

## Зміст

<b><u>Наші ювіляри</u></b>	
До 70 – річчя від дня народження Литвиненка В. І. ....	4
<b><u>До запровадження Державної Фармакопеї України</u></b>	
<i>Гризогуб О.І., Леонтєв Д.А., Доценко Т.М., Денисенко Н.В.</i>	
Метрологічні аспекти офіційних методик контролю якості лікарських засобів. 3.	
Виконання тесту "Кількісне визначення" за одночасного контролю якості декількох зразків лікарських засобів хроматографічними методами .....	6
<b><u>До видання Доповнення до Державної Фармакопеї України</u></b>	
Метилцелюлоза .....	15
<b><u>Міжнародні конгреси, семінари, виставки</u></b>	
Лабораторні тварини – можливі альтернативи в експериментальній фармакології .....	17
<b><u>Проблеми. Пошук. Рішення.</u></b>	
<i>Жемерова К.Г., Деркач Н.З., Дунай О.В., Літкевич С. О.,</i>	
<i>Мирошніченко А.П., Шермухамедова О.Г., Подгубна Т.Л.</i>	
Вивчення придатності методу мембранної фільтрації з використанням передфільтра для контролю мікробіологічної чистоти нестерильних лікарських засобів .....	22
<b><u>Фітохімічні дослідження</u></b>	
<i>Амосов О.С., Литвиненко В.І.</i>	
Природні тритерпенові сполуки родів <i>Glycyrrhiza</i> L. і <i>Meristotropis</i> Fisch. et Mey. (огляд) .....	30
<b><u>Синтез та вивчення фармакологічної дії</u></b>	
<i>Мерзлікін С.І., Полторак В.В., Гладких О.І.</i>	
Синтез та цукрознижуюча активність похідних діакамфу – нового фармакологічного засобу .....	48
<b><u>Готові лікарські засоби</u></b>	
<i>Козлова Н.Г., Носальська Т.М., Замараєва О.Є., Романова Я.Ю., Долейко Н.В., Горбач Т.В.</i>	
Супозиторії з етамбутолом – нова лікарська форма на основі етамбутолу для лікування туберкульозу .....	52
<i>Зайцев О.І., Пашнев П.Д., Глаух Є.В.</i>	
Розробка складу та технології таблетованої форми на основі лікарської субстанції Цеоліт .....	56
<b><u>Аналіз</u></b>	
<i>Куліков А.Ю., Верушкін О.Г.</i>	
Високоєфективна рідинна хроматографія у фармацевтичному аналізі. Повідомлення 2.	
До питання про припустимі зміни у хроматографічній системі .....	59
<i>Назарова О.С.</i>	
Розробка методів аналізу деяких протизапальних лікарських препаратів на гелевій основі .....	69
<i>Топчієва Ш.А.</i>	
Хроматографічні та спектральні характеристики змінної отрути, білків та продуктів їх метаболізму .....	75
<b><u>Маркетингові дослідження</u></b>	
<i>Півень О.П., Рудик З.С., Нестеренко Л.Л., Тихомирова О.В.</i>	
Препарати блокаторів ангіотензинових рецепторів: стан та перспективи розширення українського ринку .....	81
<b><u>Організація діяльності фармацевтичних підприємств</u></b>	
<i>Посилкіна О. В.</i>	
Методика комплексної оцінки інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств .....	86
<b><u>Аналітичний огляд</u></b>	
<i>Андрюкова Л.М., Кузнєцова К.М., Фетисова О.Г., Сігенко Л.М.</i>	
Назальні препарати: стан і перспективи .....	91
<i>Андрюкова Л.М., Сігенко Л.М., Фетисова О.Г., Кузнєцова К.М., Красічкова О.А.</i>	
Контактні лінзи та засоби догляду за ними .....	96

## Содержание

**Наши юбиляры**

К 70 — летию со дня рождения Литвиненко В. И. .... 4

**К введению в действие Государственной Фармакопеи Украины**

*Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Доценко Т.Н., Денисенко Н.В.*

Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств.  
3. Выполнение теста «Количественное определение» при одновременном контроле качества  
нескольких образцов лекарственных средств хроматографическими методами ..... 6

**К изданию Дополнения к Государственной Фармакопее Украины**

Метилцелюлоза ..... 15

**Международные конгрессы, семинары, выставки**

Лабораторные животные — возможные альтернативы в экспериментальной фармакологии ..... 17

**Проблемы. Поиск. Решения.**

*Жемерова Е.Г., Деркач Н.З., Дунай Е.В., Литкевич С.А.,  
Мирошниченко А.П., Шермухамедова О.Г., Поддубная Т.Л.*

Изучение пригодности метода мембранной фильтрации с использованием префильтра  
для контроля микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств ..... 22

**Фитохимические исследования**

*Аммосов А.С., Литвиненко В.И.*

Природные тритерпеновые соединения родов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. et Mey. (обзор) .... 30

**Синтез и изучение фармакологических свойств**

*Мерзликин С.И., Полторак В.В., Гладких А.И.*

Синтез и сахароснижающая активность производных диакамафа —  
нового фармакологического средства ..... 48

**Готовые лекарственные средства**

*Козлова Н.Г., Носальская Т.Н., Замараева Е.Е., Романова Я.Ю., Долейко Н.В., Горбач Т.В.*

Суппозитории с этамбутолом — новая лекарственная форма  
на основе этамбутола для лечения туберкулеза ..... 52

*Зайцев А.И., Пашнев П.Д., Глазух Е.В.*

Разработка состава и технологии таблеточной формы на основе  
лекарственной субстанции Цеолит ..... 56

**Анализ**

*Куликов А.Ю., Верушкин А.Г.*

Высокоэффективная жидкостная хроматография в фармацевтическом анализе.  
Сообщение 2. К вопросу о допустимых изменениях в хроматографической системе ..... 59

*Назарова Е.С.*

Разработка методов анализа некоторых противовоспалительных лекарственных  
препаратов на гелевой основе ..... 69

