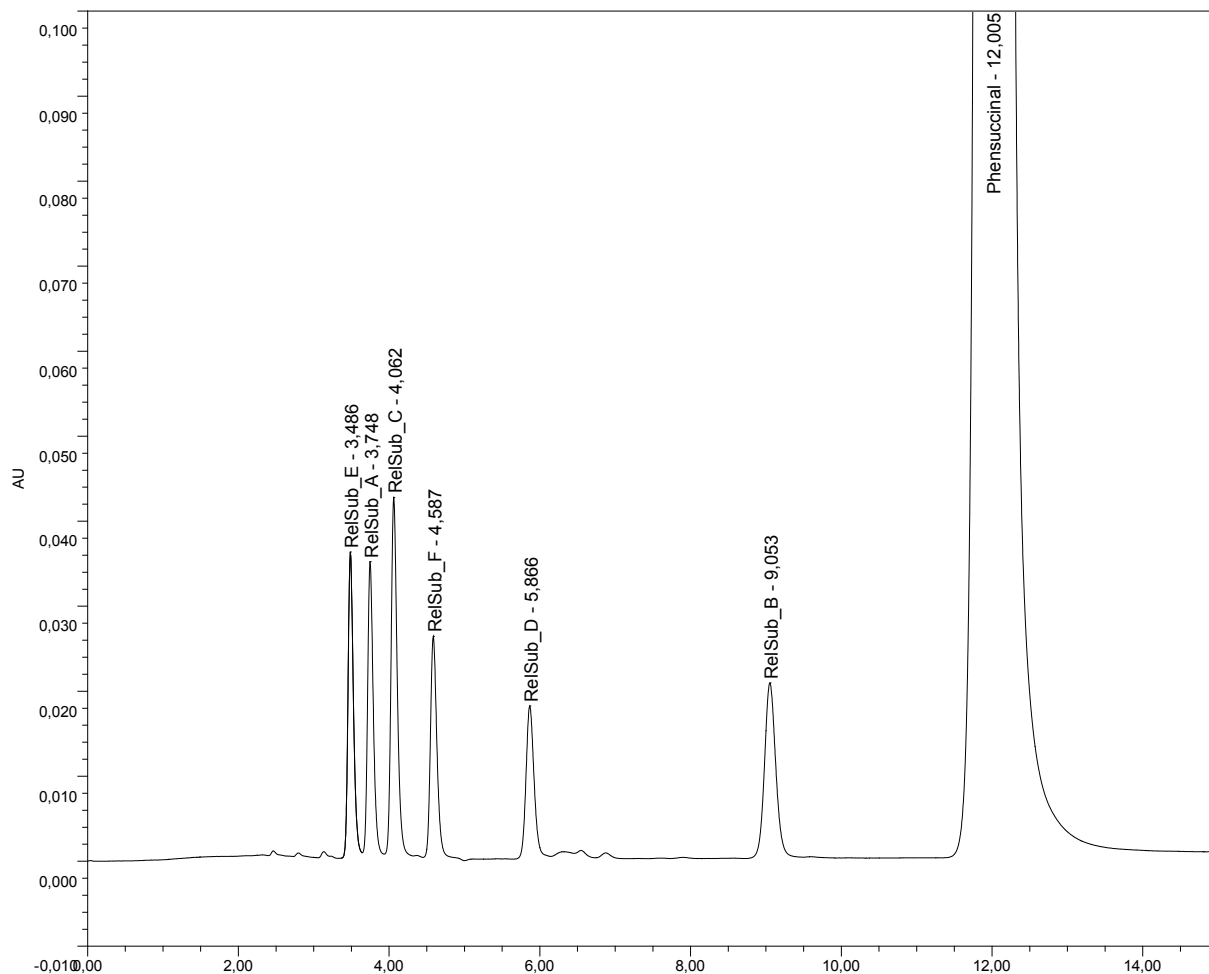
спосіб розчинення було оптимізовано для прискорення процесу розчинення та виключення нагрівання, що може призвести до появи домішок деградації під час пробопідготовки випробовуваного розчину. Наважку субстанції спочатку розчиняють в органічній складовій рухомої фази (суміш метанолу й ацетонітрилу) в об'ємі, пропорційному складу рухомої фази. Розчинення проходить швидко та без залишку, а вже потім розчин доводять до потрібного об'єму водною складовою рухомої фази. Таким чином, концентрація субстанції в рухомій фазі становить 1 мг/мл.

Максимально можлива концентрація фенсукцину у рухомій фазі дозволяє проводити визначення на потрібному рівні концентрації домішок за довжини хвилі 210 нм.

### 3.2.2. Прогноз невизначеності

Приготування (наважки та розведення) випробовуваних розчинів проводиться за умо-

Рисунок 1



Типова хроматограма, одержана при визначенні домішок фенсукцину (вміст кожної індивідуальної домішки 5 % відносно субстанції фенсукцину), що має бути наведена для інформації.



ви незначущості невизначеності пробопідготовки у порівнянні з повною невизначеністю аналізу [7].

Як було зазначено вище, метою випробування є кількісний контроль вмісту супровідних домішок у субстанції фенсукциналу. Згідно із ДФУ для випробувань даного типу повна невизначеність аналізу ( $\Delta_{SP}$ ) не має перевищувати 5 %. Критерій незначущості невизначеності пробопідготовки регламентується співвідношенням:

$$\Delta_{SP} \leq 0.32 \cdot \Delta_{Imp} = 0.32 \cdot 5 \% = 1.6 \%$$

Невизначеність пробопідготовки ( $\Delta_{SP}$ ), у свою чергу, залежить від невизначеностей операцій пробопідготовки:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{\sum \Delta_i^2},$$

де:  $\Delta_i$  — невизначеність кожної операції.

У нашому випадку це:

- приготування випробовуваного розчину препарату: взяття наважки 100 мг субстанції та доведення об'єму розчину у мірній колбі до 100 мл;
- приготування розчину порівняння: взяття наважки 20 мг кожної домішки та доведення об'єму вихідного розчину у мірній колбі до 100 мл, далі взяття аликвоти піпеткою об'ємом 1 мл та доведення об'єму розчину порівняння у мірній колбі до 200 мл.

Розрахунок невизначеності пробопідготовки при випробуванні на кількісний вміст домішок у субстанції зведено в Табл. 4.

### 3.3. Контроль придатності хроматографічної системи

Придатність хроматографічної системи при рутинному контролі якості контролюється стандартним для визначення набором показників:

- коефіцієнт розділення для піків домішок E та A або домішок A та C, або домішок C та F має бути не менше 1.8. Цей показник контролює розділювальну здатність аналітичної колонки та якість приготування рухомої фази (дотримання пропорцій розчинників, концентрації іон-парного реагенту та концентрацію та рН буферного розчину);
- коефіцієнт симетрії піка кожної домішки має бути не більше 1.5. Цей показник контролює стан аналітичної колонки;
- ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком кожної домішки, має бути не менше 10000 т.т. Цей показник контролює стан аналітичної колонки.

Також обов'язковою вимогою щодо придатності хроматографічної системи є збіжність площ піків при паралельних вимірюваннях. Цей показник характеризує працездатність блока автоматичного вводу проб хроматографа та пристрою реєстрації аналітичного сигналу — детектора.

Статистично необхідна кількість паралельних хроматограм для коректного визначення кількісного вмісту домішок у препараті базується на рекомендаціях ДФУ [7]. Повна невизначеність аналізу складається із невизначеності пробопідготовки ( $\Delta_{SP}$ ) та невизначеності кінцевої аналітичної операції ( $\Delta_{FAO}$ ) та визначається за формулою:

$$\Delta_{Imp} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2}$$

За умови незначущості пробопідготовки, що було доведено, загальна невизначеність методики обмежується лише невизначеністю кінцевої аналітичної операції ( $\Delta_{FAO}$ ) або  $\Delta_{FAO} \leq \Delta_{Imp} = 5.0 \%$ .

Таблиця 4

#### Прогноз невизначеності пробопідготовки

Операція пробопідготовки	Невизначеність операції
<i>випробовуваний розчин</i>	
невизначеність зважування наважки	0.2 мг/100 мг · 100 % = 0.20 %
невизначеність об'єму колби 100 мл	0.12 %
загальна невизначеність приготування випробовуваного розчину	$\Delta_{SP}^{TS} = \sqrt{0.2^2 + 0.12^2} = 0.23 \%$
<i>розчин порівняння</i>	
невизначеність зважування наважки зразка домішки	0.2 мг/20 мг · 100 % = 1.00 %
невизначеність об'єму колби 100 мл	0.12 %
невизначеність об'єму піпетки 1 мл	0.60 %
невизначеність об'єму колби 200 мл	0.09 %
загальна невизначеність приготування розчину порівняння	$\Delta_{SP}^{RS} = \sqrt{1^2 + 0.12^2 + 0.6^2 + 0.09^2} = 1.18 \%$
<i>сумарна невизначеність пробопідготовки</i>	
$\Delta_{SP} = \sqrt{0.23^2 + 1.18^2} = 1.20 \% \leq 1.60 \%$ — виконується	

У свою чергу  $\Delta_{FAO}$  залежить від кількості паралельних хроматограм та відносного стандартного відхилення площ піків таким чином:

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{2} \cdot \frac{RSD \cdot t(95\%, n-1)}{\sqrt{n}}$$

де:

$RSD$  — відносне стандартне відхилення для площ піка на хроматограмах розчину порівняння, у відсотках;

$t(95\%, n-1)$  — односторонній критерій Стьюдента для числа ступенів свободи  $(n-1)$ ;

$n$  — кількість паралельних хроматограм.

Таким чином, якщо при аналізі будуть одержані  $n$  паралельних хроматограм, вимоги до  $RSD$  можуть бути оцінені так [6]:

$$RSD \leq \frac{\sqrt{n} \cdot 5\%}{\sqrt{2} \cdot t(95\%, n-1)}$$

звідки розраховують вимоги до  $RSD$  при перевірці придатності хроматографічної системи ( $RSD_{max}$ ) (Табл. 5):

Таблиця 5

**Залежність максимального відносного стандартного відхилення від кількості паралельних хроматограм**

$n$	$t(95\%, n-1)$	$RSD_{max} \%$
2	6.31	0.79
3	2.92	2.10
4	2.35	3.00
5	2.13	3.71
6	2.02	4.30
7	1.94	4.81
8	1.89	5.28

Величина  $n$  є достатньою, якщо значення  $RSD$  не перевищує зазначеного критичного значення. Звичайно сучасні хроматографи дозволяють отримувати бажані значення  $RSD_{max}$  за 2-3 повторних вимірювання, тому у тексті НД доцільно наводити вимоги до  $RSD_{max}$  для 2,3 і 4 повторних вимірювань.

#### 4. Аналіз зразків субстанції фенсукциналу

##### 4.1. Зразки субстанції

При розробці методики використовувалися сім зразків субстанції різних термінів зберігання.

##### 4.2. Результати аналізу

Аналіз досліджуваних зразків субстанції, проведений в умовах методики, показав, що у

препараті при виробництві та довготривалому зберіганні неідентифіковані домішки якщо і наявні, то у кількостях набагато менших, ніж знайдені описані домішки (A-F).

Таблиця 6

**Характеристика зразків випробовуваної субстанції**

Серія субстанції	Дата виробництва	Термін зберігання на момент аналізу
RS0433/4	300395	14 років 3 міс
RS0433/5	310395	14 років 3 міс
RS0433/6	320395	14 років 3 міс
RS0433/2	010504	5 років
RS0433/3	020504	5 років
RS0433/1	030504	5 років
RS0499	311007	1 рік 7 міс

Результати аналізу вмісту домішок у субстанції фенсукциналу зведено в Табл. 7. У Табл. 7 наведено знайдений вміст певних домішок у кількостях, більших або близьких до 0.01 % (20 % від порогового значення для інформування).

Неідентифіковані домішки, що детектуються у субстанції, можуть бути домішками розчинників або вихідних речовин, що використовуються для синтезу. Як видно із Табл. 7 лише у двох випадках вміст неідентифікованих домішок становить 10 % від максимально допустимого вмісту (більше 0.01 % у препараті). Оскільки їх вміст незначущий у порівнянні з максимально допустимим вмістом для неідентифікованої домішки ( $0.1\% \times 0.32 = 0.032\%$ ) [7], то не треба встановлювати додаткові вимоги до чистоти вихідних речовин/розчинників.

Домішку Е (*o*-амінофенол) не знайдено у жодному зразку субстанції.

Як можна бачити, вміст індивідуальних домішок достатньо низький і варіювання суми домішок досить невелике, що свідчить про стабільність процесу синтезу.

##### 4.3. Відносний відгук домішок

Було встановлено відгук для домішок відносно субстанції.

Таблиця 8

**Коефіцієнти перерахунку для домішок відносно субстанції в умовах визначення**

Домішка	Коефіцієнт перерахунку
A	2.00
B	1.46
C	1.01
D	2.20
E	1.67
F	1.87

Таблиця 7

Вміст домішок у досліджуваних зразках субстанції

Серія (дата)	Вміст відомих домішок фенсукциналу, %						Вміст домішки, %		Сума, %
	A	B	C	D	E	F	піки виходять до піка фенсукциналу	піки виходять після піка фенсук- циналу	
030504	—	—	0.093	0.012	—	0.051	0.009	—	0.17
010504	—	0.010	0.102	0.013	—	0.053	0.005	—	0.18
020504	—	0.009	0.096	0.011	—	0.049	0.005	—	0.17
300395	0.036	0.013	0.056	—	—	—	0.007	—	0.11
310395	0.020	0.013	0.045	—	—	—	0.006	0.006	0.09
320395	0.012	0.016	0.084	—	—	0.013	0.010	0.007	0.14
311007	0.011	0.014	0.044	—	—	—	—	0.019	0.09

Таким чином, для усіх домішок, за винятком домішки С, необхідно використовувати або стандартні зразки відповідних домішок, або (при використанні субстанції як стандартного зразка) коефіцієнти перерахунку.

Утримування різних домішок залежить від концентрації різних компонентів рухомої фази. Домішки С та D мають карбоксильні групи, а домішки E та F мають первинні амінні групи. У зв'язку з цим, а також враховуючи необхідність використання коефіцієнту перерахунку, було прийнято рішення використовувати як стандартні зразки всі ідентифіковані домішки.

Максимальна добова доза для фенсукциналу становить 0.9 г (3 прийоми по 0.3 г), тому рекомендовано [3] такі порогові значення для інформування, ідентифікації та кваліфікації (Табл. 9).

Таблиця 9

Порогові значення для інформування, ідентифікації та кваліфікації.

Максимальна доза на добу	Порогове значення для інформування	Порогове значення для ідентифікації	Порогове значення для кваліфікації
менше 2 г/добу	> 0.05 %	0.10 %	0.15 %

Виходячи з одержаних результатів, запропоновано таке нормування вмісту домішок:

- кожна специфікована ідентифікована домішка: не більше 0.1 %;
- кожна специфікована неідентифікована домішка: не більше 0.1 %;
- кожна неспецифікована неідентифікована домішка: не більше 0.1 %;
- сума домішок: не більше 0.5 %.

Нормування суми домішок 0.5 % є досить жорстким. При виконанні вимог щодо вмісту специфікованих ідентифікованих домішок

(0.1 % × 6 = 0.6 %), нормування за сумою домішок більш жорстке.

Для того, щоб методика дозволяла контролювати усі неідентифіковані домішки, які були знайдені при аналізі різних серій фенсукциналу із тривалим терміном зберіганням, до методики уведено вимогу щодо часу хроматографування. Він має бути не менше ніж в 5 разів довшим, ніж час утримування піка фенсукциналу.

5. Деградація субстанції фенсукциналу у стресових умовах

У процесі розробки методики було вивчено профіль домішок, що з'являються у субстанції під дією стресових умов.

5.1. Умови проведення деградації

Для вивчення профілю домішок хімічної деградації фенсукциналу розчини субстанції піддавали стресовим впливам. Ступінь дії середовища деградації регулювали з метою утворення не менше 10 % домішок деградації фенсукциналу. Якщо ця умова не виконувалася протягом певного часу в агресивному середовищі, субстанцію вважали стабільною до даного фактора деградації.

Фактори деградації, вибрані для проведення деградації субстанції, включають усі можливі впливи на субстанцію при виробництві та зберіганні:

- кислотна деградація;
- лужна деградація;
- киснева деградація;
- термічна деградація;
- ультрафіолетова деградація.

5.2. Кислотна деградація

Приготування випробовуваного розчину. 10 мг препарату розчиняли у 4 мл метанолу, додавали 2 мл 5 М розчину кислоти хлористоводневої, герметизували та перемішували. Одер-

жаний розчин нагрівали у водяній бані протягом 3 год, відкривали та нейтралізували до рН 7 (5 М розчином натрію гідроксиду). Потім упарювали насухо у вакуум-сушильній шафі при температурі 70 °С. Сухий залишок розчиняли в 10 мл рухомої фази.

Як видно із хроматограми випробовуваного розчину препарату, підданого кислотній деградації (Рис. 2), маємо повний набір потенційно можливих домішок фенсукциналу (А-Ф). Це підтверджує припущення про два шляхи деградації фенсукциналу. Одержуються деградаційні пари домішок: С і F за першим (I) шляхом деградації, D та E за другим (II) шляхом деградації. При випарюванні розчинника у кислому середовищі навіть можлива дегідратація домішок D і С з утворенням відповідних імідів (домішка В та А, відповідно). Також маємо ще дві додаткові домішки (із часом утримування 8.413 хв та 5.537 хв) у значних кількостях. Ці домішки є метиловими ефірами домішок D та С (відповідно) і утворюються внаслідок впливу розчинника (метанолу) при проведенні деградації. У дійсності метанол не може бути присутнім при виробництві та зберіганні фенсукциналу, тому ці домішки не

мають реального відношення до препарату і не розглядаються як потенційні домішки фенсукциналу. Підтвердженням того, що ці додаткові домішки дійсно є метиловими ефірами домішок D та С, є той факт, що вони утворюються при метанолізі домішок В та А, відповідно.

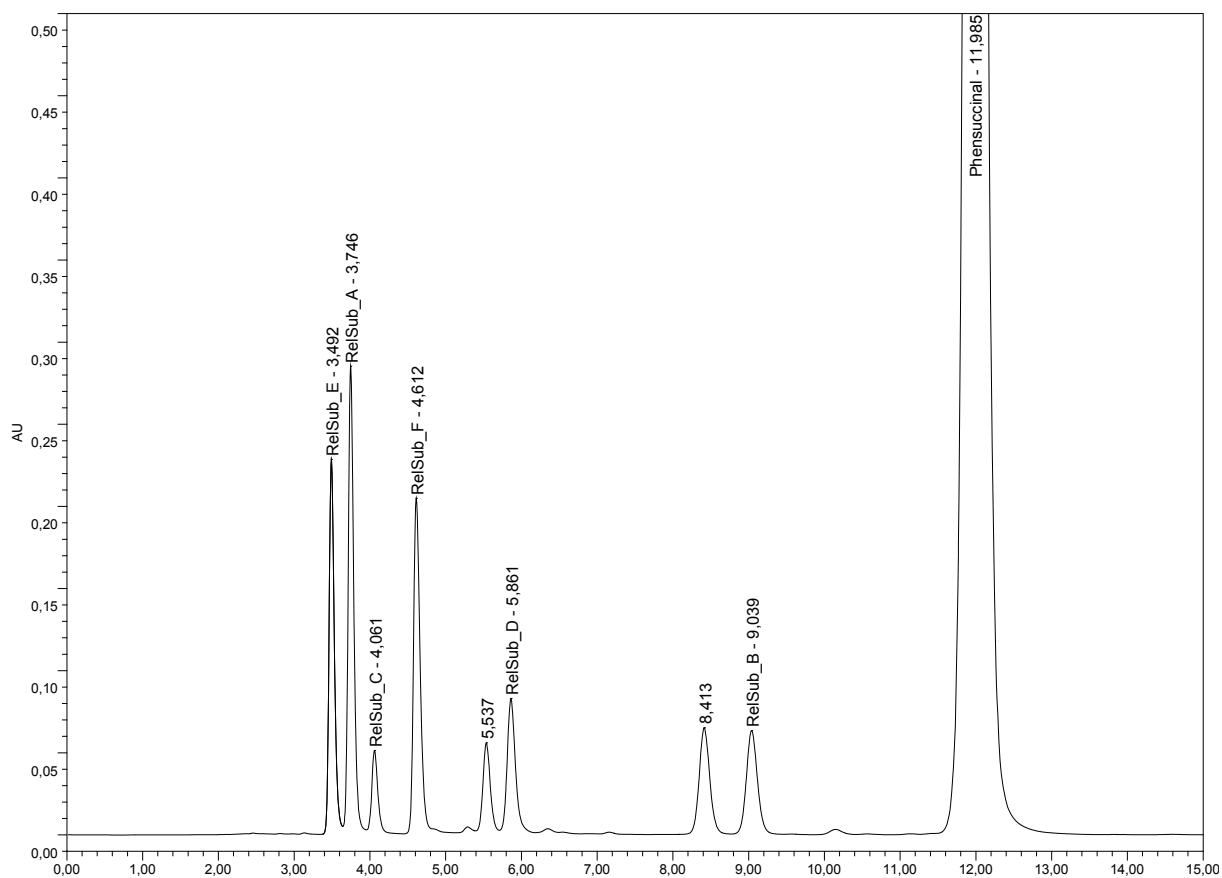
Хроматографічна чистота фенсукциналу у випробовуваному розчині, одержаному у зазначених умовах кислотної деградації, становила 85.4 %. Субстанція фенсукциналу вважається підданою кислотній деградації.

### 5.3. Лужна деградація

**Приготування випробовуваного розчину.** 10 мг препарату розчиняли у 6 мл метанолу, додавали 2 мл 5 М розчину натрію гідроксиду та перемішували. Одержаний розчин витримували протягом 2 год, додавали 2 мл 5 М розчину кислоти хлористоводневої та перемішували.

Як видно із хроматограми випробовуваного розчину препарату, підданого лужній деградації, маємо набір первинних домішок деградації фенсукциналу за обома імовірними шляхами. Одержуються деградаційні пари домішок: С та F за першим (I) шляхом деградації та D та

Рисунок 2



Типова хроматограма фенсукциналу, підданого кислотній деградації



Е за другим (II) шляхом деградації. При чому, виходячи із розмірів піків, лужна деградація фенсукциналу проходить переважно за другим шляхом.

Як і в першому випадку, також виявлено (не характерну для деградації фенсукциналу у звичайних умовах) домішку метилового ефіру домішки D.

На відміну від кислотної, лужна деградація проходить значно інтенсивніше. Не потрібно нагрівання та концентрування (випарювання), щоб отримати значну кількість домішок деградації. Навіть при нетривалому витриманні при кімнатній температурі лужний розчин фенсукциналу починає розкладатися.

Хроматографічна чистота фенсукциналу у випробовуваному розчині, отриманому у зазначених умовах лужної деградації, становила 89.8 %. Субстанція фенсукциналу вважається підданою лужній деградації.

5.4. Киснева деградація

Приготування випробовуваного розчину. 10 мг препарату розчиняли у 10 мл 3 % розчину водню пероксиду у метанолі та герметизували. Одержаний розчин нагрівали у водяній

бані протягом 3 год, відкривали та упарювали насухо у вакуум-сушильній шафі при температурі 70 °С. Сухий залишок розчиняли в 10 мл рухомої фази.

Як видно із хроматограми випробовуваного розчину препарату, підданого кисневій деградації, навіть при тривалій дії активного перексидного кисню та нагріванні, немає суттєвої деградації фенсукциналу.

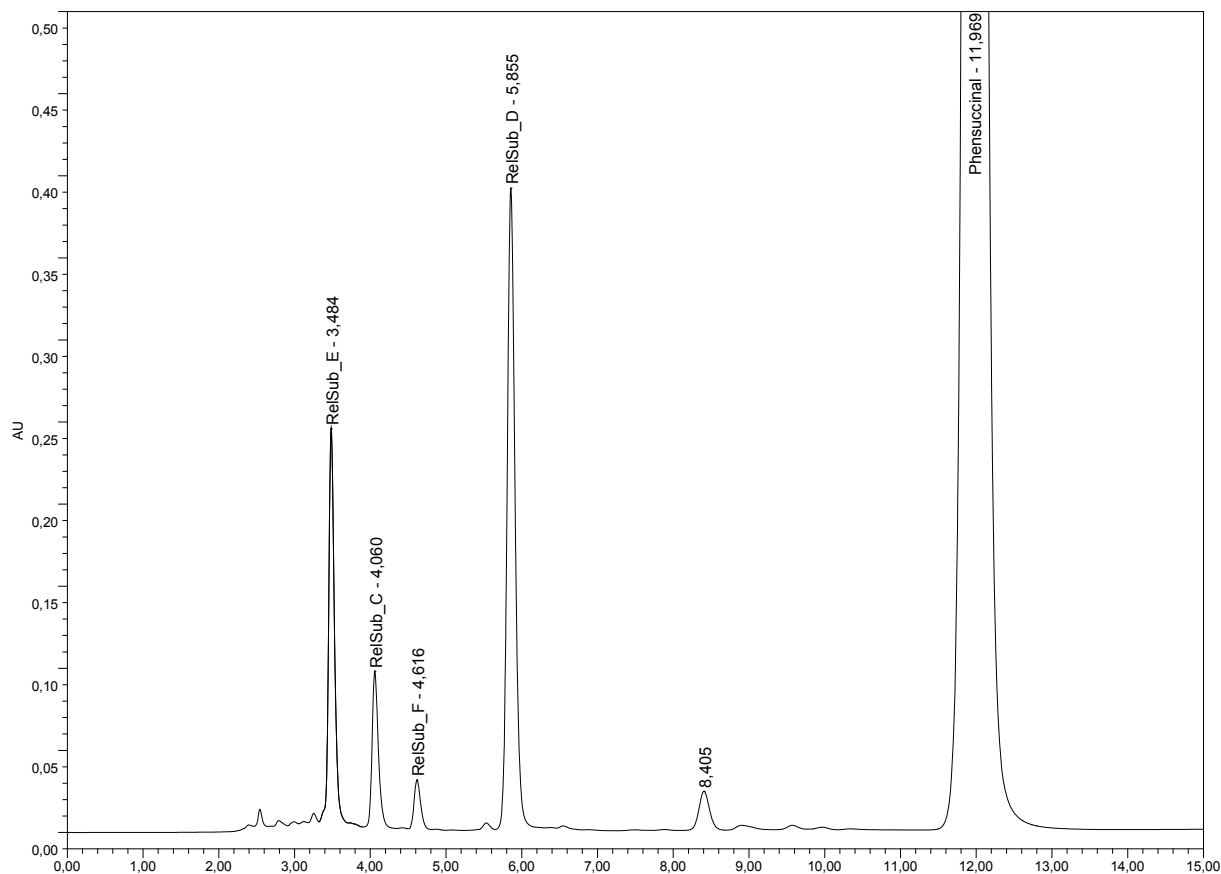
Хроматографічна чистота фенсукциналу у випробовуваному розчині, отриманому у зазначених умовах кисневої деградації, становила 97.3 %, тобто субстанція фенсукциналу не є підданою кисневій деградації.

5.5. Термічна деградація

Приготування випробовуваного розчину. 10 мг препарату розчиняли у 10 мл метанолу та герметизували. Одержаний розчин нагрівали у водяній бані протягом 8 год, відкривали та упарювали насухо у вакуум-сушильній шафі при температурі 70 °С. Сухий залишок розчиняли у 10 мл рухомої фази.

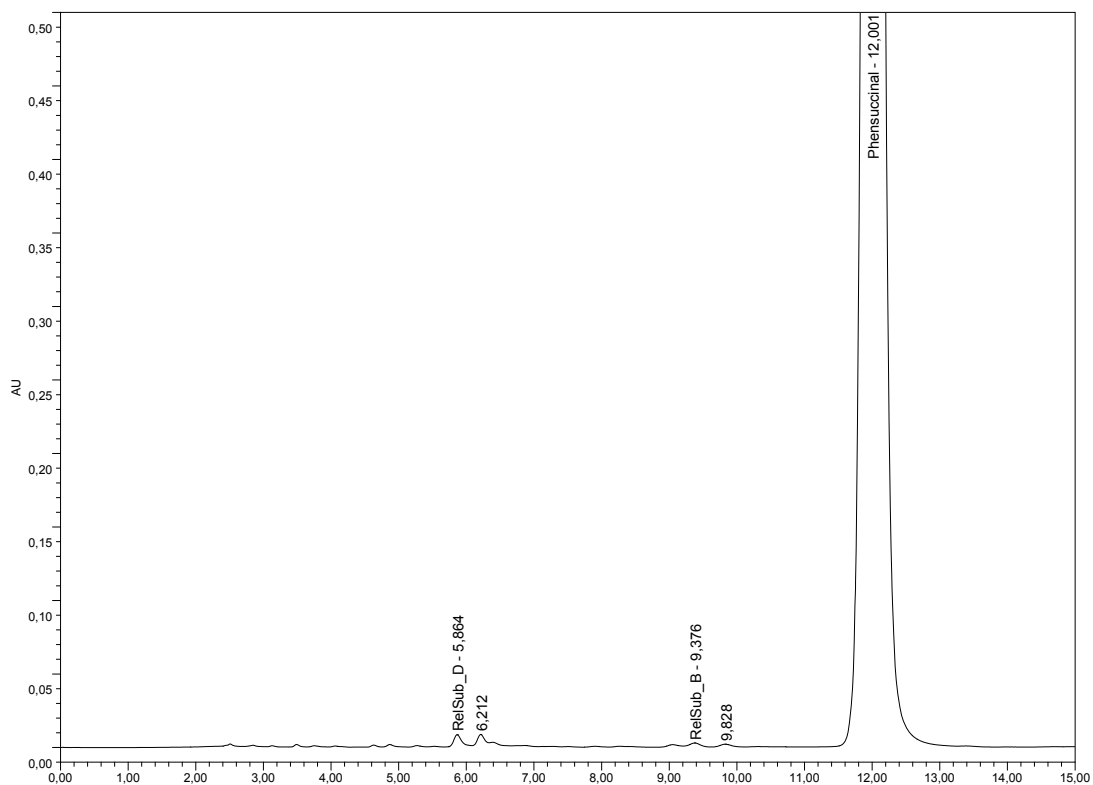
Як видно із хроматограми випробовуваного розчину препарату, підданого тривалій терміч-

Рисунок 3



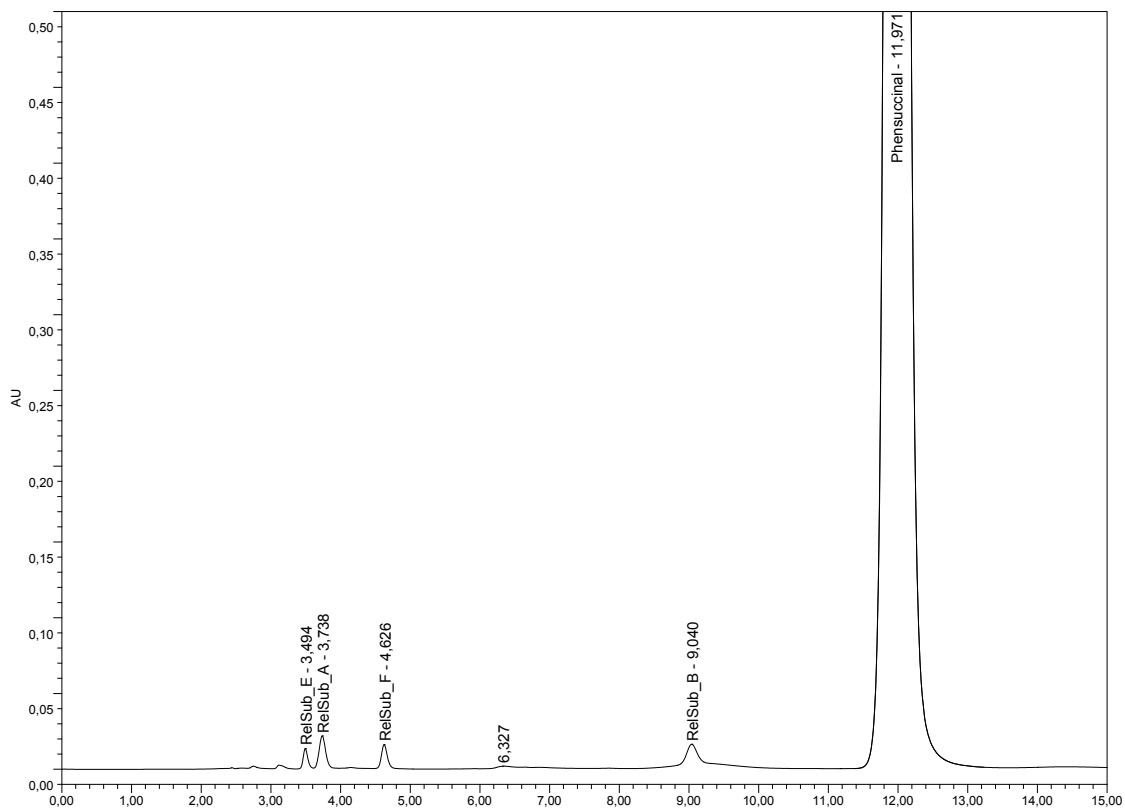
Типова хроматограма фенсукциналу, підданого лужній деградації

Рисунок 4



Типова хроматограма фенсукцинала, підданого кисневій деградації

Рисунок 5



Типова хроматограма фенсукцинала, підданого термічній деградації

ній деградації, утворюються незначні кількості відомих домішок.

Хроматографічна чистота фенсукциналу у випробовуваному розчині, отриманому у зазначених умовах термічної деградації, становила 99.2 %, тобто субстанція фенсукциналу є підданою термічній деградації.

5.6. Ультрафіолетова деградація

**Приготування випробовуваного розчину.** 10 мг препарату розчиняли у 10 мл ацетонітрилу. Одержаний розчин піддавали дії ультрафіолетового випромінювача (254 нм) протягом 2 год, упарювали насухо у вакуум-сушильній шафі при температурі 70 °С. Сухий залишок розчиняли у 10 мл рухомої фази.

Як видно із хроматограми випробовуваного розчину препарату, підданого тривалій дії УФ-випромінювання, утворюються незначні кількості невідомих домішок.

Хроматографічна чистота фенсукциналу у випробовуваному розчині, отриманому у зазначених умовах УФ-деградації, становила 99.6 %, тобто субстанція фенсукциналу не є підданою деградації УФ-випромінювання.

Таким чином, у стресових умовах утворюються усі потенційні домішки фенсукциналу. При цьому вміст невідомих домішок дуже низький у порівнянні зі вмістом відомих домішок. Це підтверджує правильність і повноту знань про хімізм реакцій, що відбуваються при синтезі та тривалому зберіганні фенсукциналу.

Методика є коректною, оскільки вона дозволяє контролювати усі ідентифіковані домішки, а також невідомі домішки, виявлені при аналізі серій субстанції фенсукциналу після тривалого зберігання та у стресових умовах.

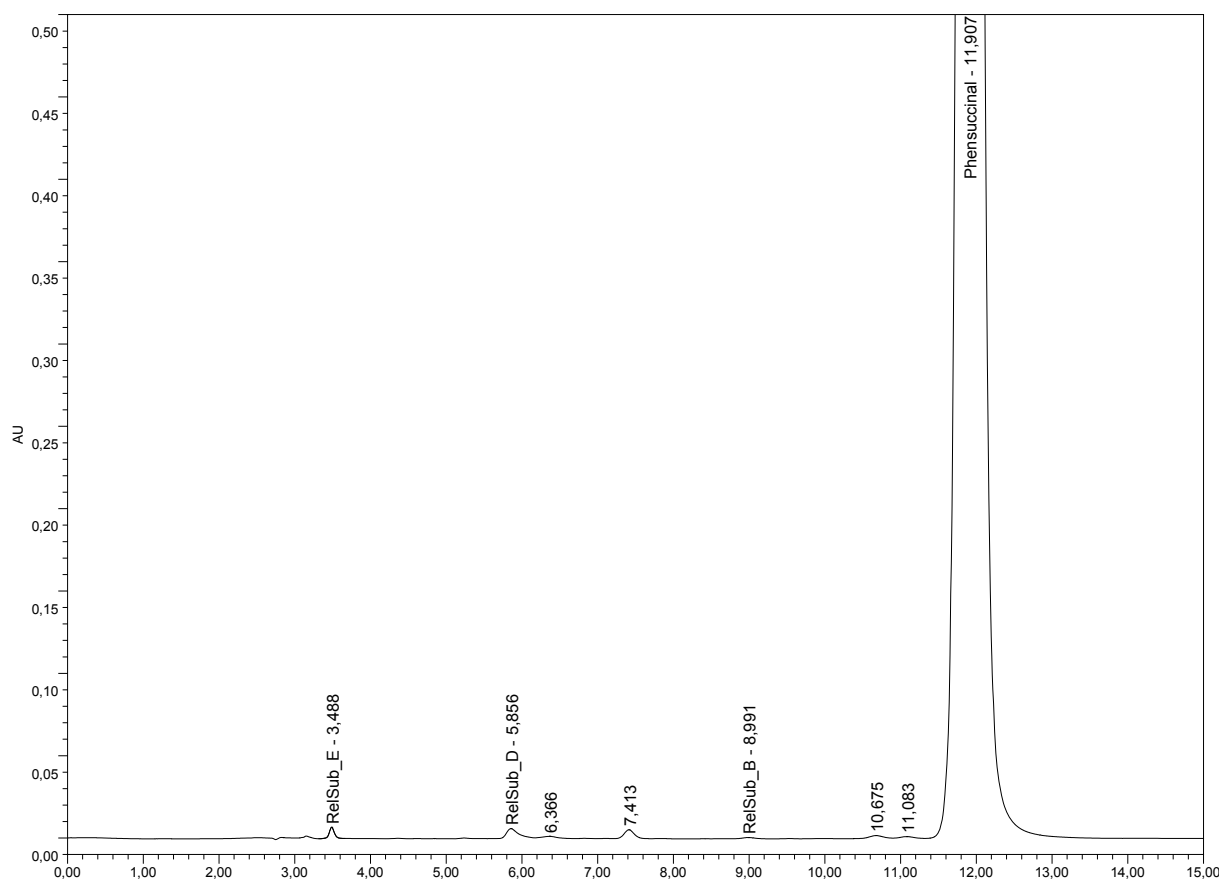
Висновки

Для нової субстанції - фенсукциналу – розроблено методику визначення супровідних домішок (ВЕРХ) та встановлено специфікації для їх вмісту у повній відповідності до ДФУ та міжнародних нормативних документів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Guidance for Industry. Q3A. Impurities in New Drug Substance / CDER/FDE. - Revision 2. - 2008. - 14 p.
2. 5.10. Контроль домішок у субстанціях для фармацевтичного застосування // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів» - 1-е вид. - До-

Рисунок 6



Типова хроматограма фенсукциналу, підданого ультрафіолетовій деградації

повнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2008. — С. 200-204.

3. Субстанції для фармацевтичного застосування // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів» — 1-е вид. — Доповнення 3. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2009. — С. 111-117.

4. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Доценко Т.Н., Загорий В.А. Стандартизованная процедура валидации методик контроля содержания примесей в готовых лекарственных средствах методом жидкостной хроматографии / А.И. Гризодуб, Д.А. Леонтьев, Т.Н. Доценко, В.А. Загорий // Фармаком. — 2005. - № 2/3. - С. 78-99.

5. Technical Guide for the Elaboration of Monographs. - 4<sup>th</sup> ed. — European Directorate for the Quality of Medicines, 2005. - 67 p.

6. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту<sup>N</sup> // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. - Доповнення 1. — 2004. — С. 187-214.

7. 2.2.N.2 Валидація аналітичних методик и випробувань<sup>N</sup> // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів» — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2008. — С. 85-100.

#### Резюме

Губаревич И.Г., Никишина Л.Е., Комарова Ю.А., Леонтьев Д.А., Гризодуб А.И.

#### Разработка методики и нормирование содержания сопутствующих примесей в новой субстанции фенсукцинала

Для новой субстанции - фенсукцинала — разработана методика определения сопутствующих примесей методом ВЭЖХ и установлены спецификации для их содержания в полном соответствии с ГФУ и международными нормативными документами. Прогнозирован профиль возможных примесей: исходных реагентов, продуктов побочных реакций и продуктов деградации. Проверено их наличие для 7 серий субстанции длительного хранения и после действия стрессовых условий на субстанцию (высокое рН, низкое рН, окисление, высокая температура, УФ-излучение). Найдены все идентифицированные примеси. Неидентифицированные примеси найдены в минорных количествах (не более 0.02 %). Полученные результаты с учетом максимальной суточной дозы фенсукцинала позволили провести квалификацию примесей и обосновать спецификацию для содержания каждой специфицированной идентифицированной примеси, каждой специфицированной неидентифицированной примеси, каждой неспецифицированной примеси, суммы примесей. Обоснованы требования к пригодности хроматографической системы. Методика разработана в соответствии с рекомендациями ГФУ к неопределенности результатов анализа ( $\Delta_{imp} \leq 5\%$ ) и к незначимости пробоподготовки ( $\Delta_{sp} \leq 1.6\%$ ). Для методики разработана соответствующая пробоподготовка и введены метрологически обоснованные требования к *RSD* параллельных хроматографирований. Для 5 из 6 примесей коэффициенты отклика отличаются от коэффициентов отклика субстанции более чем на 20 %. Учитывая, что удержание различных примесей регулируется различными компонентами подвижной фазы, было решено использовать в качестве стандартных образцов все 6 идентифицированных примесей. Разработанная методика предусматривает наличие типичной хроматограммы, предоставленной для информации, с помощью которой проводят идентификацию пиков примесей субстанции фенсукцинала.

#### Summary

Gubarevich I.G., Nikishina L.E., Komarova Yu.A., Leontiev D.A., Gryzodub O.I.

#### Development of the method and standardization of the content of impurities in new substance of phenosuccinal

For the new substance (phenosuccinal) the method for the analysis of impurities (HPLC) has been development and specifications for they content according to the SPU and international documents have been established. The profile of possible impurities — raw products, products of side reactions and products of dehydration has been forecasted. Their presence for 7 series of substance with long storage time and after the impact to substances of stress factors (high pH, low pH, oxidation, high temperature, ultraviolet radiation) has been checked. All indentified impurities have been found. Unidentified impurities have been found in minor amounts (maximum 0.02 per cent ). Obtained data with subject to maximum daily dose of phenosuccinal allowed to qualification impurities and to base the specification for the content of each specified identified impurity, each specified unidentified impurity, each unspecified impurity, the sum of impurities. Requirements for the system suitability have been ground. The method has been developed according to requirements of the SPU for the uncertainty of analysis data ( $\Delta_{imp} \leq 5\%$ ) and for the insignificance of the preparation of samples ( $\Delta_{sp} \leq 1.6\%$ ). For the method appropriate procedure of the preparation of samples and introduced metrological based requirements for *RSD* of parallel chromatography has been developed. For 5 of 6 impurities reply factor were different from the substance for more than 20 per cent. Taking into the account that the retention time of different impurities have been regulated by different compounds of the mobile phase, it was decided to use 6 identified impurities as reference substances. Developed method required the availability of the chromatogram for information for the identification of peaks if impurities for the phenosuccinal substance.

**Губаревич Ірина Георгіївна.** Закінчила хімічний факультет Харківського державного університету (1984). Мол. наук. співр. лабораторії аналітичних і фізико-хімічних досліджень інституту патології ендокринних захворювань ім. В.Я. Данилевського.

**Нікішина Людмила Євгеніївна.** Закінчила хімічний факультет Харківського державного університету (1971). К.х.н. (1976). Зав. лаб. аналітичних і фізико-хімічних досліджень інституту патології ендокринних захворювань ім. В.Я. Данилевського.

**Комарова Юлія Анатоліївна.** Закінчила хімічний факультет Харківського державного університету (1994). Наук. співр. відділу валидації та стандартних зразків Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» (ДП УНФЦЯЛЗ).

**Леонтьєв Дмитро Анатолійович** (н. 1963). Закінчив біологічний факультет Харківського державного університету (1986). Заст. директора ДП УНФЦЯЛЗ із наукової роботи. К.фарм.н. (1997).

**Гризодуб Олександр Іванович** (н. 1948). Закінчив хімічний факультет Харківського державного університету (1971). Директор ДП УНФЦЯЛЗ. Д.х.н. (1990). Професор (1996). Дійсний член Нью-Йоркської Академії Наук (1994). Член Міжнародної асоціації офіційних аналітичних хіміків (1997).



УДК 615.11

Котов А.Г., Котова Е.Е., Хохленкова Н.В., Ярних Т.Г., Буряк М.В., Вовк О.Г.  
Державне підприємство «Державний науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»  
Національний фармацевтичний університет

## Порівняльний аналіз нормативної документації на сировину дуба кора

Проведено порівняльний аналіз показників якості дуба кори відповідно до вимог Європейської Фармакопеї (ЄФ) та ГФ XI для з'ясування можливості гармонізації вимог національної законодавчої бази на дуба кору з ЄФ. Встановлено відмінності у методиках ідентифікації дубильних речовин дуба кори. У зазначених нормативних документах наводяться також різні підходи щодо оцінки їх кількісного вмісту. Такі розбіжності враховано при розробці монографії Державної Фармакопеї України «Дуба кора».

Рід дуб (*Quercus L.*) належить до родини Букових (*Fagaceae*). У його складі налічують близько 600 видів, розповсюджених у помірній, субтропічній і тропічній областях. Центром видового різноманіття роду вважають Мексику, де зростають близько 90, переважно вічнозелених, видів. На території України у природних фітоценозах зустрічаються дуб звичайний, д. скельний, д. пухнастий, д. австрійський, д. багатоплідний, д. Далешампа; близько 30 інтродукованих видів дуба культивуються у садах, парках, лісосмугах [5, 6, 10].

Дуб звичайний (*Quercus robur L.*) — основна деревна порода у лісах лісостепових і північних степових районів України, запаси цієї популярної лікарської рослини досить значні.

Дуба кора широко використовується у народній та офіційній медицині та фармації. На сьогодні, як офіційна лікарська рослина сировина використовується кора д. звичайного, якість якої регламентується відповідною статтею ГФ XI [1]. Листя, жолуді та гали дуба звичайного використовують у народній медицині та гомеопатії [3, 4, 7, 9].

Експериментальні та клінічні дані свідчать, що препарати із дуба кори виявляють широкий спектр фармакологічних ефектів: в'яжучий, протизапальний, антимікробний і противірусний, спазмолітичний, гіпотензивний, антиоксидантний, антиканцерогенний, радіопротекторний [3, 5, 8, 10, 11].

При нанесенні препаратів із дуба кори на рану або слизову оболонку відбувається взаємодія дубильних речовин із білками з утворенням захисної плівки, що захищає тканини від місцевого подразнення. Це гальмує процес запалення та зменшує біль [5, 8]. За рахунок ущільнення клітинної мембрани під впливом дубильних речовин зменшується та, навіть, усувається ексудативний компонент запальної реакції [8]. При внутрішньому застосуванні дубильні речовини, що надходять до організму, діють на оболонку шлунково-кишкового тракту, моторику та секреторну функцію шлунка, вони

знижують подразнення слизової оболонки та усувають поверхневі ерозії, виразки [4].

У народній медицині дуба кору використовують як протизапальний, в'яжучий і антимікробний засіб при запаленнях слизової оболонки ротової порожнини, глотки та гортані, гінгівіті, стоматиті, пародонтозі, флюсі, гастриті, при шлункових кровотечах, диспепсії, ентериті, хворобах печінки та селезінки, рахіті, випадінні прямої кишки, туберкульозі, захворюваннях лімфатичних вузлів, дерматологічних захворюваннях (екземах, тріщинах, відмороженнях, опіках тощо), отруєнні грибами, алкалоїдами та солями міді, свинцю й олова, а також при гінекологічних захворюваннях. Для внутрішнього та зовнішнього застосування одержують настої (на окропі або холодній кип'яченій воді) та відвари дуба кори [5, 7, 8].

На фармацевтичному ринку представлено недостатній асортимент готових лікарських засобів, до складу яких входить дуба кора, у клінічних умовах використовують переважно галенові препарати із цієї сировини, а саме: водний відвар (1:10) для полоскання, 20 % відвар — для зовнішнього застосування [11]. Дуба кора входить до складу різних зборів із лікарських рослин, комплексних лікарських засобів, косметичних засобів та виробів медичного призначення: драже «Тонзілгон Н» («Біонорика АГ», Німеччина), гель «Вітадент» («Фармкомплекс ОО», Росія), «Полігемостат» («Технобіофарм», Росія), «Стоматофіт» (АО «Фіто-Фарм» Кленка, Польща), складна настойка Панкова (підприємство «Панков і К°», Україна), тампони «Ефект-тампо» (ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир).

Широкий спектр використання дуба кори зумовлений її хімічним складом. Основною групою біологічно активних речовин (БАР) кори різних видів дуба є дубильні речовини. Серед них переважає група конденсованих дубильних речовин.

Крім дубильних речовин дуба кора містить органічні кислоти (галола, елагола), вуглеводи, слиз, крохмаль, пентозани ((13-14) %), фла-

воноїд кверцетин, білкові речовини, сапоніни. До складу дуба кори також входять мікроелементи (мг/г): К — 1.40, Са — 23.00, Мп — 0.60, Fe — 0.20; макроелементи (мкг/г): Mg — 142.60, Cu — 12.30, Zn — 10.20, Cr — 0.80, Al — 116.08, Ba — 537.12, V — 0.08, Se — 0.04, Ni — 1.84, Sr — 212.00, Pb — 3.04, В — 74.80. Накопичуються Са, Ва, Se, Sr [3].

В Україні у цей час чинною нормативною документацією на даний вид лікарської рослинної сировини (ЛРС) є стаття ГФ XI «Кора дуба» [1], яка передбачає визначення дубильних речовин, у перерахунку на танін і суху сировину. Монографії на даний вид лікарської рослинної сировини наявні в Європейській Фармакопеї (ЄФ), а також Угорській, Британській, Австрійській Фармакопеях. У даних нормативних документах у сировині регламентується вміст дубильних речовин, у перерахунку на пірогалол: не менше 1.5 % — в Угорській Фармакопеї; не менше 2.7 % — в Австрійській Фармакопеї; не менше 3 % — в ЄФ [12, 13, 14, 15, 16].

Метою даної роботи є порівняння вимог ЄФ та ГФ XI до якості ЛРС дуба кора для з'ясування можливості гармонізації вимог національної законодавчої бази на дуба кору з ЄФ.

Для досягнення даної мети було поставлено завдання — провести порівняльний аналіз показників якості сировини, регламентованих монографією ЄФ «Oak bark» і статтею ГФ XI «Кора дуба».

При порівнянні вимог до якості дуба кори, описаних в ЄФ і ГФ XI, встановлено наступне.

**Визначення.** За ЄФ ЛРС — це різана, висушена кора свіжо заготованих молодих гілок *Q. robur*, *Q. petraea* та *Q. pubescens*.

За ГФ XI ЛРС — зібрана ранньою весною кора порості, тонких стовбурів і молодих гілок *Q. robur* і *Q. petraea*.

Таким чином, за ГФ XI фармакопейними є лише два види дуба — д. звичайний і д. скельний. ЄФ, крім цих видів, відносить до категорії фармакопейних також д. пухнастий (Табл. 1).

Таблиця 1

**Порівняльні дані визначення, властивостей та макроскопічних ознак дуба кори за монографією ЄФ і статтею ГФ XI**

Показник	ЄФ «Oak bark»	ГФ XI «Кора дуба»		
визначення	Різана, висушена кора свіжозаготовлених молодих пагонів <i>Quercus robur</i> L., <i>Q. petraea</i> (Matt.) Liebl. і <i>Q. pubescens</i> Willd.	Зібрана ранньою весною кора молодих гілок, тонких стовбурів дуба звичайного (д. черешчатого) — <i>Quercus robur</i> L.; (син.: <i>Q. pedunculata</i> ), д. скельного — <i>Q. petraea</i> ; (син.: <i>Q. sessiliflora</i> ). Родина букові — <i>Fagaceae</i> .		
		ціла сировина	здрібнена сировина	порошок
властивості		Запах слабкий, своєрідний, підсилюється при змочуванні кори водою.	Запах слабкий, своєрідний, підсилюється при змочуванні кори водою.	Запах слабкий, своєрідний.
		Смак дуже в'язучий.	Смак дуже в'язучий.	Смак дуже в'язучий
макроскопія	Жолобчасті або зморщені шматочки кори завтовшки не більше 3 мм. Зовнішня поверхня світло-сірого або зеленувато-сірого кольору, частіше гладенька, зрідка із сочевичками. Внутрішня поверхня блідо-коричневого або червонувато-коричневого кольору із дещо рельєфними подовжніми борозенками близько від 0.5 мм до 1 мм завширшки. Злам заїдливий та волокнистий.	Шматочки кори трубчасті, жолобчасті або у вигляді вузьких смужок різної довжини, товщиною близько 2-3 мм (до 6 мм). Зовнішня поверхня блискуча, рідше матова, гладенька або злегка зморшкувата, іноді із дрібними тріщинками; часто помітні поперечно-втягнуті сочевички. Внутрішня поверхня із численними подовжніми тонкими виступаючими реберцями. На зламі зовнішня кора зерниста, рівна, внутрішня — волокниста, заїдлива. Зовні кора світло-бурого або світло-сірого, сріблястого кольору, а із середини жовтаво-бурого кольору.	Шматочки кори різної форми, що проходять крізь сито з отворами діаметром 7 мм. Колір кори світло-бурий, світло-сірий, сріблястий або жовтаво-бурий.	Порошок, що проходить крізь сито з отворами розміром 0.5 мм.

*Властивості.* ГФ XI характеризує запах і смак цілої, здрібненої та здрібненої на порошок сировини, виявляється, що ці властивості дуба кори не залежать від ступеня її здрібнення. ЄФ не акцентує увагу на цих ознаках сировини (Табл.1).

Таблиця 2

**Мікроскопічні ознаки та якісні реакції на ЛРС дуба кори за монографією ЄФ і статтею ГФ XI**

ЄФ «Oak bark»	ГФ XI «Кора дуба»	
Досліджуваний об'єкт		
Порошок	Порошок	Поперечний зріз
<p>Порошок світло-коричневого або червоно-коричневого кольору, волокнистий.</p> <p>У порошку виявляються: групи товстостінних волокон, оточених помірно потовщеними паренхімними обкладками, що містять призми кальцію оксалату; фрагменти корка із тонкостінних таблитчастих клітин із коричнюватим або червонуватим вмістом; численні поодинокі або у групах склереїди, деякі — великі, із потовщеними багат шаровими оболонками та розгалуженими порами; інші склереїди меншого розміру, із тоншими оболонками та простими порами, часто з густим коричневим вмістом; фрагменти паренхіми, що містять друзи кальцію оксалату; іноді фрагменти тонкостінних ситовидних трубок із ситовидними полями на скошених кінцях оболонки.</p>	<p>Порошок жовтаво-бурого кольору.</p> <p>У порошку наявні: численні обривки груп волокон із кристалоносною обкладкою й групами кам'янистих клітин; шматочки бурого корка;</p> <p>зрідка друзи кальцію оксалату</p>	<p>На поперечному зрізі видно: бурий корковий шар із численних рядів клітин. У зовнішній корі знаходяться друзи кальцію оксалату, групи кам'янистих клітин і на деякій відстані від корка тангентально розташований механічний пояс, що складається із груп луб'яних волокон і кам'янистих клітин, які чергуються. У зовнішній корі за напрямом від поясу усередину розкидані групи волокон і кам'янистих клітин. Деякі клітини паренхіми містять флобафени у вигляді включень червоно-бурого кольору. У внутрішній корі численні, тангентально витягнуті групи луб'яних волокон із кристалоносною обкладкою, розташовані паралельними концентричними поясами. Між групами волокон проходять одnorядні серцевинні промені, рідше трапляються ширші промені, які поблизу камбію містять групи кам'янистих клітин, що при висиханні зумовлює утворення подовжніх ребер, видимих на внутрішній поверхні.</p>
Якісна реакція		
<p>Спиртовий розчин здрібненої на порошок сировини при додаванні до нього розчину ваніліну у кислому середовищі набуває червоного забарвлення.</p>	<p>Вміст клітин паренхіми забарвлюється розчином заліза (III) амонію сульфату у чорно-синій колір.</p>	<p>Внутрішня поверхня кори при змочуванні краплею розчину заліза (III) амонію сульфату забарвлюється у чорно-синій колір (дубильні речовини).</p>

Таблиця 3

**Дані показників «Сторонні домішки», «Втрата в масі при висушуванні», «Загальна зола», «Кількісне визначення» дуба кори за монографією ЄФ і статтею ГФ XI**

Показник	ЄФ «Oak bark»	ГФ XI «Кора дуба»		
	різана сировина	ціла сировина	здрібнена сировина	порошок
<b>сторонні домішки, %</b>	не більше 2			
— органічні домішки, %	—	не більше 1	не більше 1	
— мінеральні домішки, %	—	не більше 1	не більше 1	
— шматочки кори, що потемніли із внутрішньої поверхні, %	—	не більше 5	не більше 5	
— шматочки кори товщиною більше 6 мм, %	—	не більше 5		
<b>втрата в масі при висушуванні, %</b>	не більше 10	не більше 15	не більше 15	
<b>загальна зола, %</b>	не більше 8	не більше 8	не більше 8	не більше 8
<b>кількісне визначення (дубильні речовини), %</b>	не менше 3, у перерахунку на пірогалол	не менше 8, у перерахунку на танін	не менше 8, у перерахунку на танін	не менше 8, у перерахунку на танін

*Ідентифікація*

*Макроскопія (Зовнішні ознаки).* У ГФ XI, як і в ЄФ, описано морфологічні ознаки сировини. Однак, ЄФ наводить опис тільки для різаної сировини, тоді як ГФ XI дає опис цілої, здрібноної сировини та порошку (Табл. 1). Доречно відмітити, що як ЄФ, так і ГФ XI у цьому розділі наводять морфологічний опис сировини завтовшки близько 3 мм. Однак вимоги ГФ XI до товщини сировини варіюють від 2 мм до 3 мм (до 6 мм) як у цьому розділі, так і у розділі «Сторонні домішки» (Табл. 1).