*Топчиева Ш.А.*

Хроматографические и спектральные характеристики змеиного яда,  
белков и продуктов их метаболизма ..... 75

**Маркетинговые исследования**

*Пивень Е.П., Рудык З.С., Нестеренко Л.Л., Тихомирова Е.В.*

Блокаторы ангиотензиновых рецепторов: состояние и перспективы  
расширения украинского рынка ..... 81

**Организация деятельности фармацевтических предприятий**

*Посылкина О.В.*

Методика комплексной оценки инвестиционной привлекательности  
фармацевтических предприятий ..... 86

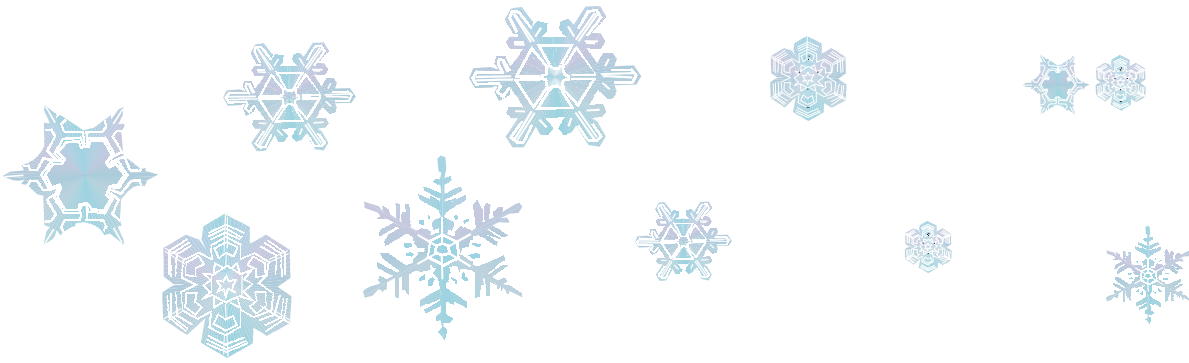
**Аналитический обзор**

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

Назальные препараты: состояние и перспективы ..... 91

*Андрюкова Л.Н., Сиденко Л.Н., Фетисова Е.Г., Кузнецова Е.Н., Красичкова Е.А.*

Контактные линзы и средства ухода за ними ..... 96



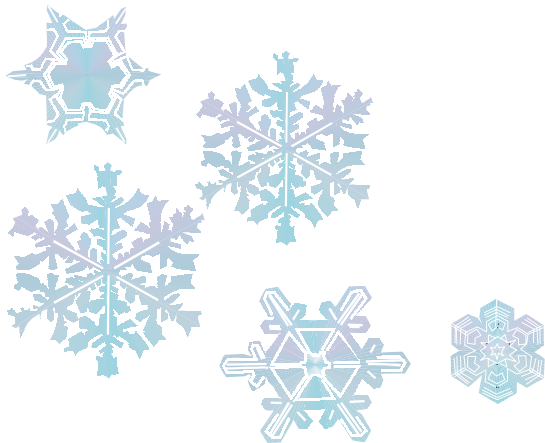
*Щиро вітаємо із Новим 2003 роком!*

*Нехай він буде щасливим і радісним!*

*Бажаємо нашим авторам і читачам нових наукових злетів, творчої наснаги, здійснення усіх планів і задумів!*

*Міцного Вам здоров'я, благополуччя, миру та взаєморозуміння!*

*Редакція журналу*



## Наші ювіляри

### 5 декабря 2002 года исполнилось 70 лет со дня рождения Литвиненко Василия Ивановича



Литвиненко В. И. в 1959 году окончил Харьковский фармацевтический институт, с 1958 года работает в Государственном научном центре лекарственных средств, г. Харьков (ХНИХФИ, ВНИИХТЛС, ГНЦЛС).

За время работы в ГНЦЛС прошел путь от аппаратчика, химика, младшего научного сотрудника, старшего научного сотрудника до заведующего лабораторией (ныне сектора) химии и технологии фенольных препаратов.

В 1964 году В.И. Литвиненко защитил кандидатскую, в 1990 году - докторскую диссертацию. В 1991 году ему присвоено звание профессора, в 2000 году он избран академиком Инженерной академии Украины.

За период работы в ГНЦЛС опубликовал 600 научных работ. Научные разработки защищены 60 патентами России и Украины.

Под руководством В.И. Литвиненко защищено 35 кандидатских и 13 докторских диссертаций.

Награжден медалью «Ветеран труда». Заслуженный изобретатель СССР.

"Литвиненко Василий Иванович - фитохимик, один из виднейших исследователей био-

логически активных веществ из растений, ученик Н.П. Максютинной и Д.Г. Колесникова. Имеет большое количество публикаций, посвященных различным группам веществ". (Деятели отечественной фармакогнозии XVIII-XX в.в. // Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения: Учебное пособие / Под ред. Г.П. Яковлева и К.Ф. Блиновой. - СПб.: Спецлит. СПХФА, 2002. - С. 374).

#### *Этапы научной деятельности*

##### *В.И. Литвиненко:*

1. 1993- 1994 г.г. - член Экспертного совета медико-биологических и фармацевтических наук ВАК Украины.

2. Член редакционных советов и редакционных коллегий журналов: "Фармацевтический журнал" (г. Киев), "Ліки" (г. Киев), "Фармаком" (г. Харьков), "Вестник Инженерной академии Украины" (г. Киев), "Фітотерапія в Україні" (г. Киев).

3. Участвовал в организации и проведении пяти Всесоюзных симпозиумов по фенольным соединениям:

I - 14-17 декабря 1966 года в г. Москве;

II - 17-21 мая 1972 года в г. Алма-Ата;

III - в 1976 году в г. Тбилиси;

IV - в 1982 году в г. Ташкенте;

V - 22-27 сентября 1987 года в г. Таллинне.

4. Участвовал в организации и проведении четырех Всесоюзных симпозиумов по изучению и использованию солодки в народном хозяйстве СССР:

I - Межведомственное координационное совещание по исследованию и использованию солодки в народном хозяйстве СССР - 15-17 апреля 1964 года в г. Ленинграде;

II - Симпозиум по изучению и использованию солодки в народном хозяйстве СССР - 15-17 мая 1969 года в г. Ашхабаде;

III - в 1988 году в г. Чарджоу;

IV - 2-5 мая (3-5 октября) 1991 года в г. Алма-Ата.

5. 1973-1983 годы - совместно с директором Украинской зональной опытной станции лекарственных растений ВИЛР Д.А. Пакалом участвовал в экспедициях по Крыму и

Кавказу по выявлению и заготовке сырья и посадочного материала видов шлемника.

6. Являлся членом специализированных Ученых советов по защите кандидатских и докторских диссертаций при Харьковском фармацевтическом институте (по специальности - фармацевтическая химия и фармакогнозия), при Харьковском государственном университете (специальность - органическая химия); в настоящее время — член специализированного Ученого совета по защите кандидатских и докторских диссертаций при ГНЦАС (по специальностям - фармацевтическая химия и фармакогнозия, стандартизация и организация производства лекарственных средств).

В.И. Литвиненко является соавтором ряда научных изданий и монографий:

1. Тюкавкина Н.А., Литвиненко В.И., Шостаковский М.Ф. Хроматография на полиамидных сорбентах в органической химии. - Новосибирск: Наука СО, 1973. - 176 с.

2. Литвиненко В.И. Химия природных флавоноидов и создание препаратов при комплексной переработке растительного сырья.: Дисс. в форме науч. док. - Харьков, 1990. - 79 с.

3. Аммосов А.С., Литвиненко В.И., Попова Т.П. Использование солодки в мировой практике (Обзор патентных источников): Химико-фармацевтическое производство: Обзор информации. - М., 1992. - Вып. 6. - 68 с.

4. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Литвиненко В.И., Попова Т.П., Суслов Н.И. Шлемник байкальский: Фитохимия и фармакологические свойства. - Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1994. - 223 с.

5. Литвиненко В.И. Природные флавоноиды. - Харьков: ГНЦАС, 1995. - 56 с.

6. Георгиевский В.П., Макаревич И.Ф., Литвиненко В.И., Комиссаренко Н.Ф. Новые природные и полусинтетические биологически активные соединения ГНЦАС. - Харьков: Основа, 1995. - 470 с.

7. Литвиненко В.И. Природные флавоноиды // Технология и стандартизация лекарств: Сб науч. тр. ГНЦАС / Под ред. В.П. Георгиевского и Ф.А. Конева. - Харьков, 1996. - С. 103-153.

8. Аммосов А.С., Литвиненко В.И., Попова Т.П. Использование солодки в мировой практике: Обзор патентных источников: Обзор информ.: - М.: НИИЭМП, 1998. - 83 с. — (Хим.-фармац. производство. - Вып. 1.)

9. Литвиненко В.И., Попова Т.П., Аммосов А.С. Гликофлавоноиды // Технология и

стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. ГНЦАС / Под ред. В.П. Георгиевского и Ф.А. Конева. — Харьков, 2000. - Т. 2. - С. 81-200.

С участием В.И. Литвиненко разработан и внедрен в промышленное производство целый ряд лекарственных препаратов из различных растений:

из корней солодки - густой и сухой экстракты, глицирам, ликвиритон, флакарбин, лавалон;

из цветков бессмертника песчаного - фламин и сухой экстракт;

из листа подорожника - плантаглоцид;

из корней шлемника байкальского - жидкий и сухой экстракты, байкалин, производные байкалина с аминокислотами и алкалоидами (совместно с лабораторией физической химии ГНЦАС) и др.

В качестве стандартов предложены кверцетин, рутин, изосалипурпозид, байкалин, скутелларин и капсаицин.

Как значительные вехи в научной деятельности В.И. Литвиненко следует отметить теоретические и экспериментальные исследования по получению полиамидного сорбента и его применение для разделения близких по структуре полифенольных веществ. Также важны его исследования в области УФ-спектроскопии для установления строения флавоноидов с применением ионизирующих и комплексообразующих реагентов.

Работы В.И. Литвиненко по совершенствованию процессов и аппаратов в фитохимическом производстве позволили модернизировать ряд специализированных экстракционных аппаратов, испарителей, измельчителей и сушильных устройств, что позволило интенсифицировать и расширить производство, а также снизить себестоимость растительных препаратов.

Совместно с сотрудниками лаборатории (сектора) разработаны фильтрационный и суспензионный способы экстракции и аппаратное оформление к ним. Эти способы и оборудование апробированы с положительными результатами на ООО «ФК "Здоровье"», ОЗ ГНЦАС, ЗАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ», Арендном государственном предприятии «Лубныфарм».

Эрудиция, стратегическое видение перспектив развития фитохимии, организаторский талант В.И. Литвиненко способствуют развитию фармации в Украине.

В.И. Литвиненко в деловых ситуациях компетентный, энергичный, настойчивый на-

учный сотрудник, в отношениях с коллегами - доброжелательный собеседник, что вызывает уважение и создает ему заслуженный авторитет у специалистов и ученых Украины и стран СНГ.

Администрация, коллектив ГНЦЛС и редакция журнала "Фармаком" искренне желают уважаемому Василию Ивановичу крепкого здоровья, счастья, научных достижений и дальнейшего пополнения списка достойных учеников.

## До впровадження Державної Фармакопеї України

УДК 543.544.615.01

Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Доценко Т.Н., Денисенко Н.В.