*Мікроскопія.* В ЄФ дослідження проводять на здрібноній на порошок сировини, а в ГФ XI — як на здрібноній сировині, так і на поперечному зрізі кори. В обох випадках описано характерні анатомічні ознаки сировини: багатошаровий корок; клітини паренхіми із друзами кальцію оксалату; склереїди (ЄФ) або кам'янисті клітини (ГФ XI); групи волокон із кристалоносною обкладкою. Разом із тим ЄФ підкреслює, що клітини корка із коричнюватим або червонуватим вмістом, а окремі дрібніші склереїди заповнені густим коричневим вмістом, і не визначає хімічну природу цього вмісту. ГФ конкретизує, що у сировині деякі клітини паренхіми містять флобафени у вигляді червоно-бурих включень (Табл. 2).

*Якісна реакція.* ЄФ у розділі ідентифікації С пропонує якісну реакцію: спиртовий розчин здрібноної на порошок сировини під дією розчину ваніліну у кислому середовищі забарвлюється у червоний колір (катехіни).

За ГФ XI вміст паренхімних клітин порошку або внутрішня поверхня кори розчином заліза (III) амонію сульфату забарвлюються в чорно-синій колір (фенольні сполуки) (Табл. 2).

*Сторонні домішки.* ЄФ регламентує вміст сторонніх домішок тільки для різаної сировини не більше 2%). ГФ XI регламентує даний показник не тільки для цілої сировини, але й для здрібноної сировини та порошку. У ГФ XI наведено нормування також таких сторонніх домішок, як шматки кори, потемнілі із внутрішньої поверхні, шматки кори товщиною понад 6 мм (Табл. 3).

Як в ЄФ так і в ГФ XI наведено показник «Загальна зола» та «Втрата в масі при висушуванні» (ЄФ) і «Вологість» (ГФ XI).

*Кількісне визначення.* ГФ XI регламентує вміст дубильних речовин у дуба корі, у перерахунку на танін і суху сировину (не менше 8%). Визначення проводять титриметрично (перманганатометрія). Цей метод є традиційним для кількісного визначення дубильних речовин, але він має ряд недоліків: віднесення калію

перманганату до групи прекурсорів, здатність калію перманганату окиснювати природні сполуки, що за хімічною будовою відносяться до різних класів, розтягнутість переходу забарвлення при титруванні, а також довготривалість проведення аналізу.

ЄФ у монографії «Oak bark» кількісно оцінює вміст танінів у сировині, у перерахунку на пірогалол і суху сировину (не менше 3.0 %) спектрофотометричним методом. Метод є уніфікованим для визначення даного класу сполук як в ЄФ, так і в ДФУ.

*Висновки*

Проведений порівняльний аналіз показників якості дуба кори відповідно до вимог ЄФ та ГФ XI показав, що у зазначених документах набір показників якості сировини істотно не відрізняється.

Варто відзначити, що ідентифікація дуба кори крім мікро- та макроскопії в монографії ЄФ включає якісну реакцію на катехіни, а ГФ XI пропонує якісну реакцію на фенольні сполуки. У зазначених нормативних документах наявні різні підходи щодо оцінки кількісного вмісту дубильних речовин. Такі розбіжності враховано при розробці монографії ДФУ «Дуба кора».

*ЛІТЕРАТУРА*

1. Государственная фармакопея СССР / Вып. 2. Общие методы анализа. / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доповнення 2. — Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
3. Лекарственные растения (растения-целители) / А.Ф. Гаммерман, Г.Н. Кадаев, А.А. Сценко и др. - М.: Высш. шк., 1990. — 544 с.
4. Лекарственные растения мировой и отечественной медицины: [Справочное пособие] / Н.В. Попова, Т.В. Ильина, В.Н. Ковалев, А.И. Павлий. - Харьков, 1995. - 96 с.
5. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / За ред. А.М. Гродзінського. — К.: УРЕ, 1992. — 544 с.
6. Лотов Л.И. / Анатомия коры буковых и ее таксономическое значение / Л.И. Лотов, А.К. Тимохин // Ботанический журнал. — 1996. - № 3. — С. 66-73.
7. Попов О.П. Лікарські рослини в народній медицині. — К.: Здоров'я, 1971. — С. 310.
8. Солодовніченко Н.М. Лікарська рослина сировина та фітопрепарати / Н.М. Солодовніченко, М.С. Журавльов, В.М. Ковальов. — Х.: Вид-во НФАУ; Золоті сторінки, 2001. — 408 с.
9. Харченко М.С. Лікарські рослини і їх застосування в народній медицині: [Довідник] / М.С. Харченко, В.И. Сила, Л.И. Володарський. — К.: Здоров'я, 1991. — 358 с.
10. Дуб звичайний. *Quercus robur L.* Аналітичний огляд / Т.Г. Ярних, Н.В. Хохленкова, В.М. Чушенко, М.В. Буряк // Провізор. — 2008. - № 8. — С. 36-38.
11. Застосування кори дуба звичайного в науковій, народній і гомеопатичній медицині / Т.Г. Ярних, Н.В. Хохленкова, В.М. Чушенко, М.В. Буряк // Фармацевт-практик. — 2009. - № 2. — С. 48-50.



12. British Pharmacopoeia. — London: HMCO, 1993. — 1281 p.
13. Deutsches Arzneibuch. — 8 Ausgabe. — Stuttgart: Deutsches Apotheker Verlag; Frankfurt-Main: Govi Verlag, 1978. — 780 p.
14. European Pharmacopoeia. - 6<sup>th</sup> ed. - 8 Sup. — Strasbourg: Council of Europe, 2001. — 2416 p.
15. Herbal medicine. Expanded commission a monographs. — 1<sup>st</sup> ed. — 2000. — P. 752.
16. Pharmacopoea Helvetica. — 6 ed. — 3 Bd. - Bern: s. n., 1976. — 750 s.

#### Резюме

Котов А.Г., Котова Э.Э., Хохленкова Н.В., Ярних Т.Г., Буряк М.В., Вовк А.Г.

#### Сравнительный анализ нормативной документации на сырье дуба кора

Проведен сравнительный анализ показателей качества дуба коры в соответствии с требованиями Европейской Фармакопеи и ГФ XI для определения возможности гармонизации требований национальной законодательной базы на дуба кору с ЕФ. Установлены отличия в методиках идентификации дубильных веществ дуба коры. В указанных нормативных документах представлены также разные подходы к оценке их количественного содержания. Такие расхождения учтены при разработке монографии Государственной Фармакопеи Украины «Дуба кора».

#### Summary

Kotov A.G., Kotova E.E., Khokhlenkova N.V., Yarnich T.G., Buryak M.V., Vovk O.G.

#### Comparative analysis of normative documentation for the herbal drug of oak bark

It was conducted comparative analysis of quality indices of oak bark of the European Pharmacopoeia (EP) and the XI edition of the USSA State Pharmacopoeia (SP XI) for the possible harmonization of the requirements of the national legislative

documentation for oak bark with EP. The presence of the differences for the identification of tannins of oak bark was observed. In that documents also have been present different approaches for they quantitative determination. All that differences have been taken to the account at the development if the monograph "Oak bark" for the State Pharmacopoeia of Ukraine.

**Котов Андрій Георгійович.** Закінчив Харківський фармацевтичний інститут (1982). К.фарм.н. (1996). Ст. наук. співр. (2004). Керівник наукового напрямку «Лікарська рослинна сировина» відділу ДФУ УНФЦЯЛЗ.

**Котова Еліна Едуардівна.** Закінчила Харківський державний університет (1983). Ст. наук. співр. відділу валідації та стандартних зразків ДП УНФЦЯЛЗ. К.фарм.н. (2005).

**Хохленкова Наталя Вікторівна.** Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1996). К.фарм.н. Доцент кафедри технології ліків НФаУ.

**Ярних Тетяна Григорівна.** Закінчила Харківський фармацевтичний інститут (1985). Зав. кафедри технології ліків НФаУ. Д.фарм.н. Професор. Засл. діяч науки та техніки України.

**Буряк Марина Валеріївна.** Закінчила Національний фармацевтичний університет (2008). Аспірант кафедри технології ліків НФаУ.

**Вовк Олександра Григорівна.** Закінчила Харківський державний університет (1959). К.б.н. (1969). Доцент (1973). Ст. наук співр. наукового напрямку «Лікарська рослинна сировина» відділу ДФУ УНФЦЯЛЗ.

## Технологія лікарських засобів

УДК 615.456+615.451]:661.12

Алмакаєва Л.Г., Шевченко І.В., Алмакаєв М.С.

Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»

### Дослідження з розробки складу та технології ін'єкційного лікарського засобу на основі байкаліну й амінокислоти

Обґрунтовано склад і розроблено технологію лікарського засобу для парентерального застосування на основі нерозчинного у воді флавоноїду байкаліну, що базується на процесі одержання розчинної солі із вихідних реагентів. Вивчено оптимальні технологічні параметри солеутворення та приготування розчину препарату.

Одним із основних напрямків робіт ДП ДНЦЛЗ є використання біологічно активних речовин природного походження для розробки лікарських препаратів. Великий інтерес, зокрема, представляє флавоноїд байкалін, що виявляє широкий спектр біологічної дії [1-4].

Хімічний склад флавоноїдів шоломниці байкальської (*Scutellaria baicalensis* Georgi) досить різноманітний: апігенін, лютеолін, скутелареїн, динатін, ізоскутелареїн, вогонін, вогонозид,

норвогонін, байкалеїн, необайкалеїн, ороксилін тощо, всього понад 20 сполук. Однією із домінуючих біологічно активних речовин (БАР) коренів шоломниці байкальської є байкалін [5, 6]. Байкалін шоломниці байкальської пригнічує перекисне окиснення ліпідів. Ефективність використання в онкологічному експерименті цієї субстанції пов'язана саме з її антиоксидантною активністю. Цей флавоноїд перешкоджає надмірній генерації вільних радикалів, зменшує їх

концентрацію у мембранах, захищаючи молекули ДНК від переокиснення, підвищуючи протипухлинну активність цитостатиків [7-9].

Одержані результати доклінічних досліджень, проведених у ДП ДНЦЛЗ, дозволили використовувати флавоноїд байкалін як перспективну субстанцію для створення нових лікарських засобів для парентерального застосування різної спрямованості дії, а саме, як детоксикуючий, антимулагенний, гемостимулюючий протизапальний засіб [10].

Крім того, в лабораторії парентеральних та оральних рідких лікарських засобів ДП ДНЦЛЗ було розроблено оригінальний спосіб одержання розчинів на основі солей амінокислот [1-3], у тому числі й на основі L-аргініну, із метою створення ефективних препаратів із широким спектром терапевтичної дії [11].

Метою даної роботи є розробка складу лікарських засобів (ЛЗ) для парентерального застосування на основі флавоноїду байкаліну та амінокислоти L-аргінін.

#### Об'єкти та методи

Об'єктом досліджень була субстанція байкалін та її розчинні солі з амінокислотою L-аргінін [12], а також процес одержання солей у водному середовищі при приготуванні парентеральних ЛЗ.

Для вибору оптимального складу й одержання стабільних парентеральних лікарських форм нами було вивчено фізико-хімічні та технологічні властивості байкаліну, як основної БАР ін'єкційних розчинів.

У ході досліджень проводився якісний і кількісний контроль зразків парентеральних розчинів. Досліджувалися фармако-технологічні показники якості розроблених розчинів, такі як прозорість, кольоровість, рН, механічні включення, визначався кількісний вміст діючих речовин [12, 13].

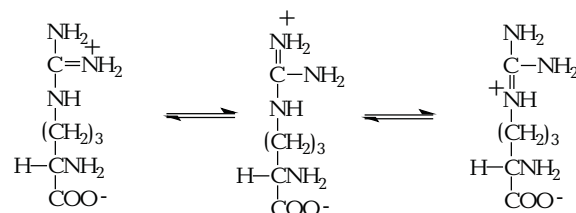
#### Результати досліджень та їх обговорювання

При створенні лікарських форм для ін'єкцій на основі флавоноїду байкаліну вирішувалося питання про перехід мало розчинної лікарської субстанції у розчин. Для підвищення розчинності байкаліну у воді без зміни основної структури флавоноїду використовувалася амінокислота L-аргінін [14, 15].

L-аргінін - білий кристалічний порошок або безбарвні кристали. Легко розчинний у воді, дуже мало розчинний у спирті, не розчинний в ефірі. L-аргінін містить не менше 98.5 % і не більше 101.0 % (S)-2-аміно-5-гуанідинопентанової кислоти, у перерахунку на суху речовину [12, 13, 16].

L-аргінін за наявності чотирьох — NH<sub>2</sub> груп є сильноосновною амінокислотою. У водному середовищі протон приєднується до гуанідинової групи з утворенням мезомерно-стабілізованого гуанідо-катиону (Рис. 1) [14, 17].

Рисунок 1



#### Цвітер-іонні форми аргініну

У кислих і нейтральних середовищах L-аргінін існує переважно як катіон, здатний утворювати сполуки за амінною та гуанідиною групами. У лужному середовищі він існує у вигляді аніону. У сильнополярних розчинниках L-аргінін існує у вигляді цвітер-іону [15].

Одним з основних фізичних параметрів при створенні парентеральних лікарських форм на основі байкаліну й аргініну є оптимальне значення рН, за якого зберігається стабільність одержаної сполуки.

Для вибору оптимального рН розчину було розраховано ступінь дисоціації аргініну:

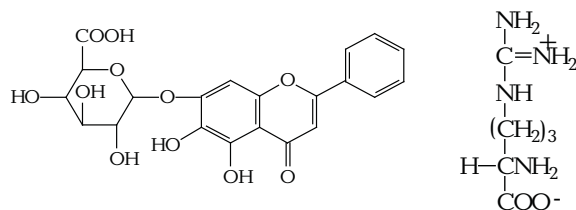
$$\text{ступінь дисоціації (\%)} = 100 / (1 + 10^{\text{pK}_a - \text{pH}})$$

Розрахунок ступеня дисоціації проводили за різних значень рН середовища, використовуючи показник константи кислотної іонізації аргініну рК 2.17.

Проведені розрахунки показали, що максимальне значення ступеня дисоціації аргініну (понад 99.0 %) досягається при значеннях рН середовища вище 5.5. Можна припустити, що оптимальне значення рН розчину має знаходитись у межах від 5.5 до 7.0.

З урахуванням стехіометричних коефіцієнтів реакції солеутворення було розраховано кількості інгредієнтів, необхідних для отримання солі байкаліну з аргініном (аргініну байкалінату). Реакцію наведено на Рис. 2.

Рисунок 2



Байкалін М.м. 446

L-аргінін М.м. 174.2

Реакція одержання L-аргініну байкалінату

Як видно із Рис. 2, L-аргінін та байкалін вступають в реакцію в еквімолекулярних кількостях, тому було розраховано кількості інгредієнтів, необхідні для отримання солі L-аргініну байкалілату у вигляді 8 % і 20 % розчинів (що відповідає терапевтичним концентраціям препарату).

Кількість L-аргініну, у грамах на 1000 мл розчину, необхідну для утворення L-аргініну байкалілату у терапевтичних концентраціях 80 г/л і 200 г/л, обчислювали за формулою:

$$C_{L\text{-аргініну}} = C_{L\text{-арг. байкалілату}} \times M_{L\text{-аргініну}} / M_{L\text{-аргініну байкалілату}}$$

де:

- $C_{L\text{-аргініну}}$  — концентрація L-аргініну, г/л;
  - $C_{L\text{-аргініну байкалілату}}$  — концентрація L-аргініну байкалілату, г/л;
  - $M_{L\text{-аргініну}}$  — молекулярна маса L-аргініну;
  - $M_{L\text{-аргініну байкалілату}}$  — молекулярна маса L-аргініну байкалілату.
- $C_{L\text{-аргініну}} = 22.47$  г/л (кількість L-аргініну для одержання 8 % розчину)

$$C_{L\text{-аргініну}} = 56.18$$
 г/л (кількість L-аргініну для одержання 20 % розчину)

Запропонований спосіб одержання солі L-аргініну байкалілату є перспективним для фармацевтичних підприємств. Солі отримують безпосередньо в реакторі, виключаючи із технологічного процесу декілька трудомістких та енергомістких технологічних операцій, таких як виділення солі із вихідного розчину, промивка, висушування, упаковка та транспортування одержаної субстанції.

При створенні нового лікарського засобу вивчали не тільки фізико-хімічні характеристики використовуваних речовин, але і умови проведення реакції солеутворення. Було визначено оптимальні технологічні параметри, такі як температурний режим, співвідношення L-аргініну, байкаліну та води при завантаженні у реактор, оптимальні межі рН розчину, порядок введення інгредієнтів, час проведення реакції. Також досліджено технологічні прийоми приготування лікарської форми, умови зберігання, стабільність одержаного лікарського засобу.

Таблиця 1

**Режими приготування розчину L-аргініну байкалілату**

Склад розчину, г/л	Параметри				
	температура, °С	час перемішування, хв.	співвідношення речовин і води	швидкість перемішування, об/хв.	рН розчину
<i>розчин L-аргініну байкалілату 8 %</i>					
L-аргінін — 22.47 байкалін — 57.53 води для ін'єкцій — до 1 л	35-40	15-20	1:5	100-150	5.8-6.2
<i>розчин L-аргініну байкалілату 20 %</i>					
L-аргінін — 56.18 байкалін — 143.82 води для ін'єкцій — до 1 л	35-40	15-20	1:3	100-150	5.8-6.2

Таблиця 2

**Дослідження стабільності розчинів L-аргініну байкалілату у процесі зберігання**

Препарат, серія	Результати аналізу							
	вихідні дані				термін зберігання 6 міс.			
	рН (5.5-6.5)	прозорість (прозорий)	кольоровість*	кількісний вміст, г/мл	рН	прозорість	кольоровість*	кількісний вміст, г/мл
розчин L-аргініну байкалілату 8 % (с.010309)	6.2	відповідає	відповідає	0.082	6.3	відповідає	відповідає	0.081
розчин L-аргініну байкалілату 20 % (с.020309)	6.3	відповідає	відповідає	0.201	6.4	відповідає	відповідає	0.178

Примітка.

\* — не інтенсивніше вихідного розчину б, розведеного 0.1 М розчином кислоти сірчаної у співвідношенні 1:5.

Крім того, у процесі досліджень із розробки технології приготування розчинів L-аргініну байкалінату 8 % та 20 % були визначені фільтруючі матеріали, які можливо використовувати для очищення розчинів, та відпрацьовані оптимальні режими стерилізації розчинів в ампулах. Дані технологічні параметри було враховано нами при розробці технологічної документації на лікарські засоби.

Результати досліджень із режимів приготування розчинів L-аргініну байкалінату 8 % та 20% представлено в Табл. 1.

Таким чином, взаємозв'язок і послідовність технологічних операцій, підбір режимів і параметрів повністю забезпечують одержання солі L-аргініну байкалінату. Так, реакція солеутворення L-аргініну байкалінату найефективніше проходить у водному середовищі за рахунок відповідності специфічних властивостей води, яка одночасно виконує функцію розчинника та реакційного середовища, і реакційних агентів — L-аргініну та байкаліну. Певні співвідношення води та аргініну-основи забезпечують повне його розчинення і подальший ефективний перебіг реакції.

У результаті досліджень нами одержано істинні розчини L-аргініну байкалінату з оптимальними значеннями рН середовища (від 5.5 до 6.5). Були напрацьовані серії розчинів L-аргініну байкалінату у концентраціях 8 % та 20 %. Результати дослідження стабільності розчинів наведено в Табл. 2.

Таким чином, проведені дослідження з отримання водорозчинних сполук на основі флавоноїду байкаліну дозволили із використанням реакції солеутворення з амінокислотою L-аргінін одержати розчини у концентраціях 8 % і 20 %. Дослідження стабільності ЛЗ буде продовжено з уточненням показників якості та технології для розробки аналітичної та технологічної документації та проведення доклінічних і клінічних досліджень із метою реєстрації та впровадженням ЛЗ у виробництво.

#### Висновки

1. На основі теоретичних та експериментальних досліджень розроблено склад і технологію ін'єкційних ЛЗ на основі амінокислоти L-аргініну та байкаліну.

2. Теоретично розраховано й експериментально визначено оптимальні межі рН розчинів (від 5.5 до 6.5), за яких зберігається стабільність ЛЗ протягом терміну зберігання (6 міс.).

3. На основі реакцій солеутворення L-аргініну з байкаліном визначено якісний і кількісний склад ін'єкційних ЛЗ у вигляді 8 % і 20 % розчинів.

4. Вивчено та відпрацьовано технологічні прийоми приготування ін'єкційних ЛЗ на основі L-аргініну та байкаліну. Вибрано температурний режим приготування розчину та послідовність введення інгредієнтів у розчин.

#### ЛІТЕРАТУРА

- От химической субстанции через оптимальную лекарственную форму к эффективному и безопасному лекарственному препарату / В.П. Георгиевский // *Технология и стандартизация лекарств*. — Харьков: РИРЕГ, 2000. — Т. II. — С. 4-45.
- Георгиевский В.П. Вклад ГП ГНЦАС в развитие фармацевтической науки и промышленности / В.П. Георгиевский // *Фармацевтическая промышленность*. — 2006. — № 1. — С. 52-63.
- Комплексные НИР по поиску и созданию субстанций традиционных и новых ГЛС сердечно-сосудистого действия / Георгиевский В.П., Дихтярев С.И., Маслова Н.Ф. и др. // *Материалы научно-практического семинара координационного совета Отделения химии НАН Украины по проблеме «Научные основы создания лекарственных средств»*. — Алушта, 2001. — С. 3-10.
- Оболенцева Г.В. Растительные фенольные соединения и перспектива создания препаратов на их основе / Г.В. Оболенцева // *Тез. докл. IV Всесоюз. симпозиума по фенольным соед., III-IV секция.* - Ташкент, 1982. - С. 84-85.
- Использование метода ВЭЖХ для анализа флавоновых глюкуронидов в надземной части шлемника байкальского / Шовковий А.В., Шеин А.Т., Попова Т.П. и др. // *Прозвизор*. — 1999. - № 10. — С. 36-38.
- Литвиненко В.И. Природные флавоноиды. — Харьков, 1995. — 48 с.
- Шлемник байкальский. Фитохимия и фармакологические свойства / Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Литвиненко В.И. и др. — Томск: Изд-во ТГХ, 1994. — 223 с.
- Створення фітохімічних препаратів для лікування захворювань, спричинених іонізуючою радіацією. 1. Гемостимулюючі властивості препаратів шоломниці / Гольдберг Е.Д., Дыгай О.М., Литвиненко В.І., Попова Т.П. та ін. // *Фармацевтичний журнал*. — 1996. - № 3. — С. 65-70.
- Пат. 2088249 РФ. Гемостимулятор (байкалінат лизина): Пат. 2088249 РФ Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Агафонов В.И., Симанина Е.В., Ковалев И.П., Литвиненко В.И., Попова Т.П., Шеин А.Т., Шостенко Ю.В. — *Бюлл. изобр.* - 1996. - № 3.
- Гладченко С.В. Изучение возможных механизмов противовоспалительного и антиаллергического действия флавоноидов шлемника байкальского / С.В. Гладченко, И.Г. Бутенко, Г.В. Оболенцева // *Народная и нетрадиционная медицина и пути ее развития: Тез. докл. 1-й конф.* — Полтава, 1993. - С. 36-37.
- Алмакаева Л.Г., Науменок Л.Г., Шевченко И.В. Обоснование состава и технологии получения препарата «Глутарсол» для инфузионной терапии / Л.Г. Алмакаева, Л.Г. Науменок, И.В. Шевченко // *Фармаком*. — 2007. - № 2. — С. 67-71.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: ООО Рирег, 2001. - 531 с.
- Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РИРЕГ. — Доповнення 1. - 2004. - 520 с.
- Аминокислоты и их производные в биологии и медицине: Материалы II Междунар. науч. конф., 10 - 12 окт. 2001 г., Гродно. / Под общ. ред. Л.И. Нефёдова. — Гродно: ГрГУ, 2001. — 124 с.
- Якубке Х. — Д. Аминокислоты, пептиды, белки / Якубке Х.-Д., Ешкайт Х. — Москва: Мир, 1985. — 455 с.
- European Pharmacopoeia. — 5<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, 2005. — 2781 p.



17. Аргинин в медицинской практике (Обзор литературы) / Ю.М. Степанов, И.Н. Кононов, А.И. Журбина, А.Ю. Филиппова // Сучасна гастроентерологія. — 2005. — № 4. — С. 121-127.

#### Резюме

Алмакаева Л.Г., Шевченко И.В., Алмакаев М.С.

#### Исследование по разработке состава и технологии инъекционного лекарственного средства на основе байкалина и аминокислоты

Обоснован состав и разработана технология лекарственного средства для парентерального применения на основе нерастворимого в воде флавоноида байкалина, основанная на процессе получения растворимой соли из исходных реагентов. Изучены оптимальные технологические параметры солеобразования и приготовления раствора препарата.

#### Summary

Almakaeva L.G., Shevchenko I.V., Almakaev M.S.

#### Study and development of the composition and technology of the drug for injection at the base of baicalin and aminoacid

For the drug for injection at the basis of insoluble in water baicalin, the composition was based and the technology (obtaining of insoluble salt from starting materials) was developed. Optimum technology parameters of the salt obtaining and the manufacturing of drug solution were studied.

**Алмакаева Люмила Григоровна.** Зав. лабораторії парентеральних та оральних рідких лікарських засобів (від 1996). Д.фарм.н. (2008).

**Шевченко Ірина Василівна.** Ст.н.співр. лабораторії парентеральних та оральних рідких лікарських засобів. К.фарм.н. (2002). Ст. наук. співр. (2006).

**Алмакаєв Максим Сергійович** (н. 1980). В.о. наук. співр. лабораторії парентеральних та оральних рідких лікарських засобів. К.фарм.н (2009).

УДК 615.451.2:661.122.

Зборовська Т.В., Безчаснюк О.М., Губін Ю.І., Коваленко С.М.  
Національний фармацевтичний університет

## Технологія створення рідких лікарських засобів для орального застосування на основі солей цинку для застосування у педіатрії

Розроблено склади рідких лікарських засобів для орального застосування на основі цинку ацетату дигідрату та цинку сульфату гептагідрату для дітей. Вивчено показники якості запропонованих препаратів. Розроблено технологію виробництва лікарських препаратів на основі солей цинку для застосування у педіатрії.

Поширення такого захворювання як діарея набуває катастрофічного розмаху. Діарея може бути як самостійною хворобою, так і наслідком ряду різних захворювань. Вона спричиняє дискомфорт і навіть може призвести до летальних наслідків. Тому Всесвітньою організацією охорони здоров'я було розроблено рекомендації щодо створення лікарських засобів для лікування діареї різної етіології. Дані рекомендації направлені на лікування діареї у дітей [8, 10, 11].

Метою даної роботи є розробка складу та технології рідких лікарських засобів для дітей, що виявляють антидіарейний фармакологічний ефект.

Дитячі лікарські форми мають виявляти високу біодоступність, фармако-терапевтичну ефективність і мінімальну побічну дію [13, 14, 15]. Для немовлят характерне швидке проникнення лікарських препаратів в органи й тканини, підвищена проникність і незрілість внутрішніх органів, що може викликати подразнення та запалення слизової оболонки органів травлення. Смак і запах лікарських засобів для дітей має дуже важливе значення. Усі лікарські форми

для немовлят і дітей до 1 року, незалежно від їх застосування, мають виготовлятися в асептичних умовах, а розчини для орального та зовнішнього застосування мають бути ще й стерильними, тобто піддаватися стерилізації або стерилізуючій фільтрації [6].