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

Государственный научный центр лекарственных средств

### Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 3. Выполнение теста «Количественное определение» при одновременном контроле качества нескольких образцов лекарственных средств хроматографическими методами

В рамках создания Государственной Фармакопеи Украины рассмотрены метрологические аспекты одновременного количественного определения нескольких образцов субстанций и готовых лекарственных средств хроматографическими методами. В общих статьях ГФУ 2.2.28. *Газовая хроматография* и 2.2.29. *Жидкостная хроматография* эти вопросы не конкретизируются, что приводит к очень большому объему хроматографического времени при одновременном контроле качества нескольких серий субстанций, полупродуктов или готовых лекарственных средств. В данной статье сформулированы требования к неопределенности результатов для теста «Количественное определение», даны метрологически обоснованные рекомендации по необходимому числу измерений при анализе каждой единицы лекарственного средства, позволяющие существенно сократить объем эксперимента при сохранении точности. Развитые подходы применены к количественному определению таблеток эналаприла 0.01 г.

В настоящее время введена в действие Государственная Фармакопея Украины (ГФУ) 1-е изд., гармонизованная с Европейской Фармакопеей. В то же время, применение некоторых общих статей ГФУ вызывает определенные затруднения, связанные с отсутствием требований к метрологическим характеристикам используемых методик количественного определения.

Требования к неопределенности результатов методик количественного определения лекарственных средств (ЛС) оживленно дискутируются в научной печати и достаточно хорошо обоснованы как для субстанций, так и для готовых лекарственных средств [1-4]. Однако обычно эти вопросы рассматриваются для анализа только одного образца. В то же время, на практике нередко приходится проводить количественное определение нескольких образцов ЛС. Особенно часто такая проблема возникает при изучении стабильности и аналитическом обеспечении технологии. Простое применение при этом соответствующих общих статей ГФУ приводит к неоправданно большому объему эксперимента, особенно в случае хроматографических ме-

тодик, требующих значительного числа повторных измерений и проведения тестов на пригодность системы.

Так, например, при количественном определении методами газовой или жидкостной хроматографии, согласно требованиям соответствующих общих статей [5] и МУ [6], для анализа каждой серии (партии) ЛС необходимо получить (при попеременном введении) не менее 5 хроматограмм испытуемого и стандартного растворов. Т.е. для анализа, например, 5 образцов ЛС необходимо получить 50 хроматограмм и дополнительно 5 хроматограмм для проверки пригодности хроматографической системы. Среднее время получения одной хроматограммы нередко превышает 30 мин (см. ниже). Таким образом, необходимо затратить около 27.5 часов только хроматографического времени, не считая времени на пробоподготовку.

Конечно, это слишком много времени, и аналитик стремится его уменьшить, сокращая по своему усмотрению количество повторных хроматограмм. Поскольку такие действия никак не обоснованы метрологически, говорить в таких условиях о валидации

(в соответствии с требованиями ГФУ все методики анализа ЛС должны быть валидированы [7]) таких методик количественного определения не приходится.

Таким образом, для корректного применения теста «Количественное определение» при одновременном анализе нескольких образцов ЛС необходимо выработать требования к метрологическим характеристикам методик анализа, используемых при их проведении, и, исходя из них, существенно уменьшить число параллельных хроматограмм. Эти проблемы во многом сходны с проблемами, возникающими при проведении тестов ГФУ 2.9.3. *Однородность содержания действующего вещества в единице дозированного лекарственного средства* и 2.9.6. *Растворение*. Однако в этих тестах количество анализируемых образцов жестко регламентируется — 10 или 30 для испытания на однородность содержания и 6 или 12 для испытания на растворение. При проведении же количественного определения количество параллельно анализируемых образцов может быть самым разным. Это осложняет формализацию процедуры анализа.

Следует отметить, что в настоящее время в Европейской Фармакопее для количественного определения субстанций с помощью хроматографических методов используется подход с «плавающим» числом параллельных хроматограмм [11]. В соответствии с этим подходом, требуемое количество хроматограмм определяется реальной точностью, получаемой на стадии проверки пригодности хроматографической системы. Это позволяет в некоторых случаях сократить объем хроматографического анализа. Учитывая, что хроматограммы испытуемого и стандартного образца представляют собой обычно выборки из одной и той же генеральной совокупности, подход Европейской Фармакопеи [11] целесообразно дополнить объединением этих выборок. Это позволяет еще более сократить объем хроматографического анализа и контролировать не только пригодность хроматографической системы, но и сами получаемые результаты

Целью данной работы и является попытка разработки метрологически обоснованной схемы проведения таких хроматографических методик количественного определения.

#### Теоретическая часть

Как показано нами ранее [1, 3, 4], для субстанций и готовых ЛС между относительной

неопределенностью результатов количественного определения ( $\Delta_{As}\%$ ) и относительными допусками содержания анализируемого компонента ЛС ( $B\%$ ) должно выполняться соотношение:

$$\begin{aligned} \text{Субстанции:} \quad & \max \Delta_{As} \leq B_{upper} \\ \text{ГЛС:} \quad & \max \Delta_{As} \leq 0.32 \cdot B, \end{aligned} \quad (1)$$

где:  $B_{upper}$  - верхний допуск содержания основного компонента в субстанции минус 100%.

Данные соотношения являются основными при выработке метрологически обоснованной схемы анализа.

#### 1. Основные допущения

1. Во всех случаях для неопределенности результатов будет предполагаться относительный доверительный интервал с коэффициентом доверия 0.95.

2. *RSD* сходимости хроматографического сигнала (высоты или площади пика) для испытуемого и стандартного растворов являются выборочными оценками одного и того же генерального *RSD*. Это связано с тем, что анализируется одно и то же вещество в близких концентрациях (отличие концентраций обычно не более  $\pm 15\%$ ). Данное допущение позволяет объединять различные выборки испытуемого и стандартного растворов.

3. При расчете доверительного интервала неопределенности аналитических методик теста «Количественное определение» [3, 4] используется одностороннее распределение Стьюдента. Это связано с тем, что при анализе каждой конкретной единицы дозированного ЛС или конкретной серии субстанции или ЛС нас, фактически, интересует только то, чтобы полученные значения не превышали или не были ниже какой-то величины (например, будет ли значение 93 % вместе с доверительным интервалом больше 90 %, поскольку 93 % заведомо меньше 110 % от номинала) [3, 4]. При этом двусторонний коэффициент Стьюдента  $t_{90\%,f}$  соответствует вероятности 95 % при одностороннем распределении.

4. Погрешность пробоподготовки ( $\Delta_V\%$ ) достаточно легко регулируется корректными навесками и объемом мерных колб, поэтому может быть сделана незначимой по сравнению с максимально допустимой неопределенностью конечной аналитической операции ( $\max \Delta_{FAO}\%$ ) (в данном случае хроматографии), т.е., учитывая соотношение (1) [3, 4]:

$$\Delta_V \leq 0.32 \cdot \max \Delta_{FAO} \approx 0.32 \cdot \max \Delta_{As} = 0.96\% \quad (2)$$

**2. Предлагаемая схема проведения теста «Количественное определение» при одновременном анализе нескольких образцов ЛС (далее – Схема эксперимента)**

*1 этап. Проверка пригодности хроматографической системы.*

На этом этапе получают  $n_o$  параллельных хроматограмм стандартного раствора (обычно  $n_o = 3-6$ ), рассчитывают относительное стандартное отклонение и сравнивают его с максимально допустимым значением  $RSD_{max}$ .

Целесообразно использовать следующий принцип выбора  $RSD_{max}$ :  $RSD_{max}$  должно быть таким, чтобы при выполнении по  $n_o$  параллельных хроматограмм для одного испытуемого и одного стандартного раствора оно обеспечило неопределенность результатов  $\Delta_{As}$  для анализируемого вещества не выше требований соотношения (1). Это соответствует развитому нами ранее подходу [3, 4]. Данный вопрос достаточно подробно рассмотрен нами ранее [8].

Значения  $RSD_{max}$ , рассчитанные в соответствии с [8] для различных  $n_o$  и  $B$  для 1 этапа (проверка пригодности хроматографической системы), при условии выполнения соотношений (1-2), приведены в Табл. 1.

Значения  $RSD \geq 0.6$  достаточно легко могут быть получены на практике [4], поэтому анализ возможен во всех случаях, в том числе, и самых сложных – анализ субстанций с верхним допуском содержания  $B_{upper} = 1\%$ .

*2 этап. Собственно анализ*

Получают хроматограммы в следующей последовательности:

$n$  хроматограмм испытуемого раствора 1 - стандартный раствор –  $n$  хроматограмм ис-

пытуемого раствора 2 - стандартный раствор ... -  $n$  хроматограмм испытуемого раствора  $i$  - стандартный раствор... -  $n$  хроматограмм испытуемого раствора  $N$  - стандартный раствор.

Как видно, мы получаем, в общей сложности,  $n_o + N$  хроматограмм стандартного раствора и  $N \cdot n$  хроматограмм испытуемых растворов 1... $N$ .

Рассчитываем относительные стандартные отклонения для стандартного раствора ( $S_{ro}$ ) и каждого из испытуемых растворов ( $S_{ri}$ ). Согласно пункту 2 основных допущений, все они являются выборочными оценками одного и того же генерального  $RSD$ . Поэтому можно рассчитать объединенное относительное стандартное отклонение из соотношения [9]:

$$RSD_{max}^2 \geq RSD^2 = \frac{(n_o + N - 1) \cdot S_{ro}^2 + (n - 1) \cdot \sum_i^N S_{ri}^2}{n_o + N \cdot n - 1} \quad (3)$$

Как видно,  $RSD$  имеет число степеней свободы  $f = n_o + N \cdot n - 1$ .

Учитывая основные допущения 1-4, неопределенность анализа среднего ( $\Delta_{As}$ ) для каждого анализируемого образца ЛС можно найти из соотношения:

$$\Delta_{As} = RSD \cdot t_{90\%, f} \cdot \sqrt{\frac{1}{n_o + N} + \frac{1}{n}}, \quad (4)$$

$$f = n_o + n \cdot N - 1,$$

$$RSD \leq RSD_{max}.$$

Величина  $\Delta_{As}$  состоит из двух составляющих – относительных доверительных интервалов

Таблица 1

**Требования к  $RSD_{max}$  при проведении теста «Количественное определение» на этапе проверки пригодности хроматографической системы**

$n_o$	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$RSD_{max} \%$									
$B\%$	Субстанции								
1	0.16	0.42	0.60	0.74	0.86	0.96	1.06	1.14	1.22
1.5	0.24	0.63	0.90	1.11	1.29	1.44	1.58	1.71	1.83
2	0.32	0.84	1.20	1.48	1.72	1.93	2.11	2.28	2.44
3	0.48	1.26	1.80	2.23	2.58	2.89	3.17	3.42	3.66
Готовые лекарственные средства									
5	0.25	0.67	0.96	1.19	1.38	1.54	1.69	1.83	1.95
7.5	0.38	1.01	1.44	1.78	2.06	2.31	2.53	2.74	2.93
10	0.51	1.34	1.92	2.37	2.75	3.08	3.38	3.65	3.90
15	0.76	2.01	2.88	3.56	4.13	4.62	5.07	5.48	5.86
20	1.01	2.68	3.85	4.75	5.50	6.16	6.76	7.30	7.81



неопределенности результатов стандартного (первый член под корнем) и испытуемого (второй член под корнем) растворов. При этом относительное стандартное отклонение ( $RSD_{max}$ ) и коэффициент Стьюдента ( $t_{90\%,t}$ ) для обоих растворов одинаковы, однако число

параллельных для учета неопределенности среднего разные –  $(n_0 + N)$  и  $n$ , соответственно.