Існує декілька препаратів, що містять цинк, для лікування діареї у дітей у вигляді розчинів і таблеток для приготування розчинів.

Препарат Zinconia випускають у вигляді сиропу на основі цинку ацетату (у 5 мл сиропу міститься близько 20 мг елементарного цинку). Препарат Baby Zinc (ACME Group) у вигляді ароматизованих розчинних таблеток, що містять 20 мг цинку, випускається в Індії та Бангладеш [8, 10].

У Національному фармацевтичному університеті проведено дослідження з розробки вітчизняної дитячої лікарської форми у вигляді розчину для орального застосування, що містить цинк. У рамках досліджень проведено вивчення технологічних та органолептичних властивостей різних солей цинку, підсолоджувачів та ароматизаторів, у залежності від їх концентрацій.

*Експериментальна частина*

Нами раніше розроблено технологію та склад таблеток диспергованих, що містять цинк та виявляють антидіарейний фармакологічний ефект. У роботі над розчином для орального застосування використовувалися такі самі діючі речовини [1, 7, 9].

Із метою теоретичного обґрунтування складу та технології розчину для орального застосування вивчено дію підсолоджувачів для маскування неприємного металевого смаку цинку, кислоти лимонної для створення необхідного рН середовища та корекції смаку розчину [5, 15].

рН розчину має бути у межах від 2.5 до 4.5 відповідно до рекомендацій ВООЗ щодо створення розчину для орального застосування, що містить цинк [11]. Тому нами експериментально визначалася така кількість лимонної кислоти, щоб розчин мав необхідний рН та був кислосолодким на смак.

Залежність рН препарату від вмісту кислоти лимонної в його складі представлена в Табл. 1.

Як видно із Табл. 1 оптимальна концентрація кислоти лимонної складає 0.3%.

В якості підсолоджувача досліджувалася глюкоза, оскільки вона входить до складу ре-

гідратаційних розчинів, що, відповідно до рекомендацій ВООЗ, застосовуються разом із солями цинку при лікуванні діареї [10].

Таблиця 1

**Залежність рН розчину для орального застосування від концентрації кислоти лимонної**

Вміст кислоти лимонної у препараті, у відсотках	рН препарату
0.1	близько 4.5
0.2	близько 4.0
0.3	близько 3.4
0.4	близько 2.9
0.5	близько 2.5

Проводилися дослідження із розробки складу препарату на основі інших підсолоджувачів, таких як сахароза, фруктоза, сорбіт і неогесперидин, але з'ясовано, що дані речовини не мають суттєвих переваг порівняно із глюкозою.

Зважаючи на результати проведених досліджень, було прийнято рішення використовувати глюкозу 40 % як підсолоджувач, який у такій концентрації є гіпертонічним розчином і застосовується при тяжких інфекційних захворюваннях, що супроводжуються інтоксикацією (отруєннях продуктами життєдіяльності мікроорганізмів) [3]. У розчині для орального за-

Таблиця 2

**Склад розроблених препаратів на один контейнер**

Розчин оральний (склад 1)		Розчин оральний (склад 2)	
інгредієнт	вміст	інгредієнт	вміст
<i>діючі речовини</i>			
цинку ацетат дигідрат, у перерахунку на цинк	0.0336 г 0.0100 г	цинку сульфат гептагідрат, у перерахунку на цинк	0.04384 г 0.0100 г
<i>допоміжні речовини</i>			
сахароза	0.8000 г	глюкоза	2.0000 г
ароматизатор харчовий, полуниця	0.0040 г	кислота лимонна	0.0150 г
вода очищена	до 5.0000 мл	вода очищена	до 5.0000 мл

Таблиця 3

**Показники якості розроблених препаратів**

Показник якості	Склад 1		Склад 2	
	вимоги МКЯ	одержані результати	вимоги МКЯ	одержані результати
відносна густина	від 1.065 до 1.095	1.077	від 1.455 до 1.165	1.153
рН	від 6.3 до 7.0 потенціометрично	6.8	від 2.5 до 4.5 (потенціометрично)	3.7
кут оптичного обертання	від +12.0° до +15.2°	13.7°	від +52.5° до +53.3°	53.1°
кількісне визначення (кислота лимонна)	-	-	від 0.0135 г до 0.0165 г (неводне титрування)	0.0154
кількісне визначення (цинк)	від 0.0090 г до 0.0110 г	0.0098	від 0.0090 г до 0.0110 г (комплексометричне титрування)	0.0105

стосування, що містить цинку ацетат дигідрат, як підсолоджувач використовували сахарозу 16 %. Обидва розчини мають приємний смак і належні органолептичні властивості.

В якості ароматизатора в розчині оральному (склад 1) застосовувався харчовий ароматизатор полуниця фірми «Esagom» (Австрія).

Вибрані нами склади розчинів для орального застосування представлено в Табл. 2.

*Результати досліджень та їх обговорення*

Після отримання технологічних зразків дані препарати було проаналізовано відповідно до вимог [2, 4, 12] та розроблених нами методів контролю якості (МКЯ). Результати аналізу підтверджують якість одержаних складів і можливість використання їх у фармацевтичному виробництві. Одержані результати наведено в Табл. 3.

Експериментально доведено стабільність представлених зразків у процесі зберігання в лабораторних умовах протягом 2 років і 3 міс. (Табл. 4 і Табл. 5).

Технологія виробництва зазначених препаратів стандартна та може бути запроваджена на

вітчизняних фармацевтичних підприємствах. Нами було розроблено технологічну схему виробництва рідких лікарських засобів для орального застосування (Рисунок).

Після закінчення технологічних та аналітичних експериментів напрацьовані зразки передано на подальші фармакологічні дослідження.

*Висновки*

Проведено роботи із розробки складів і технології виробництва дитячих лікарських засобів антидіарейної дії, що містять різні солі цинку.

Досліджено деякі показники МКЯ на рідкі лікарські засоби для орального застосування та розроблено методи контролю їх якості.

Вивчено стабільність протягом 2 років і 3 міс. лікарських засобів у формі розчину для орального застосування, що містять цинк.

Отримані результати досліджень будуть враховані при формуванні документації для реєстрації в Україні даних лікарських засобів.

*ЛІТЕРАТУРА*

1. Губін Ю.І. Перспективи створення дитячих лікарських форм на основі солей цинку. Ю.І. Губін, Т.В. Зборовська, С.М. Коваленко // Вісник фармації. – 2009. – № 4 (60). – С. 50-53.

Таблиця 4

**Дослідження стабільності розчину для орального застосування (склад 1) у процесі зберігання при температурі (25±2)°C та відносній вологості (60±5)%**

Показники якості	Вимоги МКЯ	Вихідні показники	6 міс.	12 міс.	24 міс.	27 міс.
опис	Прозорий розчин рожево-червоного кольору, солодкий на смак з ароматом полуниці (візуально)	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
ідентифікація	Реакція (b) на цинк (ДФУ, 2.3.1)	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
прозорість	Розчин має бути прозорим (ДФУ 2.2.1)	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
відносна густина	Від 1.065 до 1.095 (ДФУ 2.2.5, метод 1)	1.070	1.070	1.080	1.080	1.084
pH розчину	Від 6.3 до 7.0 (ДФУ 2.2.3)	6.80	6.80	6.84	6.85	6.83
кут оптичного обертання	Від + 12.0° до + 15.2° (ДФУ 2.2.7)	+ 13.82	+ 13.82	+ 13.84	+ 13.82	+ 13.83
однорідність дозованих одиниць	Маса двох індивідуальних доз може відхилитися від середнього значення для 20 доз в межах, що не перевищують ± 10 %. Жодна індивідуальна маса дози при цьому не повинна відхилитися від середньої маси більше, ніж на 10 % (ДФУ, 2.9.27)	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
кількісне визначення	Вміст цинку в одному контейнері має бути від 0.0090 г до 0.0110 г, рахуючи на середню масу вмісту одного контейнера (ДФУ, 2.5.11)	0.0098	0.0098	0.0098	0.0097	0.0097

2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
3. Компендіум 2008. Лікарські препарати: В 2-х т. / За ред. В.М. Коваленко, О.П. Вікторова. — К.: Моріон, 2008. — Т. 1. — 1128 с.; Т. 2. — 1126 с.
4. Лікарські засоби. Технологічний процес. Документація: Настанова 42-01-2003. — К.: МОЗ України, 2003. — 42 с.
5. Перелік допоміжних речовин, дозволених для застосування у виробництві лікарських засобів, які (лікарські засоби) реєструються в Україні: Наказ МОЗ України від

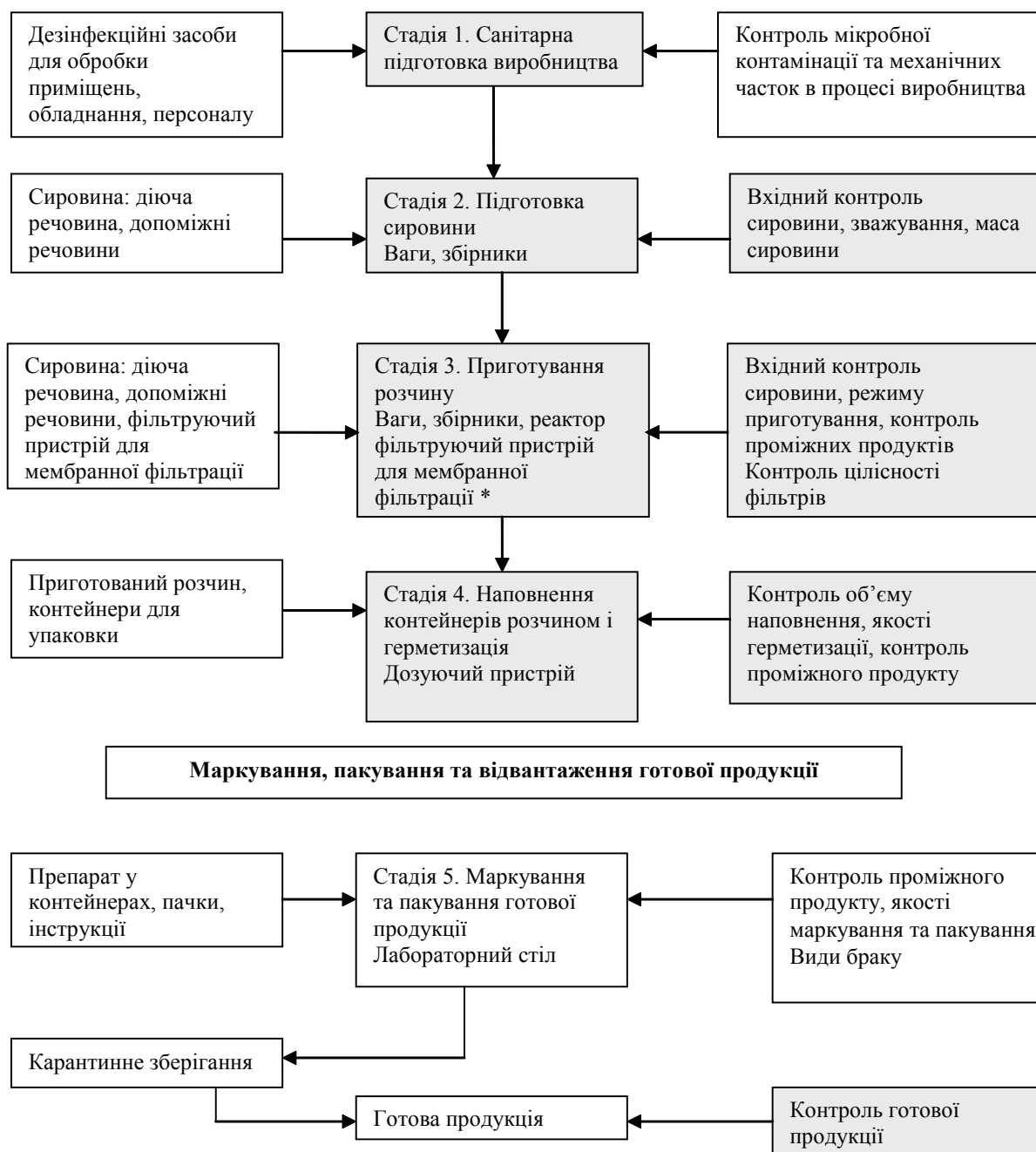
15.01.2003 р. №8. — К., 2003. — 47 с.

6. Наказ Про затвердження правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки // Відомості Міністерства охорони здоров'я. — 2004. — № 626.

7. Технологія ліків промислового виробництва: Підруч. / В.І. Чуєшов, Л.М. Хохлова, О.О. Ляпунова та ін. / За ред. В.І. Чуєшова. — Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. — 720 с.

8. Bhatnagar S. Zinc in child health and disease / S. Bhatnagar, U.M. Natchu // Ind. J. of Pediatrics. — 2004. — Vol. 13, №2. — P. 991-998.

Рисунок



#### Технологічна схема виробництва препаратів, що містять цинк

\*Фільтруючий матеріал — мембранні фільтри виробництва фірми «Sartorius», Німеччина (фільтруючий матеріал — ацетилцелюлоза, діаметр пор 0.45 мкм).

Таблиця 5

Дослідження стабільності розчину для орального застосування (склад 2) у процесі зберігання при температурі (25±2)°C та відносній вологості (60±5)%

Показники якості	Вимоги МКЯ	Вихідні показники	6 міс.	12 міс.	24 міс.	27 міс.
опис	Прозорий розчин жовтавого кольору, солодкий на смак (візуально)	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
ідентифікація	Реакція (b) на цинк (ДФУ, 2.3.1)	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
відносна густина	Від 1.135 до 1.165 (ДФУ 2.2.5, метод 1)	1.153	1.153	1.153	1.152	1.153
pH розчину	Від 2.5 до 4.5 (ДФУ 2.2.3)	3.70	3.70	3.74	3.76	3.9
кут оптичного обертання	Від +52.5° до +53.3° (ДФУ 2.2.7)	+53.11	+53.12	+53.11	+53.13	+53.15
однорідність дозованих одиниць	Маса двох індивідуальних доз може відхилитися від середнього значення для 20 доз в межах, що не перевищують ± 10 %. Жодна індивідуальна маса дози при цьому не повинна відхилитися від середньої маси більше, ніж на 10 % (ДФУ, 2.9.27)	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам	відповідає вимогам
кількісне визначення кислоти лимонної	Визначають неводним титруванням Від 0.0135 г до 0.0165 г (ДФУ 1.1, с. 373)	0.0154	0.0154	0.0154	0.0152	0.0152
кількісне визначення	Вміст цинку в одному контейнері має бути від 0.0090 г до 0.0110 г, рахуючи на середню масу вмісту одного контейнера (комплексометричне титрування ДФУ 2.5.11)	0.0097	0.0097	0.0096	0.0096	0.0095

9. European Pharmacopoeia. — 5<sup>th</sup> ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2006. — 4369 p.

10. Implementing the new recommendations on the clinical management of diarrhea: guidelines for policy makers and programmer managers. — Geneva: World Health Organization, 2006. — 36 p.

11. Production of Zinc Tablets and Zinc Oral Solutions. Guidelines for Programmer Managers and Pharmaceutical Manufacturers. — Geneva: World Health Organization., 2007. — 28 p.

12. The United States Pharmacopoeia. - USP 30 — NF25. - Rockville, 2006. — 3502 p.

13. Детские лекарственные формы для лечения простудных и желудочно-кишечных заболеваний / В.Н. Спиридонов, Е.И. Прохватило, С.В. Гладченко и др. // Достижения современной фармації та перспективи її розвитку у новому тисячолітті: Матеріали V національного з'їзду фармацевтів України. — Х., 1999. — С. 204-205.

14. Детские лекарственные формы на основе природных и синтетических субстанций / В.Н. Спиридонов, Г.В. Оболенцева, А. И. Кобзарь и др. // Достижения современной фармації та перспективи її розвитку у новому тисячолітті: Матеріали V національного з'їзду фармацевтів України. — Х., 1999. — С. 203-204.

15. Спиридонов В.Н. Лекарства для детей / В.Н. Спиридонов, Г.В. Оболенцева // Технология и стандартизация ле-

карств: Сб. науч. трудов / Под ред. В. П. Георгиевского и Ф.А. Конева. — Х.: ООО «РИПЕГ», 1996. — С. 732-748.

Резюме

Зборовская Т.В., Безчаснюк Е.М., Губин Ю.И., Коваленко С.Н.

**Технология создания жидких лекарственных средств для орального применения на основе солей цинка для применения в педиатрии**

Разработаны составы жидких лекарственных средств для орального применения на основе цинка ацетата дигидрата и цинка сульфата гептагидрата для детей. Изучены показатели качества предложенных препаратов. Разработана технология производства лекарственных препаратов на основе солей цинка для применения в педиатрии.

Summary

Zborovskaya T.V., Bezchasnyuk E.M., Gubin Yu.I., Kovalenko S.N.

**Technology of the manufacturing of liquid preparations for oral use at the base of zinc salts for children**

Compositions of liquid preparations for oral use at the basis of zinc acetate dehydrate and zinc sulfate heptahydrate for children have been developed. Quality indices of proposed preparations have been studied. The technology of manufac-



turing of pediatric preparations at the basis of zinc salts has been developed.

**Зборовська Тетяна Володимирівна.** Закінчила Національний фармацевтичний університет (2005). Аспірант (2007).

**Безчаснюк Олена Михайлівна.** Закінчила Харківський державний університет ім. О.М. Горького (1986). Зав. навчально-науковою технологічною лабораторією лікарських форм НФаУ (2008). К.фарм.н. (1996).

**Губін Юрій Іванович** (н. 1958). Закінчив Харківський державний університет ім. О.М. Горького (1985). Ст. наук. співр. лаб. контролю якості НФаУ (2009). К.фарм.н. (1996). Доцент (2000).

**Коваленко Сергій Миколайович** (н. 1959). Закінчив Харківський державний університет ім. О.М. Горького (1983). Зав. кафедри управління якістю НФаУ (2002). Проректор із наукової роботи НФаУ (2005). Д.х.н. (1993). Професор (1996).

## Фармакологічні дослідження

УДК 615.27:547.814.5

Маслова Н.Ф., Крамаренко Е.А., Бомко Т.В., Шаломай А.С.

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и изделий медицинского назначения»

ЗАО «Научно-производственный центр «Борщаговский ХФЗ»»

### Влияние Корвитина на некоторые показатели реологии и системы гемостаза у животных с экспериментальным сахарным диабетом

На модели сахарного диабета у экспериментальных животных Корвитин проявляет гемореологический и гипокоагуляционный эффекты. В результате отмечается восстановление реологического показателя (вязкости) крови и нормализация времени свертывания крови животных. Лечебно-профилактическое применение препарата ослабляет признаки гиперкоагуляции, что выражается в незначительной тенденции к удлинению показателей АЧТВ, тромбинового и протромбинового времени, снижению концентрации фибриногена, а также тенденции к повышению фибринолитической активности крови животных. Сравнительные исследования Корвитина и Ацелизина-КМП на модели сахарного диабета показало, что оба препарата в равной степени нормализуют время свертывания крови и проявляют одинаковую тенденцию к снижению повышенной концентрации фибриногена и увеличению сниженной фибринолитической активности крови при указанной экспериментальной патологии у животных. Достоверных различий в действии препаратов на модели сахарного диабета у крыс не установлено.

Известно, что при сахарном диабете по мере нарастания длительности и тяжести заболевания наблюдается гиперкоагуляция крови, связанная с усилением адгезивных и агрегационных свойств тромбоцитов, повышенным содержанием фибриногена, фибринстабилизирующего фактора, снижением антикоагулянтной активности, и угнетением фибринолиза вследствие повышения содержания в крови ингибиторов активации плазминогена и антиплазминов [1-4]. Кроме того, данные экспериментально-клинических работ, посвященные гемореологии крови при сахарном диабете, свидетельствуют о снижении параметров, характеризующих деформируемость эритроцитов. Установлено, что пониженная способность эритроцитов к деформации и их повышенная вязкость у больных сахарным диабетом являются следствием увеличения количества гликированного гемоглобина [2, 5-7].

В соответствии с данными литературы природные биофлавоноиды (дикверцетин в сочетании с аскорбиновой кислотой), благодаря

антиоксидантным свойствам, проявляют гемореологические эффекты у животных при экспериментальном аллоксановом диабете [8].

Целью данной работы явилось изучение влияния препарата Корвитин на некоторые реологические показатели и систему гемостаза у животных с экспериментальной моделью сахарного диабета сравнительно с препаратом Ацелизин-КМП.

#### Объекты и методы

Объектом изучения явился препарат «Корвитин, лиофилизированный порошок для инъекций во флаконах по 0.5 г» производства НПЦ «Борщаговский ХФЗ» (серия 1490508), действующим веществом которого является кверцетин.

В связи с тем, что планируется изучение влияния Корвитина на некоторые реологические показатели и системы гемостаза, в качестве препарата сравнения использовали препарат «Ацелизин-КМП, порошок для приготовления раствора для инъекций, 1 г во флаконах»,

действующим веществом которого является ацетилсалициловая кислота. Препараты ацетилсалициловой кислоты широко применяют для профилактики тромбоза и эмболии после операций на сосудах, преходящего нарушения мозгового кровообращения, ишемического инсульта, вторичной профилактики инфаркта миокарда и др.

Для воспроизведения патологии использовали модель сахарного диабета II типа, вызванного дексаметазоном, у крыс. Как известно, высокие дозы глюкокортикоидов могут вызывать нарушения секреторной функции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы и развитие инсулинорезистентности. В частности, было показано, что введение дексаметазона вызывает умеренное повышение базальной гипергликемии, влияет на индуцированный инсулином захват глюкозы клетками печени и мышц. Механизм действия дексаметазона на поджелудочную железу и чувствительность к инсулину периферических тканей в настоящее время изучается, однако известно, что дексаметазон повышает выработку амилоида амилина панкреатическими  $\beta$ -клетками (более чем в 6 раз повышается содержание амилина в плазме крови), что объединяет этот тип патологии с диабетом II типа у человека [6]. Дексаметазон также вызывает экспрессию белков-переносчиков глюкозы (GLUT1), что приводит к развитию инсулинорезистентности [9].

Модель дексаметазонового диабета, по данным литературы, воспроизводится его инъекциями в дозе 3.1 мг/кг в течение 4-7 сут., либо в меньшей дозе (0.125 мг/кг), но более длительный срок — 13 сут. [10].

Более предпочтительным является второй вариант модели, поскольку он в большей степени соответствует диабету II типа: при этом варианте модели диабета не отмечается гибели животных, патологический процесс развивается в менее выраженной форме. При «быстром» варианте дексаметазонового диабета развивается более жесткая патология, отмечается существенное (более 10 ммоль/л) повышение глюкозы в крови животных. Поэтому использовали «длительный» вариант развития дексаметазонового диабета: ежедневное подкожное введение крысам дексаметазона в дозе 0.125 мг/кг в течение 13 сут.

Эксперимент проводили на крысах-самцах старого возраста ((18-20) мес.) массой тела (370-430) г. Указанное связано с различиями в развитии патологии у молодых и животных старого возраста: большей выраженностью дексаметазонового диабета у крыс старше 18 мес. вследствие

возрастных изменений секреторной функции желез внутренней секреции и чувствительности тканей к инсулину. Как известно, возрастная динамика содержания инсулина в крови заключается в повышении в 2-4 раза уровня свободного и связанного инсулина в пожилом возрасте (60 лет у людей и (18-24) мес. у крыс), с последующим снижением до уровня молодого возраста к 90 годам. Изменения уровня инсулина связывают с возрастными сдвигами в синтезе гормона и в его распаде, осуществляемом инсулинозной системой печени. Таким образом, у крыс 18-месячного возраста отмечается исходно повышенный уровень инсулина в крови, что ведет к развитию резистентности к гормону периферических тканей даже без воздействия повреждающих агентов.

При проведении эксперимента животные были разделены на группы:

- 1 — группа интактного контроля;
- 2 — группа с экспериментальной моделью сахарного диабета (СД);
- 3 — группа животных с СД, которым вводили Корвитин в условно-терапевтической дозе 15 мг/кг по кверцетину;
- 4 — группа животных с СД, которым вводили Корвитин в дозе, превышающей условно-терапевтическую в 2 раза — 30 мг/кг по кверцетину;
- 5 — группа животных с СД, которым вводили Ацелизин-КМП в терапевтической дозе 30 мг/кг по ацетилсалициловой кислоте, рассчитанной по Рыболовлеву Ю.Р.

С целью развития патологии животным опытных групп (2-5) в течение 13 сут, один раз в сутки, подкожно, в область бедра вводили дексаметазон в дозе 0.125 мг/кг. В экспериментах использовали препарат «Дексаметазон-Дарница, раствор для инъекций 0.4, в ампулах по 1 мл», серия 61207. Содержимое ампулы разводили физиологическим раствором в 15 раз и вводили крысам в дозе 0.05 мл/100 г массы тела.

Введение исследуемого препарата Корвитин крысам 3 и 4 групп осуществляли внутрибрюшинно, в течение 5 сут (начиная с 9 по 13 сутки эксперимента). Препарат сравнения Ацелизин-КМП вводили крысам 5 группы по аналогичной схеме.

С целью подтверждения развития патологии (сахарного диабета) у животных непосредственно перед исследованием определяли содержание глюкозы в цельной крови глюкозооксидазным методом с помощью стандартных наборов производства НПП «Фелисит-Диагностика».

Влияния препарата Корвитин на гемореологический показатель — вязкость крови, из-

учали с помощью гемовискозиметра капиллярного ВК-4.

В этих же группах животных изучали время свертывания крови по Моравицу [11], а также исследовали состояние плазменного звена гемостаза по концентрации фибриногена в плазме, активированному частичному (парциальному) тромбопластиновому времени (АЧТВ), протромбиновому и тромбиновому времени оптическим методом на гемокоагулометре турбидиметрическом CGL-2110 фирмы «Солар» (Минск) с использованием реактивов фирмы «НПО Ренам» (Москва) в соответствии со стандартными методиками с учетом методических рекомендаций к прибору [12].

О состоянии фибринолитической системы гемостаза судили по показателям фибринолитической активности крови, оцениваемой в тесте на фибриновых пластинах по методу Astrup и соавт. [11]. В тесте оценивали общую фибринолитическую активность, включающую суммарную активность плазмина и активатора плазминогена.

Забор крови для оценки указанных показателей проводили через 60 мин после последнего введения препаратов.

Во время эксперимента с животными работали согласно правилам Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986 г.). Биоэтические аспекты протокола исследований одобрены Комиссией по биоэтике ГП ГНЦЛС (протокол № 17 от 12.09.08).

Все полученные в эксперименте цифровые данные обработаны методом вариационной статистики. Различия считали достоверными при значениях критерия  $p \leq 0.05$ .

#### Результаты исследований и их обсуждение

Длительное (в течение 13 сут) введение крысам дексаметазона в дозе 0.125 мг/кг вызывало развитие патологии, которая подтверждалась

достоверным увеличением исходного уровня глюкозы крови у животных старого возраста относительно интактного контроля (в 1.6-1.7 раза) (Табл. 1). Повышенный уровень глюкозы натощак является основным показателем развития сахарного диабета типа II у человека [13].

Таблица 1  
Сравнительная оценка содержания глюкозы в цельной крови крыс в условиях дексаметазонового диабета и при лечебно-профилактическом введении Корвитина и Ацелизина-КМП (n = 6-8)

Экспериментальная группа	Содержание глюкозы в крови крыс, ммоль/л
интактный контроль	4.58 ± 0.15
контроль патологии (СД)	7.90 ± 0.27 *
патология + Корвитин 15 мг/кг	7.28 ± 0.33 *
патология + Корвитин 30 мг/кг	7.25 ± 0.30 *
патология + Ацелизин-КМП 30 мг/кг	7.56 ± 0.58 *

Примечание.

\* — достоверность различия относительно показателей интактного контроля ( $p \leq 0.05$ ).

Анализ данных показателя вязкости у животных интактного контроля и животных с патологией (Табл. 2) показал, что при сахарном диабете отмечается статистически достоверное повышение указанного показателя (на 76.9 %).

Полученный результат соответствует данным литературы, в которых указано, что у больных сахарным диабетом отмечается увеличение количества гликированного гемоглобина, следствием чего является пониженная способность эритроцитов к деформации и их повышенная вязкость [2, 7, 14].