Из уравнений (1-4) можно рассчитать значения  $RSD_{max}$  для данных  $N$  (количество анализируемых образцов ЛС),  $n$  и  $B$ . Результаты

Таблица 2

Требования к  $RSD_{max}$  при проведении теста «Количественное определение» для субстанций при разных  $N$ ,  $n$  и  $n_0$  ( $B_{upper} = 1\%$ )\*

$n_0$	Величины $RSD_{max}$ % при значениях $n$ , равных							
	1	2	3	4	5	6	7	8
$N = 1$								
2	0.30	0.47	0.57	0.65	0.70	0.75	0.78	0.81
3	0.38	0.54	0.65	0.73	0.79	0.83	0.87	0.90
4	0.43	0.59	0.70	0.79	0.85	0.90	0.94	0.98
5	0.46	0.63	0.75	0.83	0.90	0.96	1.00	1.04
6	0.48	0.66	0.78	0.87	0.94	1.00	1.05	1.09
$N = 2$								
2	0.38	0.57	0.69	0.77	0.83	0.87	0.91	0.94
3	0.43	0.62	0.74	0.82	0.89	0.94	0.98	1.01
4	0.46	0.65	0.77	0.86	0.93	0.99	1.03	1.07
5	0.48	0.67	0.80	0.90	0.97	1.03	1.08	1.12
6	0.5	0.69	0.82	0.92	1.00	1.06	1.12	1.16
$N = 3$								
2	0.43	0.63	0.76	0.84	0.91	0.96	0.99	1.03
3	0.46	0.66	0.79	0.88	0.95	1.00	1.05	1.09
4	0.48	0.68	0.81	0.91	0.98	1.04	1.09	1.13
5	0.50	0.70	0.83	0.94	1.01	1.08	1.13	1.18
6	0.51	0.71	0.85	0.96	1.04	1.11	1.16	1.21
$N = 4$								
2	0.46	0.67	0.8	0.89	0.96	1.01	1.06	1.09
3	0.48	0.69	0.82	0.92	0.99	1.05	1.1	1.14
4	0.50	0.70	0.84	0.94	1.02	1.09	1.14	1.18
5	0.51	0.72	0.86	0.96	1.05	1.12	1.17	1.22
6	0.52	0.73	0.87	0.98	1.07	1.14	1.2	1.25
$N = 5$								
2	0.48	0.69	0.83	0.93	1.00	1.06	1.11	1.15
3	0.50	0.71	0.85	0.95	1.03	1.09	1.15	1.19
4	0.51	0.72	0.87	0.97	1.05	1.12	1.18	1.22
5	0.52	0.73	0.88	0.99	1.07	1.15	1.20	1.25
6	0.53	0.74	0.89	1.00	1.09	1.17	1.23	1.28
$N = 6$								
2	0.50	0.71	0.85	0.96	1.03	1.1	1.15	1.19
3	0.51	0.73	0.87	0.98	1.06	1.13	1.18	1.23
4	0.52	0.74	0.88	0.99	1.08	1.15	1.21	1.26
5	0.53	0.75	0.89	1.01	1.10	1.17	1.23	1.29
6	0.53	0.75	0.90	1.02	1.11	1.19	1.25	1.31

Примечание

\*  $RSD_{max}$  для других  $B_{upper}$  находят из соотношения:  $RSD_{max}(B_{upper}) = B_{upper} \cdot RSD_{max}(B = 1)$

расчетов для субстанций и готовых ЛС представлены в Табл. 2 и 3.

Как видно из Табл.1-3, получение приемлемых результатов количественного определения вполне возможно и при  $n = 1$  (т.е. по одной хроматограмме на каждую анализируемую серию), особенно для субстанций при  $B \geq 2\%$  и готовых ЛС при  $B \geq 10\%$  (данные Табл. 3 при этом, как минимум, удваиваются).

Однако делать заключение о качестве всей серии на основании только одной хроматограммы достаточно рискованно, поэтому для получения более надежных результатов целесообразно делать не менее двух ( $n \geq 2$ ) хроматограмм для каждой серии.

Какое же количество параллельных хроматограмм ( $n$ ) для каждой анализируемой серии ЛС можно считать достаточным и опти-

Таблица 3

Требования к  $RSD_{max}$  при проведении теста «Количественное определение» для готовых лекарственных средств при разных  $N$ ,  $n$  и  $n_0$  ( $B = 5\%$ )\*

$n_0$	Величины $RSD_{max}$ % при значениях $n$ , равных							
	1	2	3	4	5	6	7	8
$N = 1$								
2	0.47	0.74	0.92	1.04	1.13	1.19	1.25	1.29
3	0.61	0.87	1.04	1.16	1.26	1.33	1.39	1.44
4	0.69	0.95	1.13	1.26	1.36	1.44	1.51	1.56
5	0.74	1.01	1.19	1.33	1.44	1.53	1.6	1.66
6	0.77	1.05	1.25	1.39	1.51	1.60	1.68	1.75
$N = 2$								
2	0.61	0.92	1.11	1.23	1.33	1.4	1.46	1.5
3	0.69	0.98	1.18	1.32	1.42	1.5	1.57	1.62
4	0.74	1.03	1.23	1.38	1.49	1.58	1.65	1.71
5	0.77	1.07	1.28	1.43	1.55	1.65	1.73	1.79
6	0.80	1.1	1.32	1.48	1.6	1.7	1.79	1.86
$N = 3$								
2	0.69	1.01	1.21	1.35	1.45	1.53	1.59	1.64
3	0.74	1.05	1.26	1.41	1.52	1.61	1.68	1.74
4	0.77	1.09	1.30	1.46	1.58	1.67	1.75	1.82
5	0.80	1.12	1.33	1.50	1.62	1.73	1.81	1.88
6	0.82	1.14	1.36	1.53	1.66	1.77	1.86	1.94
$N = 4$								
2	0.74	1.07	1.28	1.42	1.54	1.62	1.69	1.75
3	0.77	1.10	1.32	1.47	1.59	1.69	1.76	1.83
4	0.80	1.13	1.35	1.51	1.64	1.74	1.82	1.89
5	0.82	1.15	1.37	1.54	1.68	1.78	1.87	1.95
6	0.83	1.17	1.4	1.57	1.71	1.82	1.92	2
$N = 5$								
2	0.77	1.11	1.33	1.48	1.6	1.7	1.77	1.84
3	0.8	1.14	1.36	1.52	1.65	1.75	1.83	1.9
4	0.82	1.16	1.38	1.55	1.69	1.79	1.88	1.96
5	0.83	1.17	1.41	1.58	1.72	1.83	1.93	2.01
6	0.85	1.19	1.42	1.6	1.75	1.87	1.97	2.05
$N = 6$								
2	0.80	1.14	1.37	1.53	1.66	1.76	1.84	1.91
3	0.82	1.16	1.39	1.56	1.69	1.8	1.89	1.96
4	0.83	1.18	1.41	1.59	1.73	1.84	1.93	2.01
5	0.85	1.19	1.43	1.61	1.75	1.87	1.97	2.06
6	0.86	1.2	1.45	1.63	1.78	1.9	2	2.09

Примечание

\*  $RSD_{max}$  для других  $B$  находят из соотношения:  $RSD_{max}(B) = (B/5) \cdot RSD_{max}(B = 5)$

мальным? Величины  $N$  (количество анализируемых образцов ЛС) здесь не является фиксированным, в отличие от требований тестов *Однородность содержания* ( $N = 10$  и  $N = 30$ ) и *Растворение* ( $N = 6$  и  $N = 12$ ). Это затрудняет априорный (до получения результатов анализа образцов ЛС) выбор величины  $n$ , которая может быть индивидуальной для каждого ЛС и хроматографа.

При выборе  $n$  целесообразно исходить из требований к  $RSD_{max}$ , полученными на 1 стадии – проверке пригодности хроматографической системы.  $RSD_{max}$  для собственно анализа должно быть примерно равно или выше этого значения.

Из Табл. 1-3 можно сделать следующие рекомендации по выбору величины  $n$  для практически важных величин  $n_o = 2 - 6$ :

$n_o \leq 4 : n = 2$ ;

$n_o = 5 : n = 3$  для  $N \leq 5$  и  $n = 2$  для  $N > 5$ ;

$n_o = 6 : n = 4$  для  $N \leq 3$  и  $n = 3$  для  $N > 4$ . (5)

### 3. Рекомендации по проведению теста «Количественное определение»

#### 1. 1 этап. Проверка пригодности хроматографической системы

Получают последовательно  $n_o = 2, 3, 4, 5$  и т.д. параллельных хроматограмм стандартного раствора и рассчитывают относительное стандартное отклонение ( $RSD$ ). Получение параллельных хроматограмм прекращают при достижении соответствия  $RSD$  требованиям Табл. 1.

#### 2. 2 этап. Собственно анализ

В соответствии с этапом 2 *Схемы эксперимента*, для испытуемого раствора каждой серии анализируемого ЛС получают количество хроматограмм в соответствии с соотношением (5). По объединенным результатам *Проверки пригодности хроматографической системы* и *Собственно анализа* рассчитывают для стандартного раствора среднее значение хроматографического сигнала (высота или площадь пика) и относительное стандартное отклонение ( $S_{ro}$ ). Для каждой исследуемой серии ЛС рассчитывают среднее значение хроматографического сигнала и на его основе (и среднего значения хроматографического сигнала для стандартного раствора) рассчитывают среднее значение содержания и относительное стандартное отклонение ( $S_{ri}$ ). На основе  $S_{ro}$  и  $S_{ri}$  рассчитывают  $RSD$  по соотношению (3). Оно удовлетворяет требованиям Табл. 2 или 3.

3. Реальную неопределенность содержания в каждой проанализированной серии

субстанции или готового ЛС ( $\Delta_{As}$ ) рассчитывают по соотношениям (3-4). Она удовлетворяет соотношению (1).

#### Выигрыш в количестве хроматограмм (и во времени) по сравнению с обычным (фармакопейным) анализом:

Пусть  $N = 6, n_o = 3$ .

Количество хроматограмм:

Обычный (фармакопейный) анализ:  
 $5 + 6 \cdot 5 + 6 \cdot 5 = 65$ .

Предлагаемый метод:

$3 + 6 + 2 \cdot 6 = 21$ .

Выигрыш в количестве хроматограмм (и во времени) составляет  $65/21 = 3.1$  раза.

#### *Экспериментальная часть*

При экспериментальной проверке изложенных выше подходов не ставилась задача оценить качество конкретных промышленных серий ЛС (это задача контролирующих органов). Целью являлась иллюстрация применения развитых подходов к конкретным объектам, в качестве которых поэтому были выбраны лабораторные серии ЛС.

#### *Объекты исследования*

Для исследования были выбраны лабораторные серии таблеточной массы и таблеток эналаприла 0.01 г, а также субстанция эналаприла малеата, удовлетворяющая требованиям Европейской Фармакопеи, 2002. К этим трем объектам (исходное сырье, полупродукт и готовый продукт) предъявляются различные требования по допускам содержания: субстанция – 98.5-101.5 % ( $B = 1.5\%$ ), таблеточная масса – 95-105 % ( $B = 5\%$ ), таблетки – 90-110 % ( $B = 10\%$ ). Это позволяет проверить методику для разных объектов и в широком интервале величин  $B$ .

#### *Проведение количественного определения*

Раствор сравнения. Свежеприготовленный раствор 0.01010 % ФСО ГФУ эналаприла малеата в воде.

Методика. Около 0.15 г (точная навеска) порошка растертых таблеток или таблеточной массы помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл воды, встряхивают в течение 50 мин, доводят водой до метки и фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента», отбрасывая первые порции фильтрата. Затем полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0.45 мкм.

Для анализа субстанции готовят 0.01002 % раствор субстанции в воде. Аналогично готовят раствор сравнения.

Погрешность пробоподготовки при этом удовлетворяет соотношению (2) и поэтому не учитывается в дальнейших расчетах.

Условия хроматографирования:

- жидкостный хроматограф "Waters Alliance" с УФ-детектором;
- колонка стальная, размером (4.6 \* 200) мм, заполненная обращенно-фазовым сорбентом C18;
- подвижная фаза: буферный раствор - ацетонитрил – вода (1:15:34);
- скорость подвижной фазы – 1.0 мл/мин;
- температура колонки - 40 °С;
- длина волны детектирования - 214 нм;
- объем пробы – 50 мкл.