Лечебно-профилактическое введение животным Корвитина способствует достоверному уменьшению вязкости крови крыс. Так, у животных, получавших Корвитин в дозе 15 мг/кг, по сравнению с нелечеными животными отмечается снижение вязкости на 28.7 %; у живот-

Таблица 2

Сравнительная оценка влияния лечебно-профилактического введения Корвитина и Ацелизина-КМП на вязкость и время свертывания крови при экспериментальном сахарном диабете (n=6-8)

Экспериментальная группа	Вязкость крови, усл. ед.	Время свертывания крови по Моравицу, с
интактный контроль	3.37 ± 0.18	245.0 ± 11.5
контроль патологии	5.96 ± 0.18 *	195.0 ± 8.8 *
патология + Корвитин 15 мг/кг	4.25 ± 0.19 */**	267.5 ± 15.4 **
патология + Корвитин 30 мг/кг	4.13 ± 0.11 */**	275.8 ± 18.2 **
патология + Ацелизин-КМП 30 мг/кг	4.10 ± 0.19 */**	273.3 ± 33.0

Примечания:

\* — достоверность различия относительно показателей интактного контроля ( $p \leq 0.05$ );

\*\* — достоверность различия относительно показателей контроля патологии ( $p \leq 0.05$ ).

ных, получавших Корвитин в дозе 30 мг/кг — на 30.7 %. Как следует из представленных данных, с увеличением дозы препарата большей выраженности эффекта не установлено.

Лечебно-профилактическое введение животным Ацелизина-КМП также приводит к достоверному снижению вязкости крови животных. Указанный показатель (4.10 усл. ед.) ниже данных группы нелеченных животных на 31.2 %. Следует отметить, что эффект Корвитина и препарата сравнения на реологический показатель крови практически равноценен. Различия в группах животных, получавших препараты, статистически недостоверны.

Как видно из представленных данных (Табл. 2), при сахарном диабете у животных отмечаются достоверные изменения времени свертывания крови. Так, у нелеченных животных время свертывания крови регистрируется в среднем на уровне 195 с, что на 20.4 % ниже по сравнению с интактным контролем. Указанное объясняется тем, что, по данным литературы, повышенная агрегация эритроцитов приводит к нарушению транскапиллярного обмена, выбросу БАВ, стимулирующих адгезию и агрегацию тромбоцитов, и, как следствие, к активированию системы свертывания крови [3, 8].

Лечебно-профилактическое введение препарата Корвитин животным с патологией способствует нормализации времени свертывания крови. Так, у животных, получавших Корвитин в дозе 15 мг/кг, время свертывания крови составляет 267.5 с, что достоверно превышает указанный показатель нелеченных животных (на 37.2 %) и несколько выше показателя интактного контроля (различия недостоверны).

У животных, получавших Корвитин в дозе 30 мг/кг, время свертывания достоверно возросло до уровня 275.8 с, что на 41.5 % выше показателя нелеченных животных. Причем, как видно из полученных данных при увеличении дозы препарата не установлено статистически достоверной разницы в эффекте.

Препарат сравнения — Ацелизин-КМП — в дозе 30 мг/кг вызывал аналогичные изменения: время свертывания крови животных значительно возрастало и по сравнению с нелеченными животными достоверно удлинялось (на 40.2 %) и также несколько превышало показатель интактного контроля (различия недостоверны).

Анализ результатов показателей плазменного звена гемостаза показал (Табл. 3), что у животных с экспериментальной моделью сахарного диабета по сравнению с интактными крысами отмечается достоверное снижение показателя АЧТВ (на 42.7 %) и повышение уровня фибриногена (на 33 %), а также отмечается тенденция к сокращению протромбинового и тромбинового времени, что указывает на признаки гиперкоагуляции.

Лечебно-профилактическое введение Корвитина в дозах 15 мг/кг и 30 мг/кг не оказывает статистически значимого влияния на показатели АЧТВ, протромбинового и тромбинового времени, концентрацию фибриногена; отмечается лишь положительная тенденция к их нормализации. Причем, как видно из Табл. 3, повышение дозы препарата Корвитин не приводит к увеличению эффекта — различия в группах животных, получавших исследуемый препарат, статистически недостоверны.

У животных, получавших Ацелизин-КМП в дозе 30 мг/кг, не выявлено каких-либо достоверно значимых изменений показателей плазменного звена гемостаза по сравнению с нелеченными животными: в группе отмечается лишь положительная динамика, которая выражается в незначительной тенденции к гипокоагуляции, а именно - увеличение АЧТВ, тромбинового (ТВ) и протромбинового (ПТВ) (на 20.8 %) времени.

Таким образом, при лечебно-профилактическом введении крысам в условиях сахарного диабета препарат Корвитин не оказывает выраженного действия на показатели плаз-

Таблица 3

**Сравнительная оценка влияния лечебно-профилактического введения Корвитина и Ацелизина-КМП на показатели плазменного звена гемостаза крыс при экспериментальном сахарном диабете (n = 6-8)**

Экспериментальная группа	ПТВ, с	ТВ, с	АЧТВ, с	ФГ, г/л
интактный контроль	14.64 ± 1.35	15.44 ± 1.64	47.24 ± 4.88	3.24 ± 0.31
контроль патологии (ЭАР)	11.97 ± 1.44	11.90 ± 0.65	27.09 ± 1.76 *	4.31 ± 0.41
патология + Корвитин 15 мг/кг	12.69 ± 1.29	12.29 ± 0.70	30.28 ± 3.56 *	4.20 ± 0.24
патология + Корвитин 30 мг/кг	13.97 ± 1.18	12.86 ± 1.24	30.85 ± 2.24 *	4.17 ± 0.26
патология + Ацелизин 30 мг/кг	15.10 ± 3.19	13.99 ± 1.88	34.29 ± 2.97 *	4.18 ± 0.50

Примечания:

ФГ — концентрация фибриногена;

\* — достоверность различия относительно показателей интактного контроля (p ≤ 0.05);

\*\* — достоверность различия относительно показателей контроля патологии (p ≤ 0.05).



менного звена гемостаза, отмечается лишь незначительная тенденция в сторону гипокоагуляции.

Анализ результатов фибринолитической активности показал (Табл. 4), что у животных с экспериментальной моделью сахарного диабета, по сравнению с интактными крысами, отмечается уменьшение площади зон лизиса фибриновых пластин (на 46.2%), что указывает на снижение активности плазмينا и его активатора, т.е. на угнетение фибринолиза. Полученные результаты согласуются с данными литературы — у крыс с гипергликемией снижается активность активатора тканевого плазминогена и повышается уровень его ингибиторов [4].

Лечебно-профилактическое введение Корвитина в дозах 15 мг/кг и 30 мг/кг не оказывает статистически значимого влияния на показатель фибринолитической активности крови; отмечается лишь положительная тенденция к нормализации по сравнению с нелечеными животными (различия статистически недостоверны), что выражается в увеличении зон лизиса фибриновых пластин, т.е. повышении активности плазмينا и его активатора. Статистически значимых различий в фибринолитической активности крови крыс при увеличении дозы Корвитина (30 мг/кг) не установлено.

Таблица 4

**Сравнительная оценка влияния лечебно-профилактического введения Корвитина и Ацелизина-КМП на фибринолитическую активность крови крыс при экспериментальном сахарном диабете (n = 6)**

Экспериментальная группа	Фибринолитическая активность, мм <sup>2</sup>
интактный контроль	45.63 ± 8.01
контроль патологии	24.57 ± 5.54
патология + Корвитин 15 мг/кг	33.58 ± 4.98
патология + Корвитин 30 мг/кг	34.50 ± 3.30
патология + Ацелизин-КМП 30 мг/кг	36.40 ± 3.08

Примечания:

\* — достоверность различия относительно показателей интактного контроля ( $p \leq 0.05$ );

\*\* — достоверность различия относительно показателей контроля патологии ( $p \leq 0.05$ ).

У животных, получавших Ацелизин-КМП в дозе 30 мг/кг, также не выявлено каких-либо достоверно значимых изменений показателей фибринолитической активности по сравнению с нелечеными животными: в группе отмечается лишь положительная динамика, которая выражается в незначительной тенденции к усилению фибринолиза.

Таким образом, Корвитин на модели сахарного диабета у экспериментальных животных способствует восстановлению реологического показателя (вязкости) крови, нормализации времени свертывания крови и ослаблению признаков гиперкоагуляции, что может свидетельствовать о его перспективности применения в комплексной терапии сахарного диабета. Установленные эффекты можно объяснить мембраностимулирующими и антиоксидантными свойствами препарата, которые, по-видимому, препятствуют реакции освобождения из клеток факторов свертывания крови и улучшают реологию крови в сосудах.

#### Выводы

Корвитин, лиофилизированный порошок для инъекций во флаконах, производства ЗАО «НПЦ «Борщаговский ХФЗ»», на модели сахарного диабета у экспериментальных животных проявляет гемореологический и незначительный гипокоагуляционный эффекты. Указанное действие выражается в восстановлении реологического показателя (вязкости) крови и нормализации времени свертывания крови животных. Лечебно-профилактическое применение препарата ослабляет признаки гиперкоагуляции, что выражается в незначительной тенденции к увеличению показателей АЧТВ, тромбинового и протромбинового времени, снижению концентрации фибриногена, а также к повышению фибринолитической активности крови животных, что свидетельствует о его перспективном применении в комплексной терапии сахарного диабета.

При введении Корвитина крысам на модели экспериментального сахарного диабета в терапевтической дозе, и в дозе, в два раза превышающей ее, статистически значимых различий в исследуемых показателях не установлено.

По влиянию на некоторые показатели реологии и системы гемостаза на модели сахарного диабета Корвитин, лиофилизированный порошок для инъекций во флаконах, производства ЗАО «НПЦ «Борщаговский ХФЗ»», не уступает препарату Ацелизин-КМП, порошок для приготовления раствора для инъекций.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Перекисное окисление липидов и гемостаз у больных инсулинозависимым сахарным диабетом / Нелаева Л.А., Бышевский А.М., Трошина И.А., Журавлева Г.Д. // Проблемы эндокринологии. — 1998. — Т. 44, № 5. — С. 5, 10-14.
2. Щербак А.В. Использование Аспирина как основы профилактики сердечно-сосудистой патологии при сахарном диабете [Электронный ресурс] / А.В. Щербак // Здоровье Украины. — 2003. — № 69. — Режим доступа до журн.: <http://www.health-ua.com/articles/152/html>.



3. Ефимов А.С. Сахарный диабет и сердце [Электронный ресурс] / А.С. Ефимов, Л.К. Соколова, Ю.Б. Рыбченко // Мистецтво лікування. — Режим доступу до журн.: <http://m-l.com.ua>.
4. Применение пиявита при сахарном диабете [Электронный ресурс] / Михайлова Е.В., Чиркова Л.Д., Балаболкин М.И., Клебанова Е.М. // Сахарный диабет. — 1999. — № 2(3). — Режим доступу до журн.: <http://www.diabet.ru/Sdiabet/1999-02/9.htm> ;
5. Гипергликемия и острый коронарный синдром. Научное постановление Американской ассоциации сердца, Комитета по диабету. (Совет по нутрициологии, физической активности и обмену веществ) // Острые и неотложные состояния в практике врача. — 2008. — № 4. — С. 18-23.
6. Каримов Х.Я. Реология крови при экспериментальном сахарном диабете / Х.Я. Каримов, Б.У. Ирискулов, М.К. Эргашев // Бюл. экспер. биол. и медицины. — 1993. — № 12. — С. 584-585.
7. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе диквертина. — Томск: Изд-во ТГУ. — 228 с.
8. Плотников М.Б. Метод отбора лекарственных веществ, влияющих на реологические свойства крови in vitro / М.Б. Плотников, А.А. Колтунов, О.И. Алиев // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1996. — Т. 59, № 6. — С. 54-55.
9. Alteration in phosphorylation of P20 is associated with insulin resistance / Y. Wang, Aimin X., Jiming Y. et al. // Diabetes. — 2001. — V. 50. — P. 1821-1827.
10. Dexamethasone-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is due to inhibition of glucose transport rather than insulin signal transduction / H. Sakoda, T. Ogihara, M. Anai et al. // Diabetes. — 2000. — Vol.49, № 10. — P. 1700-1708.
11. Лабораторные методы исследования системы гемостаза / Балуда В.П., Баркаган Э.С., Гольдберг Е.Д. и др. — Томск, 1980. — 235 с.
12. Дмитриев В.В. Инструкция по определению коагуляционных свойств плазмы на коагулометре CGL-2110. — Минск, 1997. — 13 с.
13. Полторац В.В., Горбенко Н.І. Експериментальне вивчення нових гіпоглікемічних засобів // Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. член-кор. АМН України О. В. Стефанова. — К.:Авіцена, 2001. — С. 404.
14. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Лечение сахарного диабета и его сосудистых осложнений (Руководство для врачей). — М.: Медицина, 2005. — 512 с.

*Резюме*

Маслова Н.Ф., Крамаренко О.О.,  
Бомко Т.В., Шаломай А.С.

**Вплив Корвітину на деякі показники реології та системи гемостазу у тварин з експериментальним цукровим діабетом**

На моделі цукрового діабету у експериментальних тварин Корвітин виявляє гемореологічний і гіпокоагуляційний

ефекти. У результаті відмічається відновлення реологічного показника (в'язкість) крові та нормалізація часу згортання крові тварин. Лікувально-профілактичне застосування препарату послаблює ознаки гіперкоагуляції, що виражається у незначній тенденції до збільшення показників АЧТВ, тромбінового та протромбінового часу, зниженню концентрації фібриногену, а також тенденції до підвищення фібринолітичної активності крові тварин. Порівняльні дослідження Корвітину та Ацелізіну-КМП на моделі цукрового діабету показали, що обидва препарати у рівній мірі нормалізують час згортання крові та виявляють однакову тенденцію до зниження підвищеної концентрації фібриногену та зростання зниженої фібринолітичної активності крові при зазначеній експериментальній патології у тварин. Достовірних відмінностей у дії препаратів на моделі цукрового діабету у щурів не встановлено.

*Summary*

Maslova N.F., Kramarenko E.A., Bomko T.V., Shalomaiy A.S.

**Impact of Korvitein on some indices of rheology and hemostasis system at animals with experimental pancreatic diabetes**

At the model of pancreatic diabetes at experimental animals Korvitein showed hemorheology and hypocoagulating effects. As the result has been shown the renewal of rheologic index (viscosity) of blood and normalization of the time of coagulation of animals blood. Treatment and prevention use of drug decreased signs of hypercoagulation what have been seen from the slight tendency for the prolongation of APTT indices, thrombin and prothrombin time, decrease of fibrinogen concentration and also from the tendency for fibrinolytic activity of animals blood. Comparative study of Korvitein and Acelsin-KMP at the model of pancreatic diabetes showed the equal effect of both drugs for the normalization of the time of blood coagulation and increase of fibrinolytic activity of blood at that experimental pathology at animals. Significant differences of drugs effects at rats with experimental pancreatic diabetes were not established.

**Маслова Наталья Федоровна.** Работает в ГП ГНЦЛС (с 1972). Ученый секретарь ГП ГНЦЛС. Зав. лабораторией биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС. Д.б.н. (1994). Профессор.

**Крамаренко Елена Алексеевна.** Работает в ГП ГНЦЛС (с 1990). К.б.н. (2005). Ст. науч. сотр. лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС.

**Бомко Татьяна Васильевна.** Работает в ГП ГНЦЛС (с 1990). К.б.н. (1996). Ст. науч. сотр. лаборатории биохимической фармакологии ГП ГНЦЛС.

**Шаломай Анатолий Севастьянович.** Зам. ген. директора ЗАО «НПЦ «Борщоговский ХФЗ»» по науке. К.х.н.

Щокіна К.Г., Штриголь С.Ю., Іщенко О.М.  
Національний фармацевтичний університет  
Науково-дослідний інститут особливо чистих біопрепаратів, м. Санкт-Петербург, Росія

## Експериментальне вивчення фрігопротекторної дії рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіна-1 (АРІЛ-1)

Проведено експериментальне дослідження фрігопротекторної дії рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіна-1 (АРІЛ-1) на моделі гострої холодової травми. Встановлено, що АРІЛ-1 на моделі гострого загального охолодження у мишей достовірно збільшує час виживання порівняно із відомим фрігопротектором кислотою ацетилсаліциловою. Одноразове лікувальне або профілактичне застосування АРІЛ-1 при холодовій травмі підвищує пригнічені показники локомоторної, дослідницької активності й емоційності тварин, покращує тонус скелетних м'язів, координацію рухів і фізичну витривалість, стимулює видільну функцію нирок і підвищує їхню здатність до концентрування сечі у відновлювальному періоді. Таким чином, АРІЛ-1 виявляє виражену фрігопротекторну дію, що обґрунтовує можливість його застосування в якості ефективного засобу профілактики та лікування наслідків холодової травми.

Збереження життя та здоров'я, оптимізація функціонального стану та працездатності людини в умовах холодового впливу зовнішнього середовища, профілактика та лікування загального охолодження та відморожень є однією з найважливіших проблем сучасної медицини, особливо сьогодні, коли сотні тисяч людей швидко змінюють кліматичні зони [3, 7, 9]. Процес адаптації до холоду розвивається повільно та зазвичай супроводжується погіршенням захисних властивостей організму. Тому для корекції температурного гомеостазу, підвищення фрігорезистентності тканин необхідна фармакотерапія. В якості фрігопротекторів найчастіше застосовують актопротектори, ноотропні та нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), які впливають на основні ланки патогенезу холодової травми [6, 13].

НПЗЗ із доведеною фрігопротекторною дією є кислота ацетилсаліцилова (АсК) [11]. Але її вживання може призвести до диспепсичних явищ і навіть гастропатії та виразкового ураження шлунка, бронхоспазму, порушення функції нирок, тромбоцитопенії, геморагій, алергічних реакцій. Тому АсК протипоказана хворим на виразкову хворобу шлунка, ниркову та печінкову недостатність, бронхіальну астму, геморагічний діатез, при вагітності та лактації, дітям до 14 років [10].

Підвищення холодової резистентності є одним із найменш вивчених напрямків фармакології, тому створення препаратів із фрігопротекторною дією є актуальним завданням [12, 14]. В останні роки значного розвитку набув напрямок досліджень, пов'язаний із вивченням взаємодії імунної, нервової й ендокринної систем, що реалізується за допомогою цитокінів [18, 19]. Відомо, що цитокіни, такі як інтерлейкін-1, регулюють функції ЦНС і виявляють прозапальну активність [1, 6, 8]. Тому можливо припус-

тити, що антагоніст рецепторів інтерлейкіна-1 здатний підвищувати холодову резистентність. Відомості про це у доступних джерелах інформації відсутні.

Метою даної роботи є експериментальне з'ясування наявності фрігопротекторної дії рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіна-1 (АРІЛ-1) на моделі гострої холодової травми. Використано АРІЛ-1, одержаний у Санкт-Петербурзькому науково-дослідному інституті особливо чистих біопрепаратів.

### Матеріали на методи

Фрігопротекторну дію АРІЛ-1 вивчали на білих мишах-самцях масою (16-21) г у співставленні із препаратом порівняння АсК на моделі загального охолодження, для відтворення якої тварин поміщали до прозорої морозильної камери із постійною температурою  $-18^{\circ}\text{C}$  [2]. До початку дослідів мишей утримували при температурі  $+ (21-22)^{\circ}\text{C}$ . Під час охолодження кожна тварина знаходилась в індивідуальному пластиковому пеналі місткістю  $1\text{ дм}^3$ , спостереження за станом мишей відбувалось постійно.

На першому етапі визначали ефективність досліджуваних препаратів при їх введенні у профілактичному режимі (за 30 хв до охолодження). Тварин розподілили на 4 групи: перша ( $n=9$ ) — контрольна патологія; друга та третя ( $n=6$ ) — миші, яким вводили підшкірно АРІЛ-1 у дозах 3 мг/кг та 15 мг/кг, відповідно; четверта ( $n=6$ ) — тварини, яким внутрішньошлунково вводили АсК у дозі 25 мг/кг. Доза АРІЛ-1 3 мг/кг є умовно-терапевтичною за протизапальним ефектом, 15 мг/кг — умовно-терапевтичною за психотропною та нейропротекторною дією [4, 15]. Фрігопротекторну активність ( $A_f$ ), у відсотках, оцінювали за часом виживання мишей (до агонального вдиху) в умовах гострого охолодження за формулою:

$$\frac{T_s}{T_{cp}} \times 100 \%,$$

де:

$T_s$  — середня тривалість життя у групі тварин, яким вводили досліджуваний препарат, у хвилинах;

$T_{cp}$  — середня тривалість життя у групі тварин контрольної патології, у хвилинах.

На другому етапі досліджень визначали вплив АРІЛ-1 при введенні у профілактичному та лікувальному режимах на перебіг початкового відновлювального періоду після загального гострого охолодження. Для цього тварин поміщали, як зазначено вище, до морозильної камери при температурі  $-18^{\circ}\text{C}$  на 30 хв. Цей термін холодового впливу, за даними попередніх досліджень, є сублетальним: не спричинює смертельних наслідків, але суттєво погіршує загальний стан мишей. Після завершення холодової експозиції мишей тримали при температурі  $(21-22)^{\circ}\text{C}$ , подальші дослідження починали через 20 хв.

Спочатку визначали локомоторну, дослідницьку активність і вегетативний супровід емоційних реакцій у тесті відкритого поля, м'язовий тонус і координацію рухів — за кількістю мишей, що за певні проміжки часу впади зі стрижня діаметром 2 см, що обертається зі швидкістю 10 об/хв.

Далі вивчали стан видільної функції нирок в умовах водного навантаження (5% від маси тіла у шлунок). Вимірювали діурез за 2 год, вміст у сечі та екскрецію глюкози, білка, сечовини та креатиніну, екскреція якого за умов незмінного рівня у крові відбиває швидкість клубочкової фільтрації [16, 17]. Вміст креатиніну визначали фотоколориметрично за реакцією Яффе, сечовини — за реакцією із діацетилмонооксидом, білка — за реакцією з сульфосаліциловою кислотою, глюкози — глюкозооксидазним методом за допомогою стандартних наборів ВТ

«Реагент» (Україна) [5]. Екскрецію ( $E_s$ ) креатиніну, сечовини, глюкози, білка визначали за формулою:

$$E_s = U_s \times V,$$

де:

$U_s$  — концентрація речовини у сечі, у розрахунку на 1 мл,

$V$  — діурез, у мілілітрах на 10 г маси тіла тварини.

На заключному етапі дослідження оцінювали фізичну витривалість за тестом примусового плавання із навантаженням. Мишей із вантажем (5 % від маси тіла на корені хвоста) поміщали у басейн із водою температурою  $(21-22)^{\circ}\text{C}$  і реєстрували час плавання. Критерієм виснаження було знаходження тварини під водою із неспроможністю спливати на поверхню протягом 10 с.

Для цих дослідів мишей розподілили на 4 групи: перша ( $n = 15$ ) — інтактний контроль, друга ( $n = 11$ ) — контрольна патологія (тварини, яких витримували при температурі  $-18^{\circ}\text{C}$  протягом 30 хв.); третя ( $n = 7$ ) — тварини, яким підшкірно вводили АРІЛ-1 у дозі 3 мг/кг у профілактичному режимі (за 30 хв до охолодження); четверта ( $n = 7$ ) — миші, яким вводили АРІЛ-1 у дозі 3 мг/кг у лікувальному режимі (відразу після охолодження).

Достовірність відмінностей, у разі обліку результатів як «середня  $\pm$  стандартна помилка», розраховували за критерієм  $t$  Ст'юдента, при їх реєстрації в альтернативній формі — за кутовим перетворенням Фішера. Функціональний зв'язок між показниками з'ясовували за ранговим кореляційним аналізом Спірмена.

#### Результати досліджень та їх обговорення

Результати досліджень наведено в Табл. 1-6.

Аналіз даних, наведених у Табл. 1, свідчить, що АРІЛ-1 в обох дозах сприяв достовірному збільшенню часу життя експериментальних

Таблиця 1

#### Вплив АРІЛ-1 та кислоти ацетилсаліцилової на тривалість життя мишей в умовах гострого загального охолодження ( $-18^{\circ}\text{C}$ )

Група тварин	Кількість тварин, $n$	Тривалість виживання, хв	Фрігопротекторна активність, %
контрольна патологія	9	51.9 $\pm$ 4.4	—
АРІЛ-1, 3 мг/кг	6	99.5 $\pm$ 11.9*	91.7
АРІЛ-1, 15 мг/кг	6	92.5 $\pm$ 12.9*	78.2
кислота ацетилсаліцилова, 25 мг/кг	5	81.0 $\pm$ 3.1*	56.1

Примітка.

\* — відмінності достовірні відносно групи контрольної патології ( $p \leq 0.05$ ).

тварин порівняно із групою контрольної патології. Фрігопротекторна активність АРІА-1 становила 91.7 % для дози 3 мг/кг і 78.2 % для дози 15 мг/кг, що перевищує фрігопротекторну активність АСК в 1.6 рази та 1.4 рази, відповідно. Для подальших досліджень обрано дозу 3 мг/кг.

Як видно із Табл. 2, за тестом відкритого поля у ранньому відновлювальному періоді після загального гострого охолодження у тварин групи контрольної патології спостерігається достовірне зниження локомоторної активності, пригнічення дослідницької поведінки та вегетативного супроводу емоційних реакцій: сума всіх активностей знизилась у 7 разів відносно інтактних мишей. Введення АРІА-1 за обох режимів сприяло достовірному підвищенню рухової активності, стимулювало дослідницьку поведінку та відновлювало показники емоційного стану тварин після охолодження. Сума всіх активностей достовірно зростала у 3 рази при профілактичному введенні та у 3.4 рази при лікувальному введенні.

Результати тесту на стрижні, що обертається, наведені в Табл. 3, свідчать, що охолодження спричинило достовірне зниження тонуусу скелетних м'язів та погіршення координації рухів тварин групи контрольної патології порівняно з інтактними тваринами (не втрималися на стрижні протягом менше 30 с — 90.9 % та 46.7 % мишей, відповідно, понад 30 с — 9.1 % та 53.3 %). АРІА-1 в обох режимах введення сприяв збільшенню часу утримування експериментальних тварин на стрижні (до 30 с — 71.4 % мишей при профілактичному введенні та 85.7 % тварин при лікувальному введенні, понад 30 с — 28.6 % тва-

рин при профілактичному введенні та 14.3 % при лікувальному введенні). Це свідчить про тенденцію до відновлення м'язового тонуусу та координації рухів після холодової травми під дією АРІА-1 за обох режимів введення, особливо при профілактичному, коли відсутні достовірні відмінності від показників інтактних тварин.

Одержані дані збігаються з результатами вивчення фізичної витривалості мишей у тесті із плавання із навантаженням через 2.5 год після холодової травми. Як видно із Табл. 4, після охолодження час плавання мишей достовірно знизився в 1.4 рази порівняно із показником інтактних тварин (до 1 хв на поверхні води протрималось 72.8 % мишей групи контрольної патології та 30 % інтактних тварин,  $p < 0.05$ ).

АРІА-1 за обох режимів введення сприяв достовірному збільшенню фізичної витривалості у (2.1-2.7) рази (до 1 хв на воді утрималось 42.9 % мишей при профілактичному та лікувальному режимах, по 28.6 % тварин плавали протягом понад 2 хв., чого не було навіть у інтактних тварин). Результати свідчать не тільки про повне відновлення м'язового тонуусу та фізичної витривалості мишей після загального охолодження, але й про достовірне збільшення (в 1.9 рази) часу плавання порівняно з інтактними тваринами при профілактичному введенні АРІА-1 та тенденцію до збільшення (в 1.4 рази) витривалості — за лікувального режиму введення.

Згідно даним, наведеним у Табл. 5, охолодження протягом 30 хв не спричинило достовірних змін основних показників видільної функції нирок мишей групи контрольної патології. Порівняно з інтактними тваринами достовірно

Таблиця 2

**Вплив АРІА-1 на поведінку мишей у тесті відкритого поля через 20-30 хв після гострого загального охолодження**

Показник	Інтактний контроль (n=15)	Контрольна патологія (n=11)	АРІА-1, 3 мг/кг	
			профілактичний режим (n=7)	лікувальний режим (n=7)
рухова активність: — перетнуто квадратів — вертикальних стійок	31.3±6.1 7.6±1.5	4.0±1.2* 0.4±0.3*	18.4±2.9*# 1.7±0.7*	20.7±6.0# 2.6±1.7*
дослідницька активність (кількість обстежених отворів)	30.1±2.7	5.4±1.8*	9.8±1.7*	10.3±2.7*
емоційні та вегетативні реакції: — грумінг — фекальні болюси — уринації — сума показників	1.1±0.5 0.1±0.1 0 1.3±0.9	0.2±0.2 0 0 0.2±0.2	0.9±0.3# 0 0 0.9±0.3	0.7±0.3 0 0 0.7±0.3
сума всіх активностей	70.0±7.8	10.0±2.6*	30.0±4.7*#	34.3±9.2*#

Примітки:

\* — відмінності достовірні відносно групи інтактного контролю ( $p \leq 0.05$ ),

# — відмінності достовірні відносно групи контрольної патології ( $p \leq 0.05$ ).

Таблиця 3

**Вплив АРІА-1 на м'язовий тонус і координацію рухів у мишей у ранньому відновлювальному періоді після гострого загального охолодження у тесті на стрижні, що обертається, за критерієм падіння (абс. / %)**

Час до падіння зі стрижня	Інтактний контроль (n=15)	Контрольна патологія (n=11)	АРІА-1, 3 мг/кг	
			профілактичний режим (n=7)	лікувальний режим (n=7)
до 30 с	7 (46.7 %)	10 (90.9 %)*	5 (71.4 %)	6 (85.7 %)*
понад 30 с	8 (53.3 %)	1 (9.1 %)*	2 (28.6 %)	1 (14.3 %)*

Примітка.

\* — відмінності достовірні відносно групи інтактного контролю (p ≤ 0.05).

Таблиця 4

**Вплив АРІА-1 на фізичну витривалість мишей у тесті примусового плавання із навантаженням через 2.5 год після гострого загального охолодження**

Час утримування на воді	Інтактний контроль (n=15)	Контрольна патологія (n=11)	АРІА-1, 3 мг/кг	
			профілактичний режим (n=7)	лікувальний режим (n=7)
<i>кількість мишей, які утримались на поверхні води (абс. %)</i>				
до 30 с	0	3 (27.3 %)*	1 (14.3 %)	0
(0.5-1) хв	3 (30 %)	5 (45.5 %)	2 (28.6 %)	3 (42.9 %)
(1-2) хв	7 (70 %)	3 (27.3 %)*	2 (28.6 %)*	2 (28.6 %)*
понад 2 хв	0	0	2 (28.6 %)*#	2 (28.6 %)*#
<i>тривалість плавання</i>				
абсолютний час, с	62.7±4.4	44.1±4.8*	118.4±34.2#	90.7±25.8

Примітки:

\* — відмінності достовірні відносно групи інтактного контролю (p ≤ 0.05);

# — відмінності достовірні відносно групи контрольної патології (p ≤ 0.05).

Таблиця 5

**Вплив АРІА-1 на стан видільної функції нирок протягом (0.5-2.5) год після гострого охолодження у тесті із навантаженням**

Показник	Інтактний контроль (n=8)	Контрольна патологія (n=10)	АРІА-1, 3 мг/кг	
			профілактичний режим (n=7)	лікувальний режим (n=7)
діурез, мл/10 г маси тіла тварини за 2 год	0.26±0.04	0.35±0.04	0.37±0.02*	0.39±0.07*
екскреція креатиніну, мкмоль /10 г маси тіла тварини за 2 год	0.30±0.05	0.34±0.04	0.40±0.08	0.33±0.05
вміст глюкози у сечі, ммоль/л	0.44±0.10	0.37±0.12	0.28±0.08	0.15±0.06*
екскреція глюкози, мкмоль/10 г маси тіла тварини за 2 год	0.11±0.03	0.13±0.04	0.11±0.07	0.06±0.02
вміст білка в сечі, г/л	0.82±0.06	0.62±0.04*	0.74±0.08	0.66±0.07
екскреція білка, мг/10 г маси тіла тварини за 2 год	0.21±0.03	0.22±0.03	0.27±0.03	0.25±0.03
екскреція сечовини, мкмоль/10 г маси тіла тварини за 2 год	23.3±2.05	35.7±4.74	45.5±7.16*	40.5±5.57*

Примітка.

\* — відмінності достовірні відносно інтактного контролю (p ≤ 0.05).

знизився лише рівень білка у сечі, але за рахунок збільшення діурезу (в середньому на 35 %) його екскреція не відрізнялась. Мала місце також слаба тенденція до збільшення екскреції глюкози, креатиніну. Більш суттєво (на 53 %), але недостовірно зростала екскреція сечовини, що може свідчити про посилення катаболічних

процесів із використанням азотистих сполук під час охолодження, оскільки сечовина є кінцевим продуктом азотистого обміну. Порушувалась концентраційна функція нирок, на що вказує інверсія або суттєва зміна кореляції між об'ємом сечі та концентрацією в ній досліджуваних речовин (Табл. 6).



У інтактних тварин існує типовий від'ємний зв'язок [17] між об'ємом сечі та концентрацією в ній креатиніну ( $\rho = -0.22$ ) та особливо сечовини ( $\rho = -0.88$ ). Після гострого охолодження кореляція між діурезом і вмістом креатиніну у сечі набуває аномального додатного характеру ( $\rho = 0.35$ ), кореляція між діурезом і вмістом сечовини — значно слабшає ( $\rho = -0.14$ ). За умов збільшення екскреції сечовини нирки мишей групи модельної патології функціонують у режимі осмотичного діурезу, про що свідчить поява сильного додатного зв'язку між діурезом та екскрецією сечовини, відсутнього у нормі ( $\rho = 0.78$  проти  $\rho = 0.16$  у інтактних тварин).

Застосування АРІА-1 у лікувальному режимі викликало достовірне збільшення діурезу (в 1.5 рази), екскреції сечовини (на 74 %) та зниження концентрації глюкози у сечі (майже у 3 рази) порівняно з інтактними тваринами, спостерігалась тенденція до зниження екскреції глюкози та вмісту білка у сечі. Профілактичне введення АРІА-1 також достовірно збільшувало діурез (на 42 %) та екскрецію сечовини (на 95 %) порівняно з інтактним контролем; спостерігалась тенденція до підвищення екскреції креатиніну, зниження вмісту глюкози та білка у сечі. Ці результати дозволяють припустити, що на тлі блокади інтерлейкінових рецепторів інтенсифікується обмін азотовмісних сполук під впливом загального охолодження та, на відміну від контрольної патології, зростає утилізація глюкози на потреби енергетичного обміну. Наслідками цього можуть бути посилене виведення нирками сечовини та зменшення глюкозурії. Припущення потребує поглибленої експериментальної перевірки. АРІА-1 за обох режимів застосування покращує концентраційну функцію нирок: відновлює від'ємну кореляцію між об'ємом сечі та концентрацією в ній креатиніну, зміцнює від'ємний зв'язок між діурезом і вмістом сечовини у сечі ( $\rho = -0.29$  та  $\rho = -0.36$  проти  $\rho = -0.14$  у групі контрольної патології). Незважаючи на достовірне зростання екскреції сечовини, вона не відіграє вирішальної ролі в механізмі збільшення

діурезу: сильний додатний зв'язок між даними показниками, притаманний групі контрольної патології ( $\rho = 0.78$ ), змінюється на середній додатний на тлі лікувального застосування АРІА-1 ( $\rho = 0.4$ ) і на слабкий від'ємний за профілактичного введення ( $\rho = -0.109$ ), тобто наближається до кореляції у інтактних тварин ( $\rho = 0.16$ ). Це свідчить про покращення функціонального стану ниркових каналців, що потребує подальших досліджень.

Отже, АРІА-1 є потужним фрігопротектором. Його використання може значно покращити результати профілактики та лікування холодової травми (загального охолодження). До механізмів фрігопротекторної дії можуть залучатися як протизапальні, так і нейропротекторні властивості АРІА-1.

#### Висновки

АРІА-1 у дозах 3 мг/кг та 15 мг/кг на моделі гострого загального охолодження мишей достовірно збільшує час виживання порівняно із відомим фрігопротектором кислотою ацетилсаліциловою.

Одноразове лікувальне або профілактичне застосування АРІА-1 у дозі 3 мг/кг при холодовій травмі підвищує пригнічені показники локомоторної, дослідницької активності й емоційності тварин, покращує тонус скелетних м'язів, координацію рухів і фізичну витривалість, стимулює видільну функцію нирок і покращує їхню здатність до концентрування сечі у відновлювальному періоді.

АРІА-1 виявляє виражену фрігопротекторну дію, що обґрунтовує можливість його застосування в якості ефективного засобу профілактики та лікування наслідків холодової травми.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бабийчук Г.А., Шифман М.И. Нейрохимические процессы в центральной нервной системе при гипотермии. — Киев: Наукова думка, 1989. — С. 150.
2. Увеличение продолжительности жизни мышей при острых охлаждениях под воздействием препарата, выделенного из *Laminaria saccharina* / Дрозд С.Ю., Бондаренко С.В., Яснецов В.В., Батраков С.Г., Саканделидзе О.Г., Шашков В.С. // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1991. - № 4. — С. 383-384.
3. Изучение анатомо-диагностических признаков сбора №1 для профилактики и лечения отморожений / Ки-

Таблиця 6

**Порушення концентраційної функції нирок і вплив АРІА-1 на її стан у ранньому відновлювальному періоді після гострого загального охолодження за даними кореляційного аналізу (коефіцієнти рангової кореляції Спірмена)**

Показники, що корелюють	Інтактний контроль (n=8)	Контрольна патологія (n=10)	АРІА-1, 3 мг/кг	
			профілактичний режим (n=7)	лікувальний режим (n=7)
діурез — вміст креатиніну у сечі	-0.22	0.35	-0.36	-0.43
діурез — вміст сечовини у сечі	-0.88	-0.14	-0.29	-0.36
діурез — екскреція сечовини	0.16	0.78	-0.109	0.4

- селева Т.Л., Фролова Л.Н., Алиева А.А., Мельникова Н.Н., Цветаева Е.В., Пинчук Е.О. // Традиционная медицина. — 2009. - № 2 (17). - С. 42-47.
4. Коваленко С.М. Фармакологічне вивчення протизапальної активності антагоніста рецепторів інтерлейкіна-1 (АРИЛ-1): Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Харків, 2009 — 19 с.
5. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. — Минск: «Беларусь», 1982. — С. 73-86.
6. Коптяева Р.Г. Цитокиновый профиль при превентивной терапии отморожений целекоксибом // Аллергология и иммунология. — 2008. - Том 8, №1. — С. 296.
7. Котельников В.П. Отморожения. - М.: Медицина, 1988. - 256 с.
8. Котельников В.П. Нейрогуморальные механизмы адаптации к криотравме / В.П. Котельников, В.Е. Морозов // Вест. Рос. АМН. - 1992. - № 11-12. - С. 51-57.
9. Глубокие отморожения конечностей: комплексный подход к диагностике и лечению / Липатов К.В., Фархат Ф.А., Бородин А.В. и др. // Врач. - 2005. - № 9. - С. 39-41.
10. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: РИА «Новая волна»: Издатель Умеренков, 2008. — 1206 с.
11. Назаренко Н.А. Эффективность нестероидных противовоспалительных средств для профилактики и лечения холодовой травмы (экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... д.мед.н. - Архангельск, 2001. — 38 с.
12. Сбор лекарственных растений «Фитоморозко», обладающий фригопротекторным действием: Н.А. Назаренко, Т.Л. Киселева, А.А. Алиева, М.Ю. Назаренко, А.А. Карпеев (РФ). — № 2336896; Заявл. 30.11.06; Опубл. 27.10.08.
13. Пат. 2072847. Средство для профилактики и лечения отморожений — Опубл. 10.02.1997.
14. Средство из растительного сырья для профилактики и лечения отморожений: Н.А. Назаренко, Т.Л. Киселева, А.А. Алиева, М.Ю. Назаренко (РФ). — № 23426684; Заявл. 26.10.06; Опубл. 20.06.08.
15. Супрун Е.В. Церебро- та кардіопротекторна дія антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на моделі церебральної ішемії у щурів / Е.В. Супрун, С.Ю. Штриголь, О.М. Іщенко // Клінічна фармація. — 2009. - №1, том 13. — С. 59-63.
16. Товчига О.В. Дослідження сечогінної, нефропротекторної, гіпоурикемічної дії яглиці звичайної (*Aegorodium podagraria* L.) як основа для створення лікарських засобів: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Харків, 2009 — 21 с.
17. Штриголь С.Ю. Модуляция фармакологических эффектов при различных солевых режимах. — Харьков: Авиства-ВЛТ, 2007. — 360 с.
18. A pilot study of IL-1 inhibition by anakinra in acute gout / So A., De Smedt T., Revaz S., Tschopp J. // Arthritis Res. Ther. — 2007. — № 9 (2). — R28.
19. Interleukin-1 receptor antagonist (anakinra) treatment in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis or adult onset Still disease: preliminary experience / T. Lequerr , P. Quartier, D. Rosellini et al. // France Annals of the Rheumatic Diseases. — 2008. - № 67. — P. 302-308.

## Резюме

Щекина Е.Г., Штриголь С.Ю., Ищенко А.М.

**Экспериментальное изучение фригопротекторного действия рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 (АРИЛ-1)**

Проведено экспериментальное изучение фригопротекторного действия рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 (АРИЛ-1) на модели острой холодовой травмы. Установлено, что АРИЛ-1 на модели острого общего охлаждения мышцей достоверно увеличивает время выживания по сравнению с известным фригопротектором кислотой ацетилсалициловой. Одноразовое лечебное или профилактическое применение АРИЛ-1 при холодовой травме повышает угнетенные показатели локомоторной, исследовательской активности и эмоциональности животных, улучшает тонус скелетных мышц, координацию движений и физическую выносливость, стимулирует выделительную функцию почек и улучшает их способность к концентрированию мочи в восстановительном периоде. Таким образом, АРИЛ-1 обладает выраженным фригопротекторным действием, что обосновывает возможность его применения в качестве эффективного средства профилактики и лечения последствий холодовой травмы.

## Summary

Schekina E.G., Shtrygol S.Yu., Ischenko A.M.

**Experimental study of frigotread effect of recombinant antagonist of receptors of interleukin-1 (ARIL-1)**

The experimental study of frigotread effect of recombinant antagonist of receptors of interleukin-1 (ARIL-1) at the model of sharp cold system was conducted. It was established that ARIL-1 at the model of sharp general cooling of mice significantly improved the survival time compared with the known frigotread (acetylsalicylic acid). One time medical or preventive use of ARIL-1 at cold injury increases the oppressed indicators of locomotor, research activity and emotional health of animals, improves the tone of skeletal muscles, coordination and physical tolerance, stimulates secretory function of kidneys and improves their ability to concentration of urine during the recovery period. Thus, ARIL-1 has a pronounced frigotread effect, which explains its possibility to be used as an effective means of prevention and treatment consequences of cold injury.

**Щокіна Катерина Геннадіївна.** К.фарм.н. Доцент кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету (НФаУ).

**Штриголь Сергій Юрійович.** Д.мед.н. Професор ІПКСФ НФаУ.

**Іщенко Олександр Митрофанович.** К.х.н. Ст. наук. співр. науково-дослідного інституту особливо чистих біопрепаратів, м. Санкт-Петербург (Росія).

## Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 615.12:658.7

Посилкіна О.В., Горбунова О.Ю.  
Національний фармацевтичний університет

### Впровадження комплексу стандартів логістичного обслуговування клієнтів промислових фармацевтичних підприємств в умовах менеджменту якості

Обґрунтовано необхідність чіткої регламентації процесу логістичного обслуговування клієнтів фармацевтичних підприємств шляхом розробки та впровадження стандартів логістичного обслуговування. Запропоновано комплекс стандартів логістичного обслуговування клієнтів фармацевтичних підприємств в умовах належних фармацевтичних практик.

На етапі переходу до систем менеджменту якості перед керівництвом вітчизняних промислових фармацевтичних підприємств (ПФП) постає необхідність перебудови, удосконалення, стандартизації та регламентації діяльності на всіх рівнях управління у відповідності до міжнародних стандартів якості та вимог належних практик.

У системі менеджменту якості ефективність процесу логістичного обслуговування (ЛО) клієнтів є запорукою збереження якості лікарських засобів (ЛЗ) під час переходу прав власності на запаси готової продукції від виробника до партнера. ЛО клієнтів є зв'язувальною ланкою належних практик — від GMP (Належна виробнича практика) до GDP (Належна практика дистрибуції). Особливого значення набуває актуальність стандартизації процесу ЛО з урахуванням того, що Наказом Міністерства охорони здоров'я України від 04.04.2007 року №162 [15] затверджено програму з розробки та поетапного впровадження фармацевтичних практик GMP, GDP, GLP та GCP, проте вона не включає настанови щодо GSP (Належної практики зберігання).

Отже, існує необхідність розробки та впровадження науково обґрунтованих методів забезпечення дотримання вимог зберігання та транспортування ЛЗ, що мали б регулюватися GSP і частково регламентуються GDP.

Розвитком теоретичних і практичних підходів щодо налагодження обслуговування із застосуванням інструментарію логістики у фармацевтичній галузі займалися такі науковці як Громовик Б.П., Мушко З.М., Посилкіна О.В., Толочко В.М., Дорохова Л.П., Сагайдак-Нікітюк Р.В., Куценко С.А. [2, 14, 20].

Питання побудови ефективних взаємовідносин оптових фармацевтичних фірм із постачальниками ЛЗ та аптеками-замовниками з використанням логістичного підходу були

розглянуті Мнушко З.М., Дороховою Л.П., Куценко С.А. [8].

Питання налагодження обслуговування споживачів аптечної мережі стали об'єктом досліджень вітчизняних науковців та практиків — Громовика Б.П., Гудзенка О.Г., Мнушко З.М., Пестун І.В., Барнатович С.В., Зоріної О. [1, 4, 9]. В їх роботах підкреслюється важливість чіткої регламентації процесу надання послуг в аптечному секторі шляхом застосування стандартів обслуговування.

Аналіз наукових досліджень щодо обслуговування клієнтів у галузі з точки зору формування логістичного фармацевтичного ланцюга виявив недостатність розробок із даного питання саме в ланці «ПФП — клієнт». Питання налагодження ЛО клієнтів згідно з вимогами міжнародних стандартів якості також недостатньо висвітлені.

Метою даної роботи є опрацювання підходу до реінжинірингу процесу ЛО обслуговування клієнтів ПФП шляхом розробки та впровадження стандартів логістичного обслуговування відповідно до вимог належних практик для забезпечення збереження якості готових ЛЗ на етапах їх складування, транспортування та розподілу.

ЛО доцільно розглядати як елемент оптимізації партнерської взаємодії в ланці «ПФП — клієнт» шляхом послідовного виконання функцій та операцій із забезпечення зберігання, транспортування і доставки ЛЗ відповідної якості певному клієнтові, за доступними цінами, у належний термін. У результаті узгодженої, збалансованої взаємодії у межах логістичного ланцюга створюються умови для одержання додаткових переваг кожним із його учасників [12].

Із огляду на те, що міжнародні стандарти якості вимагають чіткої регламентації та документування усіх процесів підприємства, ефективним інструментом формування та розвитку

ЛО клієнтів ПФП є розробка та впровадження стандартів ЛО.

На думку Кулібанової В.В., стандарти обслуговування клієнтів – це організаційно-інструктивні та, частково, методичні документи, які відображають вимоги до організації та технології забезпечення окремих видів робіт, що гарантують високий ступінь задоволеності клієнтів [7].

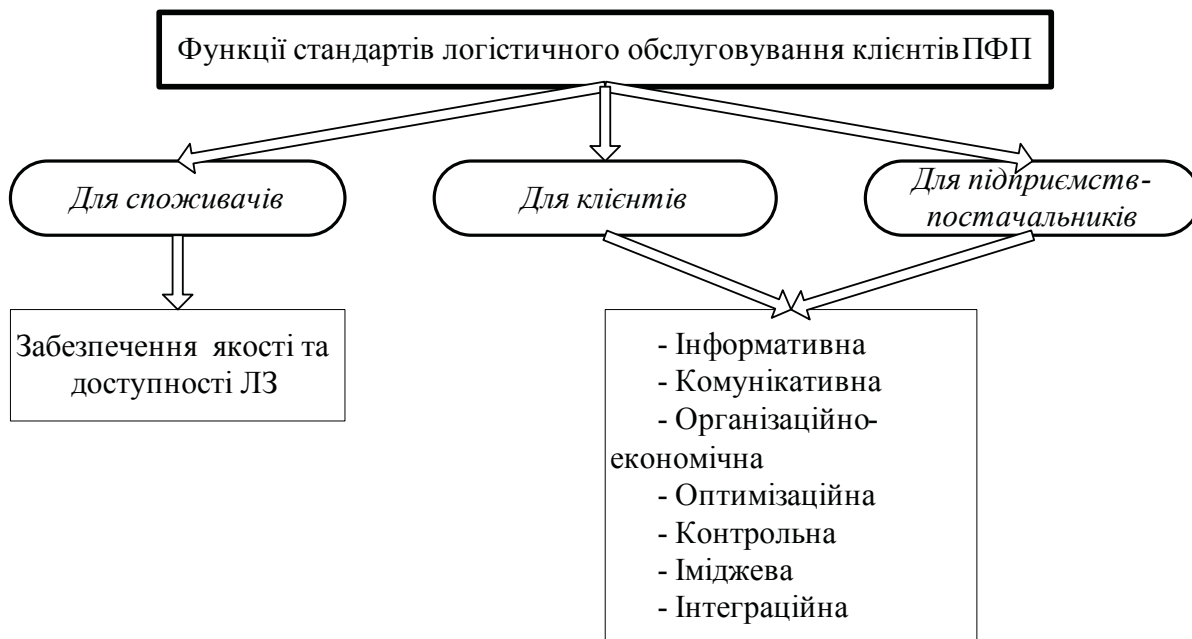
Інший погляд на стандарти обслуговування наведено в роботі [22]: це система аналітичних показників, що визначає правила роботи працівників і ґрунтується на часових критеріях, показниках надійності та показниках, пов'язаних із втратами та пошкодженнями.

На думку авторів, стандарти ЛО клієнтів ПФП – внутрішні керівні документи, що виступають елементом системи менеджменту якості на підприємстві, гарантують збереження належного рівня якості ЛЗ у процесі зберігання, транспортування, розподілу та передачі запасів ЛЗ клієнту, а також отримання можливостей для збільшення комерційних цінностей, що отримує кожна зі сторін завдяки прозорості, гарантованості та чіткості виконання умов договору.

Стандарт обслуговування водночас є і регулятором, і показником результативності управління процесом.

Центральні функції стандартів ЛО клієнтів ПФП із точки зору партнерів і кінцевого споживача зображено на Рис. 1.

Рисунок 1



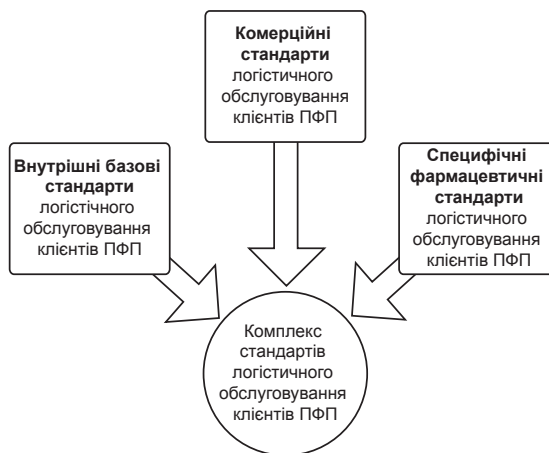
Функції стандартів логістичного обслуговування клієнтів ПФП

Спільність функцій стандартів ЛО для ФП-постачальників і клієнтів ФП підкреслює їх значущість у налагодженні партнерських відносин.

Стандарти ЛО клієнтів ПФП мають бути невід'ємним додатком до договору на поставку між підприємством-виробником і його клієнтом.

Стандарти ЛО клієнтів ПФП доцільно поділити на 3 групи (Рис 2).

Рисунок 2



Склад комплексу стандартів логістичного обслуговування клієнтів ПФП

Внутрішні базові стандарти — загальні керівні документи ПФП, призначені для регламентації порядку організації обслуговування клієнтів у розрізі таких функціональних сфер,

як складування, зберігання, транспортування, передача замовлень ЛЗ в умовах менеджменту якості.

Специфічні фармацевтичні стандарти — керівні документи ПФП щодо обслуговування клієнтів з урахуванням специфічних умов, необхідних для складування, зберігання, транспортування, передачі клієнту окремих груп ЛЗ, що вимагають особливих умов.

Комерційні стандарти — керівні документи ПФП, що встановлюють порядок регламентації фінансово-економічних відносин між ФП-виробником та його клієнтами.

Підґрунтям розробки внутрішніх базових і специфічних фармацевтичних стандартів ЛО клієнтів є:

— Настанова 42-01-2002. Лікарські засоби. Належна практика дистрибуції [10];

Таблиця

**Характеристика внутрішніх базових стандартів логістичного обслуговування клієнтів ФП згідно вимог GDP**

Сфера виконання	Положення GDP	Логістична функція	Складові (вимоги) базового стандарту ЛО
Приміщення та обладнання	Належне складування ЛЗ	Складування	Порядок складування ЛЗ, що потребують особливих умов зберігання; порядок розподілу ЛЗ у відповідності до місць зберігання за лікарськими формами, групами
	Належне зберігання ЛЗ		Порядок підтримання температурних умов зберігання, вологості, чистоти приміщень, забезпечення оборотності складського запасу, утилізація або знищення ЛЗ, термін придатності яких скінчився, порядок проведення контролю якості ЛЗ, призначених для реалізації, що знаходяться на зберіганні.
Поставки замовникам	Належне документування	Збут	Порядок роботи з клієнтською базою, перевірка строку дії ліцензії на оптову або роздрібну торгівлю ЛЗ; документальне супроводження поставки, що дозволяє ідентифікувати дату поставки, назву та лікарську форму ЛЗ, поставлену кількість ЛЗ, назву і адресу постачальника і одержувача.
	Належне транспортування	Транспортування та експедирування	Вибір відповідного виду транспортного засобу; порядок підтримки санітарно-гігієнічного стану транспортного засобу; завантаження та укріплення ЛЗ; порядок транспортування ЛЗ, що вимагають особливих умов; забезпечення можливості ідентифікації ЛЗ, запобігання контамінації, ушкодження, крадіжок, надмірного впливу негативних чинників зовнішнього середовища (світло, температура, вологість, мікроорганізми, паразити).
Належна передача замовнику	Порядок передачі та розвантаження ЛЗ; забезпечення передачі ЛЗ, що потребують особливих умов зберігання.		
Повернення	Належний порядок відкликання	Збут, складування	Порядок повернення ЛЗ, що не мають дефектів; порядок дій у критичних ситуаціях відкликання.
	Належне зберігання		Порядок складування та зберігання ЛЗ, що перебувають на карантині; порядок утилізації ЛЗ.
	Належне документування		Порядок документування процедури відкликання серій ЛЗ; порядок заповнення протоколів повернень; порядок подачі протоколів повернень до компетентних, уповноважених органів.



- Наказ МОЗ України № 44 від 16.03.1993. Інструкція з організації зберігання в аптечних закладах різних груп лікарських засобів і виробів медичного призначення [5];
- Наказ МОЗ України № 349 від 08.07.2004. Про затвердження Правил проведення утилізації та знищення неякісних лікарських засобів [16];
- Наказ МОЗ України № 436 від 30.10.2001. Інструкція про порядок контролю якості лікарських засобів під час оптової та роздрібної торгівлі [6];
- Наказ МОЗ України № 497 від 12.12.2001. Порядок заборони (зупинення) та вилучення з обігу лікарських засобів на території України [11];
- ДСТУ ISO 9004-2-96. Управління якістю та елементи системи якості. Частина 2. Настанови щодо послуг [21];
- ДСТУ ISO 9000: 2007. Системи управління якістю. Основні положення та словник термінів [19];
- ДСТУ ISO 9001-2009. Системи управління якістю. Вимоги [17];
- ДСТУ ISO 9004-2001. Системи управління якістю. Настанови щодо поліпшення діяльності [18];
- ДСТУ ISO 10002:2007. Задоволеність замовників. Настанови щодо розглядання скарг [3].

Внутрішні базові стандарти та специфічні фармацевтичні стандарти ЛО клієнтів ПФП є постійними, недиференційованими за групами клієнтів і призначені гарантувати забезпечення та збереження якості ЛЗ у процесі реалізації.

Основна мета їхньої розробки та впровадження — налагодження системи менеджменту якості на підприємстві. Ці стандарти є обов'язковими для виконання при обслуговуванні всіх клієнтів ФП, що гарантує збереження високої якості ЛЗ і максимально повне задоволення інтересів клієнтів.

Внутрішні базові та специфічні фармацевтичні стандарти ЛО клієнтів ПФП — керівні документи на підставі яких розробляються стандартні операційні процедури (методики).

Формування та впровадження цих стандартів гарантуватиме, що:

- постійно додержуються умови зберігання ЛЗ, включаючи період транспортування;
- виключена контамінація ЛЗ;
- забезпечується необхідний рівень оборотності запасів ЛЗ;
- ЛЗ зберігаються у безпечних умовах, у приміщеннях, що охороняються;
- ефективно налагоджена система відкликання неякісних ЛЗ.

Взаємозв'язок внутрішніх базових стандартів логістичного обслуговування клієнтів ПФП та вимог Належної практики дистрибуції наведено в Таблиці .

Забезпечення збереження якості ЛЗ та належного рівня ЛО клієнтів починається зі складування ЛЗ, що призначені для реалізації, на складі готової продукції виробника.

Вимогами GDP також регулюється безпосередньо процес поставки замовникам та процедура повернення (у разі необхідності).

Специфічні фармацевтичні стандарти ЛО — необхідна умова для забезпечення якості окремих груп ЛЗ, що потребують особливих умов зберігання та транспортування. Наприклад, обов'язковою умовою збереження якості медичних імунобіологічних препаратів є створення «холодових ланцюгів», що гарантують необхідну температуру під час їх доставки до кінцевого споживача.

Комерційні стандарти ЛО гарантують клієнтам задекларований підприємством-постачальником рівень надання диференційованого переліку послуг у процесі безпосередньо обробки та доставки замовлення, що характеризуються часовими показниками, показниками зручності, а також регламентують розмір знижок, форму оплати, можливість відтермінування платежів тощо.

Формування та впровадження комерційних стандартів ЛО клієнтів гарантуватиме дотримання 8 правил логістики:

- необхідні ЛЗ;
- необхідної якості;
- у необхідній кількості;
- у необхідний термін;
- у необхідне місце;
- необхідному клієнтові;
- згідно з індивідуальними вимогами клієнта;
- із мінімальним рівнем витрат.

Якщо базові та специфічні стандарти ЛО клієнтів мають, перш за все, якісне вираження, то комерційні стандарти ґрунтуються на кількісних характеристиках критеріїв.

Відмінність комерційних стандартів полягає у можливості перегляду набору параметрів, критеріїв, та відповідної їх диференціації в залежності від сегменту, до якого потрапив клієнт. Моніторинг і дотримання цих стандартів — один із показників якості ЛО.

Комерційні стандарти ЛО призначені для регулювання комерційної складової партнерських відносин між ПФП і його клієнтами. Як показали проведені дослідження, найбільш доцільними критеріями сегментації клієнтів для

формування комерційних стандартів ЛО, з одного боку, є тривалість партнерських відносин, з іншого — обсяги закупівель, що здійснюється клієнтом (детермінанта більшої зацікавленості підприємства-постачальника).

На підставі проведених досліджень нами запропоновано проводити сегментацію клієнтів за критерієм «Тривалість партнерських відносин» на 3 групи.

Партнерство — одна зі стадій розвитку комунікаційно-інтеграційних процесів між суб'єктами ринку, що досягається через певний проміжок часу спільної роботи через стадію незалежних відносин і характеризується взаємовигідністю [13].

Важливість партнерських відносин підкреслюється ДСТУ ISO 9004-2001 [18]. У положеннях щодо управління ресурсами зазначається, що керівництво повинне налагоджувати відносини із партнерами для сприяння та спрощення обміну інформацією з метою взаємного поліпшення результативності й ефективності процесів, що створюють цінності (корисності). Співпраця з партнерами забезпечує різноманітні можливості для збільшення цінностей (оптимізація кількості партнерів, налагодження двостороннього зв'язку на відповідних рівнях в обох організаціях для сприяння швидкому вирішенню проблем без затримок і суперечок, що призводять до зайвих витрат, залучення партнерів до визначення закупівельних потреб і розроблення спільної стратегії, оцінювання, визнання і винагородження зусиль партнерів).

Період часу, через який підприємства можуть вважатися партнерами дещо різняться для різних галузей промисловості. В умовах фармацевтичного виробництва, з огляду на його соціальну значущість та підвищену відповідальність, функціонування на будь-яких інших засадах, окрім партнерства, неприпустимі. Оскільки тільки завдяки формуванню та розвитку прозорих, стратегічно узгоджених і чітко регламентованих відносин в усіх ланках логістичного фармацевтичного ланцюга можливе створення, забезпечення та збереження якості ЛЗ для кінцевого споживача.

З іншого боку, на підставі АВС-аналізу всі клієнти також повинні поділятися на групи у залежності від обсягу здійснюваних ними закупівель. Після співставлення критеріїв отримуємо матрицю розподілу клієнтів за групами для формування комерційного стандарту (Рис. 3).

Таким чином, отримуємо встановлені та задекларовані підприємством нормативні діапазони значень параметрів стандарту, що мають бути забезпечені клієнтам цієї групи і, у той же

час, відобразатимуть інтереси підприємства-виробника.

Визначення та формування набору параметрів, критеріїв і встановлення нормативних діапазонів значень критеріїв стандарту ЛО за кожним параметром доцільно проводити шляхом: — аналізу очікувань і вимог клієнтів; — діагностики діяльності конкурентів; — оцінки потенціалу логістичної системи підприємства щодо ЛО клієнтів.

Рисунок 3

Критерій		Тривалість партнерських відносин, роки		
		до 1	від 1 до 5	понад 5
Обсяги закупівель клієнта, млн. грн	клієнти групи А			
	клієнти групи В			
	клієнти групи С			

#### Матриця розподілу клієнтів ПФП на групи

#### Висновки

1. ЛО клієнтів ПФП слід розглядати як технологію налагодження партнерських відносин у ланці логістичного фармацевтичного ланцюга «підприємство-виробник — клієнт», що створює умови для збереження якості ЛЗ у всіх ланках цього ланцюга та сприяє отриманню додаткових переваг обома сторонами.

2. Чітка регламентація процесу ЛО клієнтів є однією із невід'ємних умов побудови системи менеджменту якості на ПФП.

3. Розробка та впровадження різних груп стандартів ЛО клієнтів — запорука збереження якості ЛЗ (шляхом дотримання належних умов складування, зберігання, транспортування, розподілу) та доступності ЛЗ (завдяки оптимізації логістичних витрат) для кінцевих споживачів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Барнатович С.В. Дослідження сучасного стану товаропротосування на рівні аптечної мережі та напрямки щодо його удосконалення / С.В. Барнатович, О.П. Гудзенко // Фармацевтичний журнал. — 2007. — № 6. — С. 3–9.
2. Громовик Б.П. Особливості збутової логістики у фармації / Б.П. Громовик // Менеджмент та логістика в системі менеджменту: Тези доп. міжн. наук.-практ. конф. — Львів, 2000. — С. 64–65.
3. Задоволеність замовників. Настанови щодо розглядання скарг в організаціях (ISO 10002:2004, IDT) : ДСТУ ISO 10002:2007. — [Чинний від 2008-01-01]. — К.: Держспоживстандарт України, 2008. — 19 с. — (Національний стандарт України).
4. Зорина О. Стандарти обслуговування: камінь преткновения для провізорів / О. Зорина // Провізор. — 2008. — № 3. — С. 6-9.

5. Інструкція по організації зберігання в аптечних закладах різних груп лікарських засобів і предметів медичного призначення / Наказ МОЗ України № 44 від 16.03.1993. — [електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=2028>
6. Інструкція про порядок контролю якості лікарських засобів під час оптової та роздрібною торгівлі. / Наказ МОЗ України № 436 від 30.10.2001. — [електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=20209>
7. Кулибанова В.В. Маркетинг: сервисная деятельность / В.В. Кулибанова. — СПб.: Питер, 2000. — 240 с.
8. Мнушко З.М. Розвиток логістичного моделювання діяльності оптових фармацевтичних підприємств на фармацевтичному ринку / З.М. Мнушко, С.А. Куценко, Л.П. Дорохова // Фармацевтичний журнал. — 2005. — № 5. — С. 3-7.
9. Мнушко З.Н. Стандарти обслуговування — одна из форм обеспечения качества аптечного сервиса / З.Н. Мнушко, О.П. Абалова, И.В. Пестун // Провизор. — 2005. - № 16. — С. 18-21.
10. Настанова 42-01-2002. Лікарські засоби. Належна практика дистрибуції. — К.: МОЗ України, 2002. — 6 с.
11. Порядок заборони (зупинення) та вилучення з обігу лікарських засобів на території України / Наказ МОЗ України № 497 від 12.12.2001. — [електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=5005>
12. Посилкіна О.В. Актуальність впровадження системи логістичного обслуговування в фармацевтичній галузі / О.В. Посилкіна, О.Ю. Горбунова // Тези доповідей міжнародної науково-практичної конференції «Маркетинг та логістика в системі менеджменту». - Львів: Вид-во нац. ун-ту «Львівська політехніка», 2008. — С 360 — 361.
13. Посилкіна О.В. Актуальність налагодження системи партнерських відносин в логістичному ланцюгу фармацевтичного підприємства // О.В. Посилкіна, О.Ю. Горбунова // Вісник Донецького інституту автомобільного транспорту. — 2009. — № 1. — С. 242 — 245.
14. Посилкіна О.В. Особливості процесу складування матеріальних ресурсів на фармацевтичних підприємствах з урахуванням правил GMP і логістичного підходу: Інформ. лист / О.В. Посилкіна, Р.В. Сагайдак. — К.: — 2002. — 7 с.
15. Про затвердження Положення про Раду з розробки та впровадження належної виробничої (GMP), дистрибуторської (GDP), лабораторної (GLP) та клінічної (GCP) практик та Програми з розробки та поетапного впровадження належних практик / Наказ МОЗ України № 162 від 04.04.2007. — [електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://triton.moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=7764>
16. Про затвердження Правил проведення утилізації та знищення неякісних лікарських засобів / Наказ МОЗ України № 349 від 08.07.2004. — [електронний ресурс]. — Режим доступу до сайту: <http://triton.moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=2654>
17. Системи управління якістю. Вимоги: (ISO 9001: 2009, IDT); ДСТУ ISO 9001:2009. — [На заміну ДСТУ ISO 9001-95, ДСТУ ISO 9002-95, ДСТУ ISO 9003-95, ДСТУ ISO 9001:2001;

- чинний від 2009-09-01]. — К.: Держспоживстандарт України, 2009. — 28 с. — (Національний стандарт України).
18. Системи управління якістю. Настанови щодо поліпшення діяльності (ISO 9004:2000, IDT) : ДСТУ ISO 9004:2001. — [Чинний від 01-10-2001]. — К. : Держстандарт України, 2001. — 44 с. — (Державний стандарт України).
19. Системи управління якістю. Основні положення та словник термінів: (ISO 9000: 2005, IDT); ДСТУ ISO 9000: 2007. — [На заміну ДСТУ ISO 9000:2001; чинний від 2008-01-01]. — К.: Держспоживстандарт України, 2008. — 28 с. (Національний стандарт України).
20. Толочко В.М. Дослідження оптово-постачальницької мережі вітчизняної фармацевтичної галузі / В.М. Толочко, І.А. Кацара // Вісник фармації. — 2002. — № 4. — С. 4-7.
21. Управління якістю та елементи системи якості. Частина 2. Настанови щодо послуг : ДСТУ ISO 9004 — 2 — 96. — [Чинний від 01- 07-1997]. — К.: Держстандарт України, 1997. — 22 с. — (Державний стандарт України).
22. Чухрай Н. Логістичне обслуговування / Н. Чухрай. — Львів : Вид-во нац. ун-ту «Львівська політехніка», 2006. — 292 с.

#### Резюме

Посилкіна О.В., Горбунова О.Ю.

#### **Внедрение комплекса стандартов логистического обслуживания клиентов промышленных фармацевтических предприятий в условиях менеджмента качества**

Обоснована необхідність четкої регламентації процесу логістичного обслуговування клієнтів промислових фармацевтичних підприємств шляхом розробки та впровадження стандартів логістичного обслуговування. Предложено комплекс стандартів логістичного обслуговування клієнтів промислових фармацевтичних підприємств в умовах належних фармацевтичних практик.

#### Summary

Posilkina O.V., Horbunova O.Yu.

#### **Introduction of the complex of standards for logistic service for clients of industrial pharmaceutical manufacturers under the quality management conditions**

The necessity of straight regulation of the process of logistic service for clients of industrial pharmaceutical manufacturers by development and implementation of standards of logistic service was based. The complex of standards of logistic service for clients of pharmaceutical manufacturers under good pharmaceutical practices conditions was proposed.

**Посилкіна Ольга Вікторівна.** Зав. кафедри управління та економіки підприємства (1997). Д.фарм.н. (2003). Професор (2004).

**Горбунова Оксана Юрївна.** Аспірант кафедри управління та економіки підприємства (2008).

Світлична К.С., Посилкіна О.В.  
Національний фармацевтичний університет

## Побудова інтегрованої системи менеджменту на фармацевтичних підприємствах

Запропоновано концептуальну модель інтегрованої системи менеджменту на фармацевтичних підприємствах. Визначено сфери інтеграції стандартів, що впроваджуються. Наведено ідентифікацію та декомпозицію процесів інтегрованої системи менеджменту.

Побудова та впровадження інтегрованої системи менеджменту (ІСМ) є основним напрямом вдосконалення управління підприємством у всьому світі. Об'єктивне підтвердження відповідності існуючої на фармацевтичних підприємствах (ФП) ІСМ вимогам міжнародних стандартів на сьогодні є однією з умов успішного просування на міжнародні ринки, підвищення довіри до підприємства з боку інвесторів, кредитних і страхових компаній завдяки віднесенню його до категорії найменшого ризику.

Під інтегрованою системою менеджменту розуміється система, що відповідає вимогам двох або більше міжнародних стандартів і функціонує як єдине ціле. На думку фахівців, для вітчизняних ФП найбільш доцільним є ІСМ, що відповідає вимогам міжнародного стандарту ISO 9001:2000, галузевих правил GMP, стандарту ISO 14001, OHSAS 18001 та SA 8000 [6, 17].

Впровадження ІСМ на ФП дозволить використовувати єдину методологію для формалізації опису процесів, це, у свою чергу, сприятиме уніфікації менеджменту підприємства, створить основу для ефективного делегування повноважень виконавцям середньої ланки, що дозволить вивільнити час топ-менеджерів для вирішення стратегічних питань ФП.

Метою даної роботи є розробка методики побудови ІСМ на ФП, що передбачає формування концептуальної моделі цієї системи, а також побудову цілісної процесної мережі взаємозв'язаних і взаємозалежних процесів ІСМ з урахуванням вимог стандартів, що впроваджуються.

Початковим етапом побудови ІСМ на ФП є аналіз теоретичних і практичних аспектів розробки та впровадження систем менеджменту у відповідності до стандартів ISO 9001:2000, ISO 14001, OHSAS 18001, SA 8000 і галузевих правил GMP, що є підґрунтям ІСМ. На підставі узагальнення науково-теоретичних публікацій відомих фахівців у галузі якості та практичного досвіду впровадження та розвитку вищезазначених систем менеджменту як на вітчизняних, так і на зарубіжних ФП виділені основні етапи їх впровадження (Рис. 1) [1, 3, 5, 8, 14].

Наступним етапом побудови ІСМ є порівняльний аналіз вимог стандартів, що впроваджуються. Для оцінки можливості інтеграції правил GMP та стандартів ISO 14001, OHSAS 18001, SA 8000 у діючу на деяких вітчизняних ФП систему менеджменту якості у відповідності до стандартів ISO 9001:2000, були встановлені відмінності та подібні елементи у структурах стандартів ДСТУ ISO 9001-2001 [9, 10], ISO 14001:2004 [2], OHSAS 18001 [4] та SA 8000 [15] та правил GMP (Настанова 42-01-2001) [12].

Виходячи із проведеного аналізу можна зробити висновок, що для стандартів ISO 9001-2000, ISO 14001:2004, OHSAS 18001, SA 8000 і правил GMP характерна методологічна й ідеологічна близькість, тобто їх об'єднанню в ІСМ сприяє сумісність низки елементів і вимог до них. Отже, універсальність методології та вимог стандарту ISO 9001:2000 дозволяє без особливих труднощів інтегрувати в існуючу систему менеджменту ФП вищезазначені стандарти.

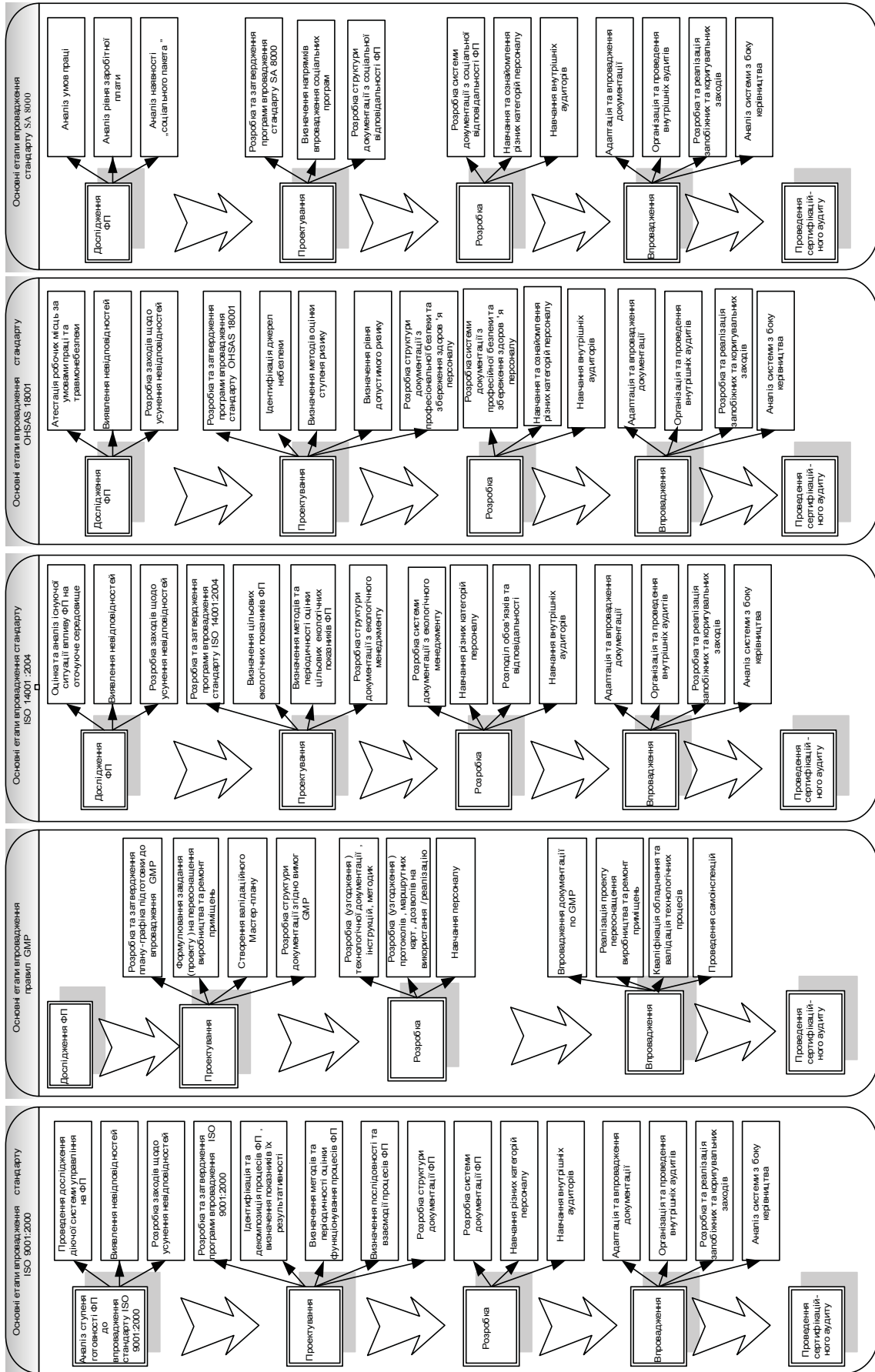
Створення ІСМ на ФП передбачає формування єдиної моделі, що гармонізує вимоги всіх вищезазначених стандартів менеджменту. При цьому організаційно-методичною платформою цієї моделі мають бути стандарти ISO серії 9000. Подібний підхід визнається багатьма фахівцями з менеджменту, зокрема членами Міжнародної Академії Якості [5, 7, 8, 14]. Це обумовлено тим, що базові поняття та принципи, сформульовані у цих стандартах, у найбільшій мірі відповідають поняттям і принципам загального менеджменту. При цьому особливу значущість представляє процесний підхід, що безпосередньо відображає реальні процеси підприємства.

Схема запропонованої концептуальної моделі ІСМ, яка дозволяє органічно об'єднати систему менеджменту, що побудована згідно з вимогами ДСТУ ISO 9001-2001, із системою Належної виробничої практики (GMP) та системами менеджменту згідно зі стандартами ДСТУ ISO 14001:2006, OHSAS 18001:2007, SA8000:2001, наведена на Рис. 2.

Наведена концептуальна модель побудована на підставі процесного підходу, передбаченого



Рисунок 1



Основні етапи впровадження систем менеджменту у відповідності до стандартів ISO 9001:2000, ISO 14001, OHSAS 18001, SA 8000 і галузевих правил GMP



системою менеджменту якості згідно із ДСТУ, ISO 9001-2001, та відбиває усі специфічні вимоги інших стандартів, що інтегруються.

Ця модель дозволяє мінімізувати обсяги споживання ресурсів (людських, часових, матеріальних тощо), які використовуються в умовах розробки, впровадження, сертифікації ICM та її подальшого функціонування та розвитку на ФП.

За допомогою розробленої моделі та із використанням адитивного механізму побудови ICM, що обумовлює принцип додавання елементів, визначено сфери інтеграції впроваджуваних стандартів (Рис. 3).

У результаті було визначено 11 сфер інтеграції: управління якістю, документація, відповідальність керівництва, інфраструктура, виробниче середовище, людські ресурси, закупівлі, виробництво, моніторинг і вимірювання продукції, моніторинг і вимірювання процесів, аналізування та поліпшення.

Наступним завданням проектування ICM є етап ідентифікації й інтеграції процесів ФП з урахуванням вимог стандартів ISO 9001-2000, ISO 14001:2004, OHSAS 18001, SA 8000 та правил GMP із подальшим встановленням послідовності та взаємодії ідентифікованих процесів.

Рисунок 2

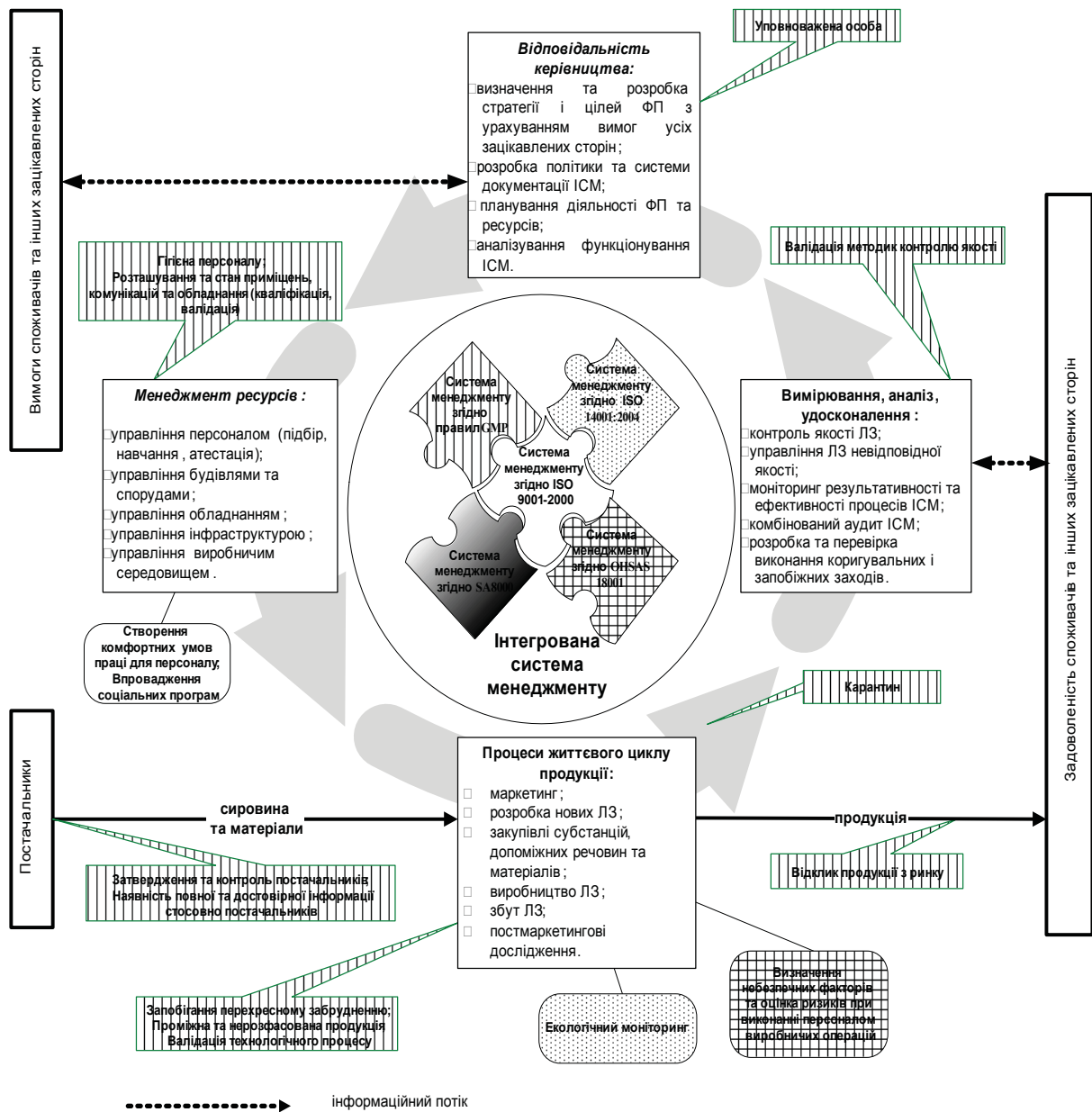


Схема запропонованої концептуальної моделі ICM на ФП

На підставі специфічних вимог правил GMP і стандартів ISO 14001:2004, OHSAS 18001, SA 8000, яких необхідно дотримуватися в умовах побудови ICM на ФП, а також на підставі виявлених сфер інтеграції та із врахуванням існуючих процесних моделей провідних вітчизняних ФП було визначено необхідний перелік процесів ICM на ФП (Рис. 4).

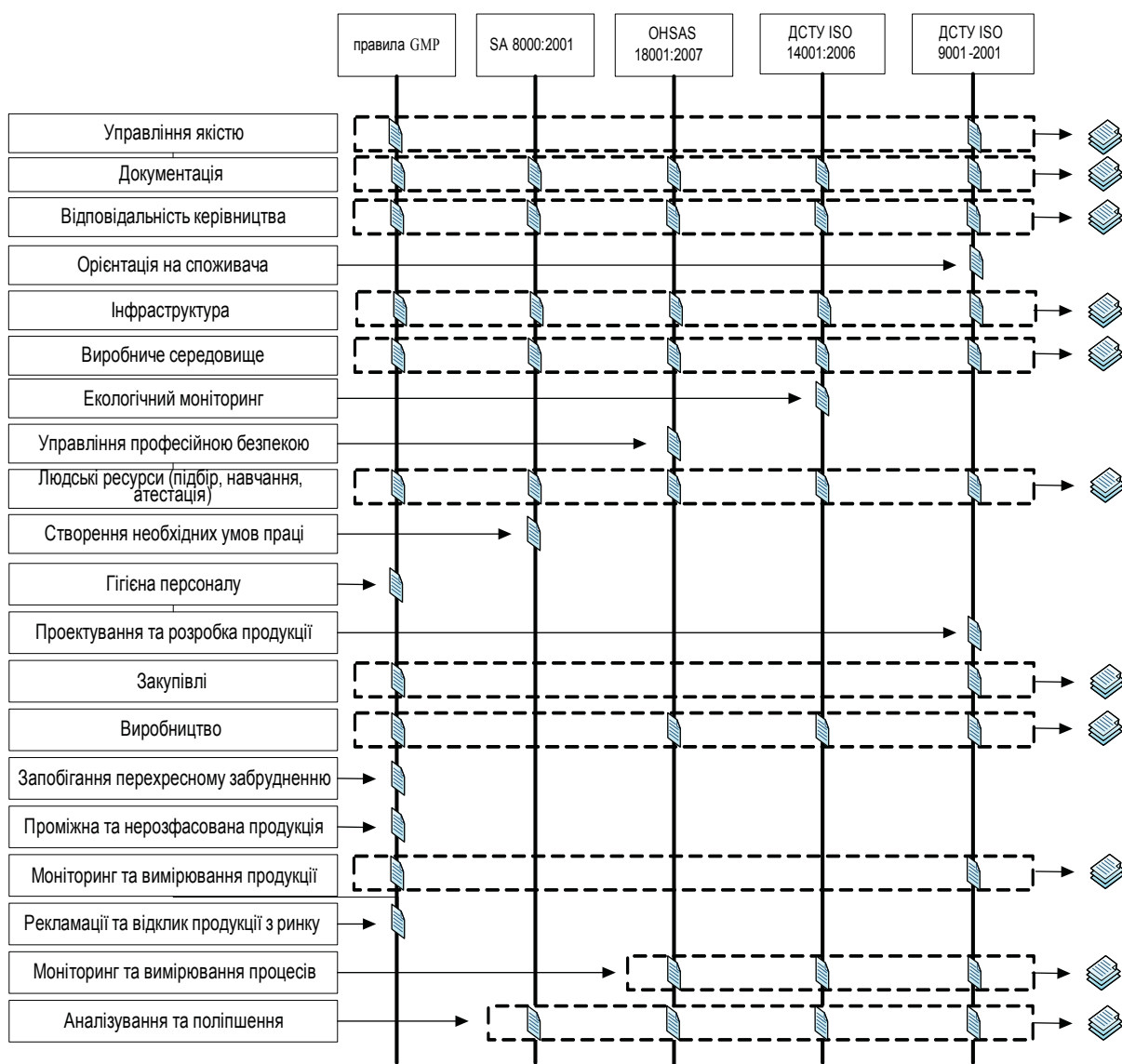
На підставі детального вивчення настанов з якості процесів на досліджуваних ФП для процесів, що підлягають перегляду (Рис. 4), було проведено їхню поетапну декомпозицію з урахуванням вимог правил GMP і стандартів ISO 14001:2004, OHSAS 18001, SA 8000.

Правила GMP встановлюють більш жорсткі вимоги до виробництва продукції, що потрібно врахувати при декомпозиції процесу «Управ-

ління виробництвом» в ICM. Внаслідок цього даний процес має бути доповнений такими підпроцесами (субпроцесами): «Валідація технологічного процесу», «Запобігання перехресному забрудненню», «Управління проміжною та нерозфасованою продукцією», «Упаковка». Наявність цих підпроцесів забезпечить дотримання специфічних вимог, що висуваються правилами GMP до процесу «Управління виробництвом». На Рис. 5 наведено запроповану декомпозицію процесу «Управління виробництвом».

Правила GMP через свою специфіку дуже детально описують, яким чином на ФП необхідно організувати контроль якості лікарських засобів (ЛЗ) і встановлюють обов'язкові вимоги, яких необхідно дотримуватися при проведенні контролю якості.

Рисунок 3



Сфери інтеграції стандартів, що впроваджуються, для побудови ICM на ФП

Даний процес має бути більш деталізований і складатися із таких підпроцесів (Рис. 6): «Карантин», «Валідація методик контролю якості», «Відбір проб», «Проведення випробувань», «Управління сировиною, матеріалами та готовими ЛЗ невідповідної якості».

Процес «Управління персоналом», що діє у функціонуючих системах менеджменту згідно із ДСТУ ISO 9001-2001, потребує перегляду через наявність у галузевих правилах вимог щодо стану здоров'я, дотримання гігієни, порядку носіння одягу та допуску персоналу у виробничі приміщення та зони контролю якості. У зв'язку із цим процес «Управління персоналом» необхідно доповнити підпроцесом «Гігієна персоналу» (Рис. 7).

Крім цього, у даному процесі мають передбачатися вимоги стандарту «Соціальна відповідальність» SA 8000, що можливо завдяки його більш детальній декомпозиції на підпроцеси «Створення необхідних умов праці» та «Роз-

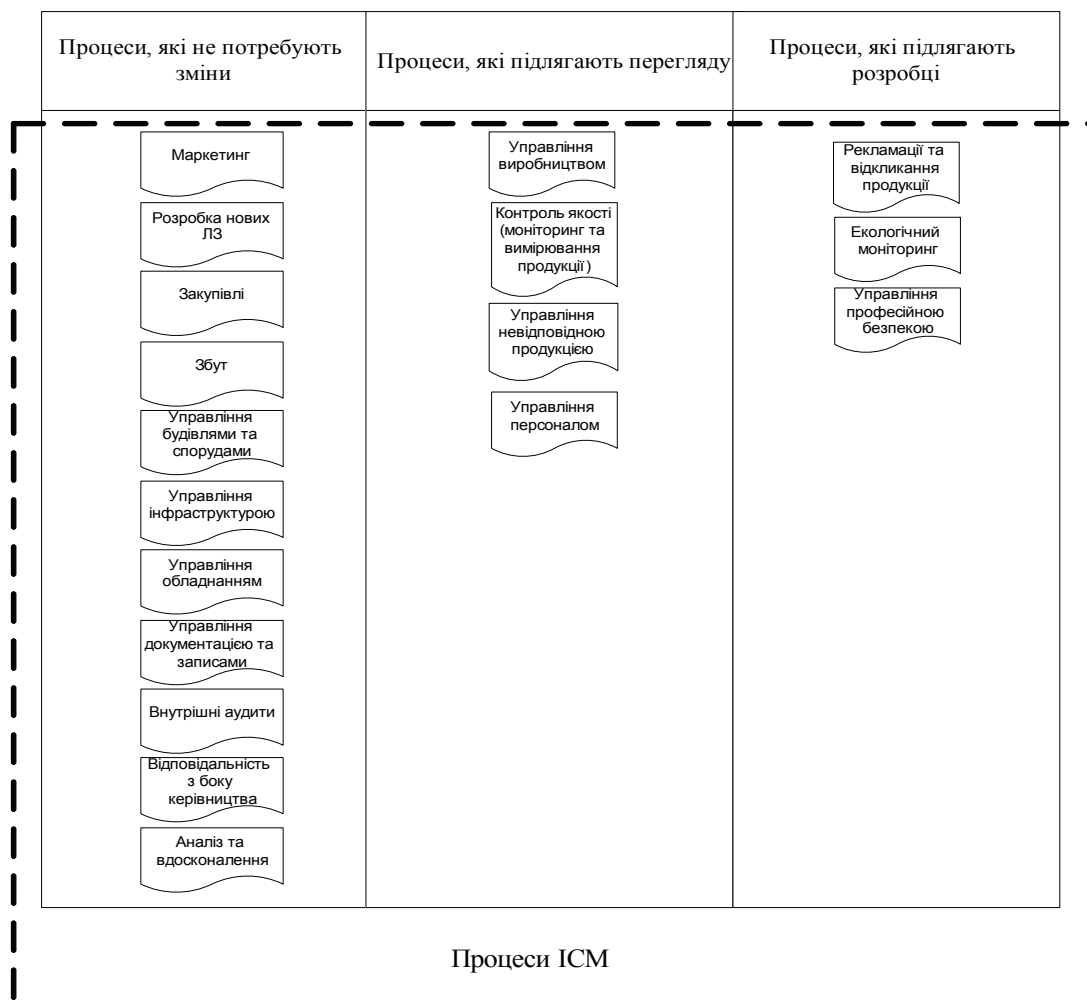
робка та впровадження соціальних програм» (Рис. 7).

Слід зазначити, що, враховуючи можливу потенційну небезпеку неякісних (субстандартних) ЛЗ, правилами GMP приділяється особлива увага діям в умовах отримання рекламаций із подальшим відкликанням продукції з ринку. У зв'язку з цим потребує розробки процес «Рекламації та відкликання продукції», що має включати підпроцеси «Розслідування рекламаций» і «Відкликання ЛЗ з ринку» (Рис. 8).

Для дотримання вимог ДСТУ ISO 14001-2006 щодо екологічних аспектів діяльності ФП необхідним є розробка процесу «Екологічний моніторинг». Даний процес передбачає декомпозицію на два підпроцеси: «Ідентифікація та ранжування екологічних аспектів» та «Управління аварійними ситуаціями» (Рис. 9).

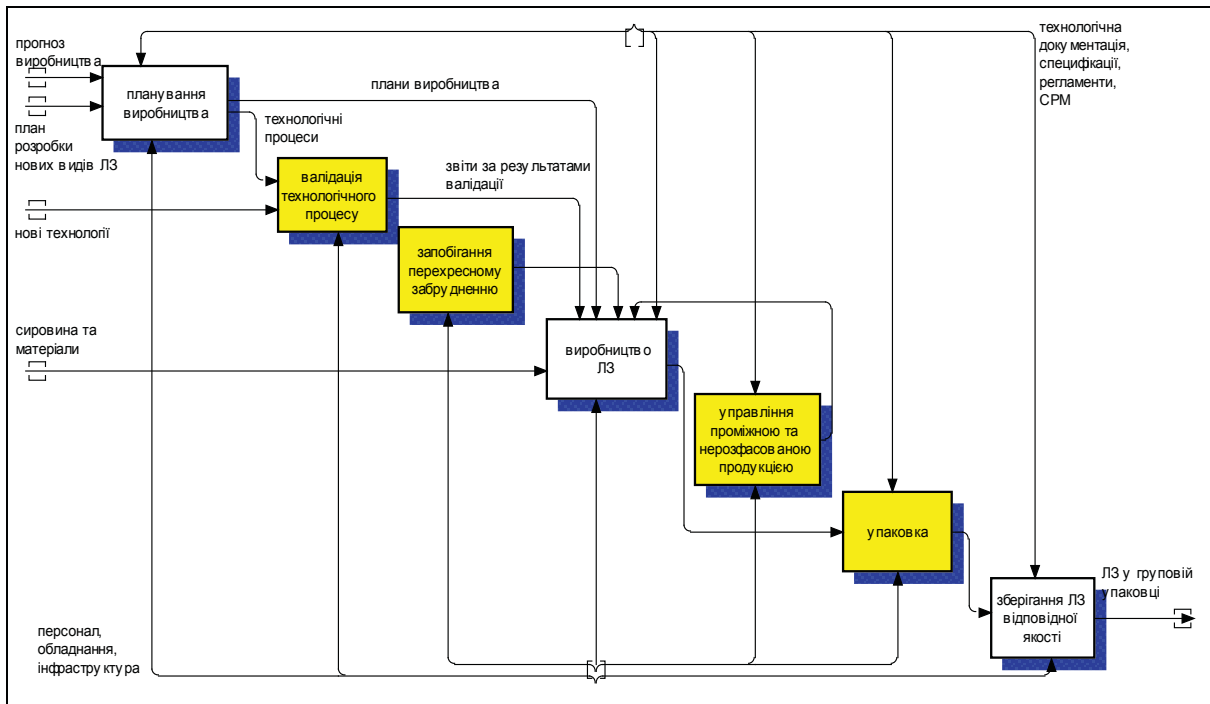
У свою чергу, стандарт OHSAS 18001 висуває вимоги щодо безпеки та охорони праці персоналу. За цих умов у межах ІСМ на ФП має бу-

Рисунок 4



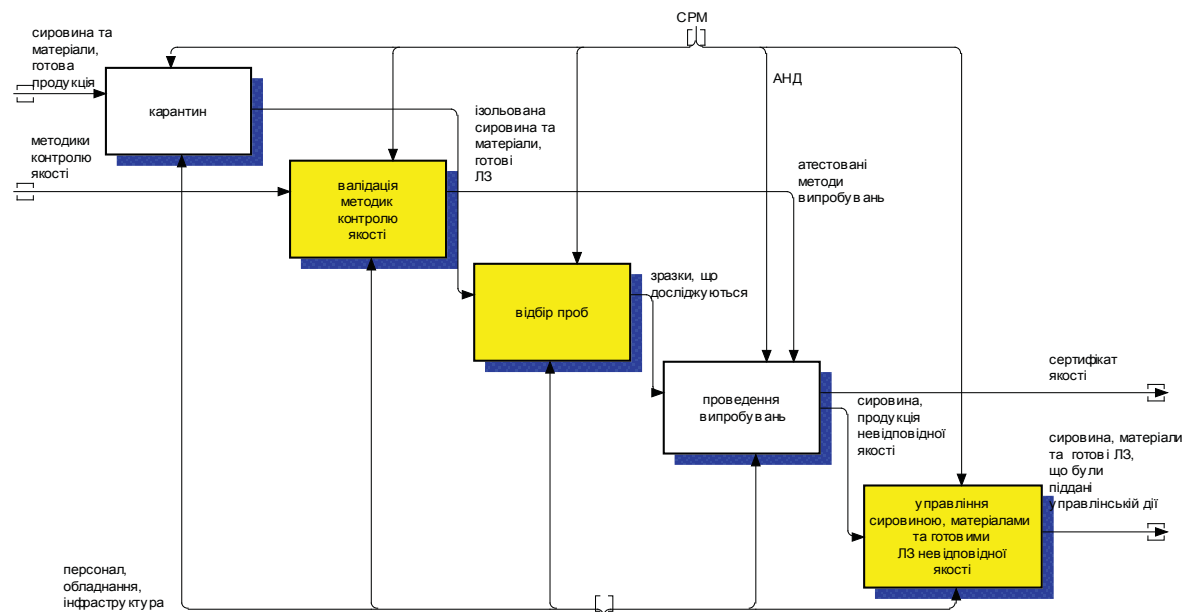
Формування складу процесів ІСМ на ФП

Рисунок 5



Декомпозиція процесу «Управління виробництвом»

Рисунок 6



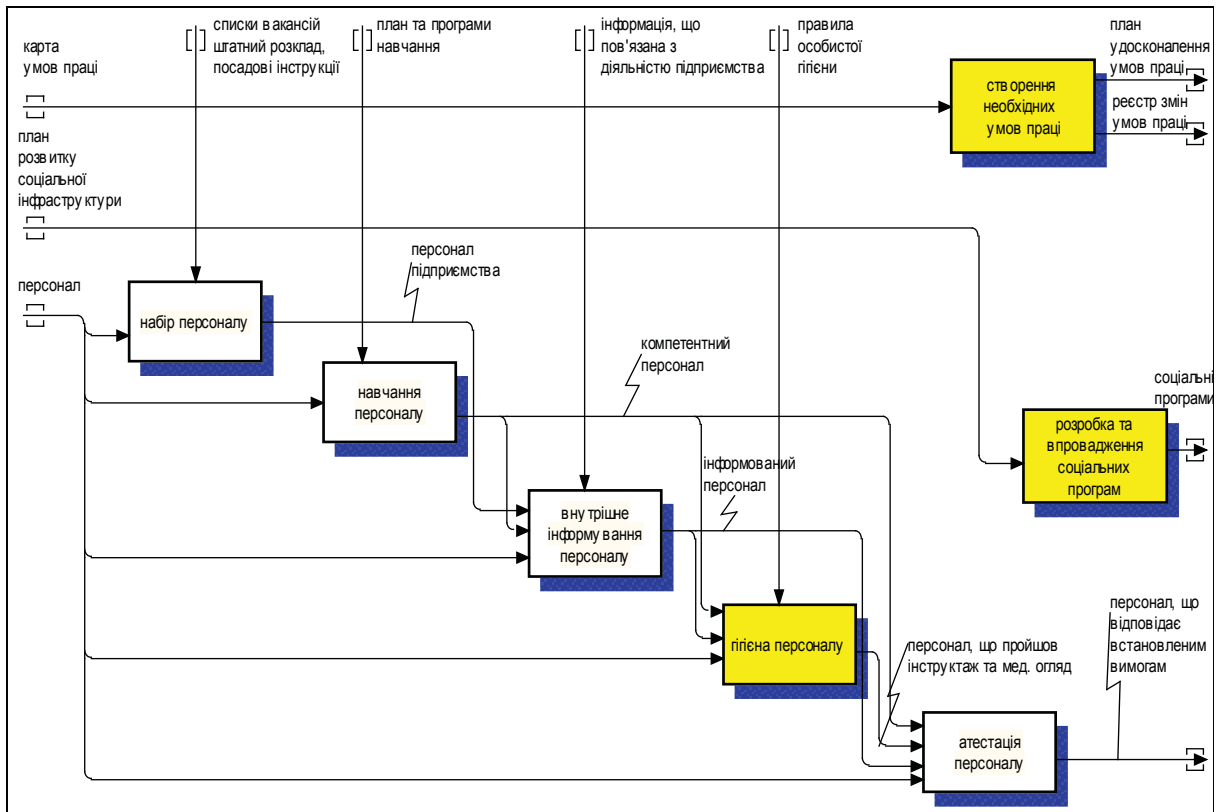
Декомпозиція процесу «Контроль якості та управління сировиною/продукцією невідповідної якості»

ти ідентифікований процес «Управління професійною безпекою», для якого, у свою чергу, необхідно провести декомпозицію за трьома підпроцесами: «Ідентифікація небезпек і визначення ризиків», «Розслідування нещасних випадків» і «Забезпечення охорони праці та здоров'я персоналу» (Рис. 10).

**Висновки**

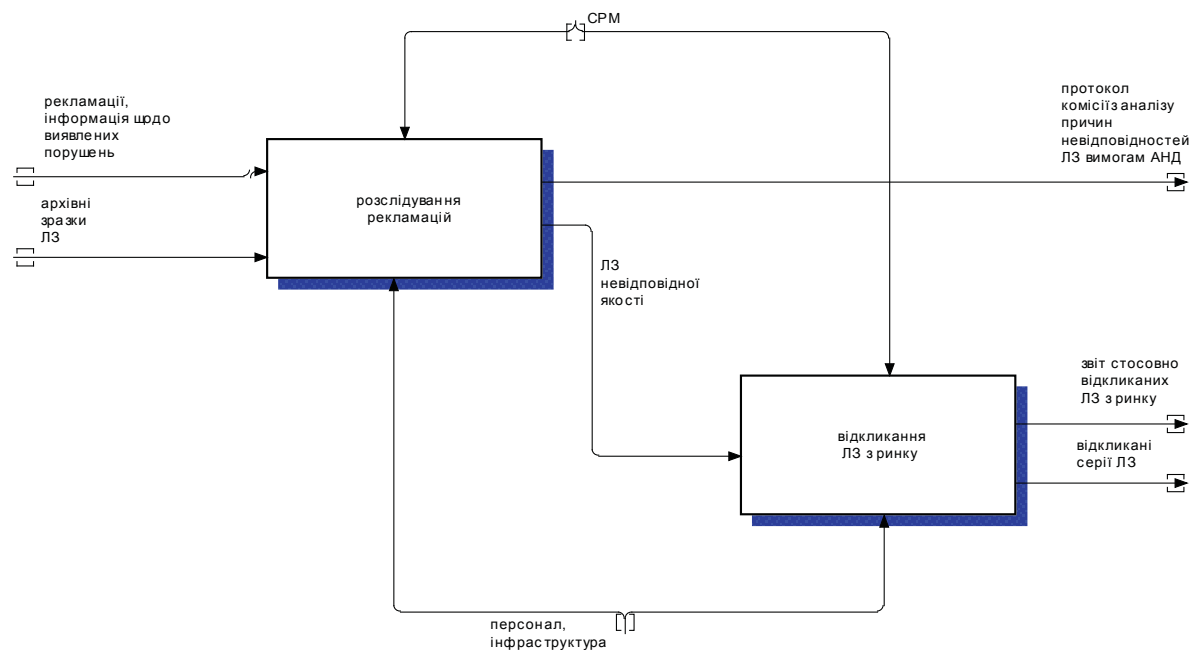
На підставі дослідження процесних моделей провідних ФП і запропонованої інтеграції процесів та підпроцесів з'являється можливість створення єдиної мережі системоутворюючих процесів, що мають функціонувати в ІСМ. Регламентоване управління цими процесами за-

Рисунок 7



Декомпозиція процесу «Управління персоналом»

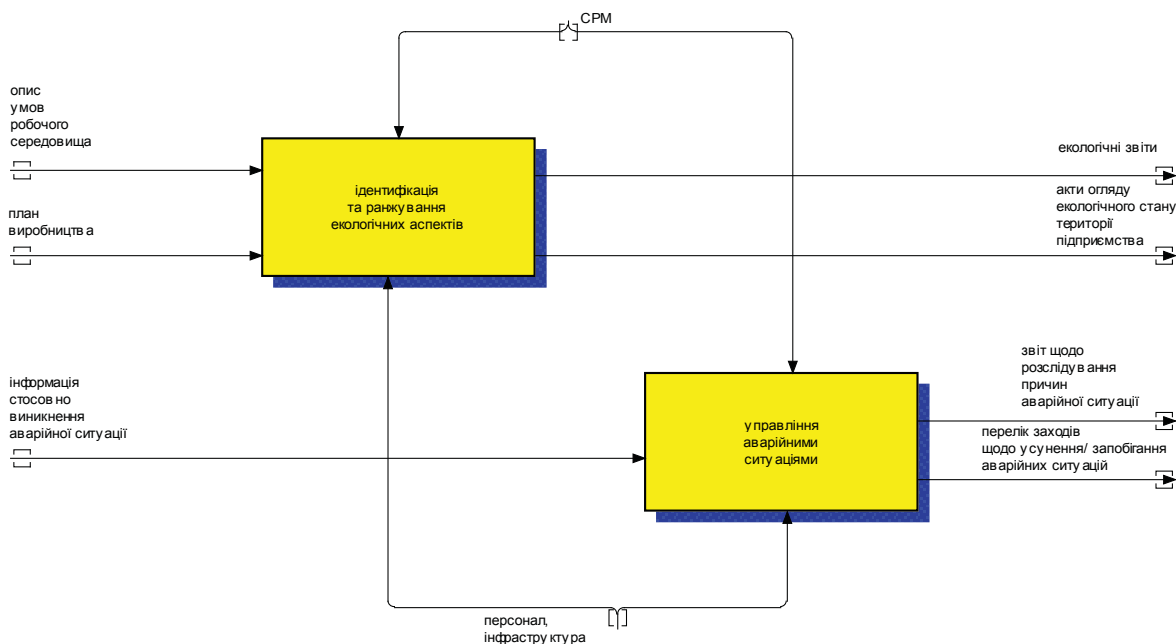
Рисунок 8



Декомпозиція процесу «Рекламації та відкликання продукції»

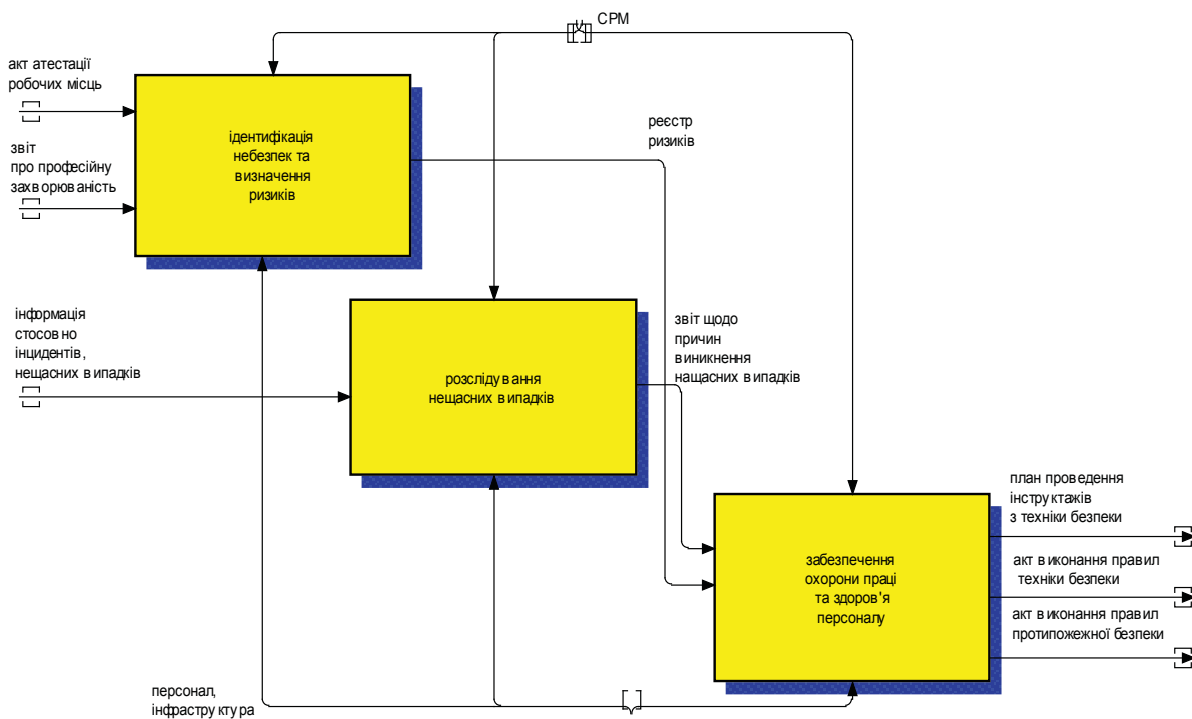


Рисунок 9



Декомпозиція процесу «Екологічний моніторинг»

Рисунок 10



Декомпозиція процесу «Управління професійною безпекою»

безпечить ефективне та результативне управління ІСМ на ФП, сприятиме економії фінансових, часових і трудових ресурсів, пов'язаних із побудовою цієї системи, що є важливою умовою збереження доступного рівня цін на ЛЗ вітчизняного виробництва.

ЛІТЕРАТУРА

1. Chris Bamber. The role of the maintenance organization in an integrated management system / Chris Bamber, John Sharp, Mick Hides // Managerial Auditing Journal. - 2002. – Vol. 17, № 1/2. - P. 20-25.
2. ISO 14001-2004. Международный стандарт. Системы экологического менеджмента. Требования с руководством по использованию: Пер. с англ. - 23 с.

3. Madsen Eric L. Integrating quality, environmental, safety and health training / Eric L. Madsen // ASQ. - 2000. - Vol. 54. - P. 126-134.
4. OHSAS 18001:1999. Международный стандарт. Система оценки профессиональной безопасности и здоровья. — BSI 04-1999. — 23 с.
5. Schweickart S. Integrating quality management into business management / S. Schweickart, H. D. Seghezzi // 44<sup>th</sup> European Quality Congress Proceedings. - Budapest, 2000. - Vol. 1. - P. 141-146.
6. Александров А.В. Построение интегрированных систем менеджмента фармпредприятия (2 часть) / А.В. Александров, Н.В. Людина, В.Д. Барабанова // Ремедиум. — 2008. - №1. — С. 61-65.
7. Александров С.Л. Политика в области качества в аспекте целей заинтересованных сторон организации / С.Л. Александров // Методы менеджмента качества. - 2006. - № 1. - С. 21-26.
8. Гусев Т.В. Интеграция как закономерный этап развития систем менеджмента / Т.В. Гусев // Менеджмент в России и за рубежом. - 2003. - № 5. - С. 75-86.
9. ДСТУ ISO 9000-2001. Системи управління якістю. Основні положення та словник. — К.: Держстандарт України, 2001. — 28 с.
10. ДСТУ ISO 9001-2001. Системи управління якістю. Вимоги. — К.: Держстандарт України, 2001. — 24 с.
11. Левашов И.Г. Надлежащие практики в фармации: Учебник / И.Г. Левашов, А.Н. Мурашко, Ю.В. Подпужников. — К.: МОРИОН, 2006. — 256 с.
12. Лікарські засоби. Належна виробнича практика: Наставна 42-01-2001. - К.: МОЗ України, 2001. — 82 с.
13. Малинин Т.А. Трансформирование системы менеджмента качества в системы менеджмента предприятия / Т.А. Малинин, Е.Т. Зуев, Г.С. Фомин // Пищевая промышленность. - 2003. - № 4. - С. 45.
14. Ситниченко В. М. Интегрированная система менеджмента - основа устойчивого развития предприятия / В.М. Ситниченко, Е.А. Стоякин // Методы менеджмента качества. - 2004. - № 8. - С. 4-8.
15. Социальная ответственность 8000 (SA 8000:1997. Международный стандарт): Пер. с англ. — К.: УАК, 2002. — 10 с.
16. Телина М.В. Интегрированная система менеджмента - инструмент достижения целей / М.В. Телина // Стандарты и качество. - 2006. - № 9. - С. 84-86.
17. Яремчук О.А. Актуальность внедрения интегрированных систем менеджмента на фармацевтических предприятиях / О.А. Яремчук, А.В. Александров // Ремедиум. — 2007. - № 1. — С. 20-24.

#### Резюме

Светличная К.С., Посылкина О.В.

#### Построение интегрированной системы менеджмента на фармацевтических предприятиях

Предложена концептуальная модель интегрированной системы менеджмента на фармацевтических предприятиях. Определены сферы интеграции внедряемых стандартов. Представлена идентификация и декомпозиция процессов интегрированной системы менеджмента.

#### Summary

Svitlichna K.S., Posilkina O.V.

#### Development of integrated management system of pharmaceutical manufacturers

Concept model of integrated management system of pharmaceutical manufacturers has been presented. Fields of implemented standards integration have been defined. The identification and the decomposition of processes of management integrated system have been given.

**Світлична Каріна Станіславівна.** Закінчила національну фармацевтичну академію України (2001). Викладач кафедри управління та економіки підприємства (2004).

**Посилкіна Ольга Вікторівна.** Зав. кафедри управління та економіки підприємства (1997). Д.фарм.н. (2003). Професор (2004).