Типичная хроматограмма представлена на Рис.1.

Содержание эналаприла малеата в субстанции ( $X_s$ ), в процентах, рассчитывают по формуле:

$$X_s = \frac{S}{S^{st}} \cdot \frac{C^{st}}{C} \cdot 100,$$

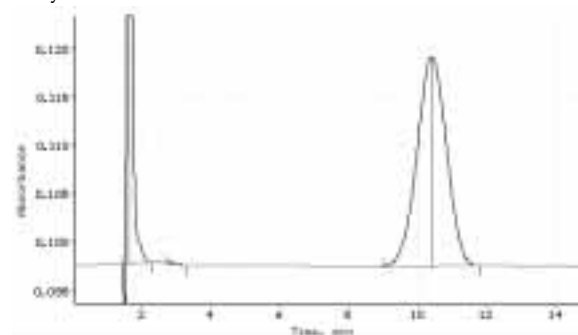
где:  $S$  - среднее значение площадей пиков эналаприла малеата, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора;

$S^{st}$  - среднее значение площадей пиков эналаприла малеата, вычисленное из хроматограмм раствора сравнения;

$C^{st}$  - концентрация ФСО ГФУ эналаприла малеата в растворе сравнения, %.

$C$  - концентрация субстанции в растворе сравнения, %.

Рисунок 1



Типичная хроматограмма, полученная при анализе таблеток эналаприла

Содержание эналаприла малеата в таблетках или таблеточной массе ( $X$ ), в процентах

Таблица 4

**Результаты количественного определения эналаприла малеата в таблетках ( $m$ ), таблеточной массе ( $m_m$ ) и субстанции ( $c$ ) по Схеме эксперимента**

Название	Хроматограммы						Среднее	RSD или $S_r$ , %	RSD <sub>max</sub> % (Табл. 1)	X% **
	1	2	3	4	5	6				
СО (пригодн.)	1386	1376	1374				1380	0.50 (1-2) 0.47 (1-3)	0.51( <i>m</i> ) 0.25( <i>m<sub>m</sub></i> ) 0.24( <i>c</i> ) 1.34( <i>m</i> ) 0.67( <i>m<sub>m</sub></i> ) 0.63( <i>c</i> )	
СО	1362	1371	1380	1383	1374	1384	1375*	0.74*		
Сер. 1	1168	1151					1160	1.08		96.9
Сер. 2	1121	1131					1126	0.60		94.9
Сер. 3	1185	1192					1188	0.43		98.5
Сер. 4	1159	1185					1172	1.59		97.5
<i>m<sub>m</sub></i>	1167	1179					1173	0.71		98.6
<i>c</i>	1390	1364					1377	1.32		100.1
Общее RSD (соотношение (3))								0.89	2.32( <i>m</i> ) 1.16( <i>m<sub>m</sub></i> ) 1.10( <i>c</i> )	

Примечания

\* по 9 хроматограммам СО

\*\* в процентах к номинальному количеству

к номинальному содержанию, рассчитывают по формуле:

$$X_S = \frac{S}{S^{st}} \cdot \frac{C^{st}}{m} \cdot 1500,$$

где  $m$  — навеска порошка растертых таблеток или таблеточной массы.

Анализировали одну серию субстанции, одну серию таблеточной массы и 4 серии таблеток.

Полное время прохождения одной хроматограммы (с учетом времени на элюирование примесей) — около 20 мин. Таким образом, только хроматографическое время на анализ данных 6 образцов в соответствии с требованиями общей статьи ГФУ 2.2.29. *Жидкостная хроматография* займет более 20 часов (65 хроматограмм).

Для сокращения анализа нами были использованы вышеописанная *Схема эксперимента* и *Рекомендации по проведению теста «Количественное определение»*.

### Результаты и их обсуждение

Как видно, анализ таблеток и таблеточной массы можно было бы проводить уже после двух хроматографирований на стадии проверки пригодности хроматографической системы, поскольку полученное  $RSD = 0.50\%$  меньше табличного значения  $RSD_{max} = 0.51\%$ . Однако это значение существенно выше табличного для таблеточной массы ( $RSD_{max} = 0.25\%$ ) и субстанции ( $RSD_{max} = 0.24\%$ ). Три хроматограммы ( $RSD = 0.47\%$ ) позволяют удовлетворить все случаи, поэтому они и были далее использованы в расчетах. Дальнейшее получение хроматограмм на стадии проверки пригодности хроматографической системы было в связи с этим прекращено.

В соответствии с соотношением (5) для анализа всех исследуемых объектов достаточно по две хроматограммы. Полученное общее  $RSD = 0.89\%$  меньше табличных значений  $RSD_{max}$  для таблеток (2.32%), таблеточной массы (1.16%) и субстанций (1.10%), т.е. анализ проведен корректно.

На основе величины общего  $RSD = 0.89\%$  рассчитаем реальную относительную неопределенность содержания эналаприла малата в исследуемых объектах ( $D_{As}$ ) по уравнению (4). Число степеней свободы равно  $f = 3 + 6 \cdot 2 - 1 = 14$ . Односторонний коэффициент Стьюдента для  $f = 14$  и вероятности 95% равен [10] 1.7613. Тогда соотношение (4) при  $N = 6$ ,  $n_o = 3$ ,  $n = 2$  дает  $\Delta_{As} = 1.23\%$ , в то время как уравнение (1) требует для субстан-

ций ( $B = 1.5\%$ )  $\Delta_{As} \leq 1.5\%$ , для таблеточной массы ( $B = 5\%$ )  $\Delta_{As} \leq 1.6\%$ , а для таблеток ( $B = 10\%$ )  $\Delta_{As} \leq 3.2\%$ , т.е. гораздо больше.

Общий выигрыш во времени — 3.1 раза (см. выше — *Рекомендации по проведению теста «Количественное определение»*).

### Выводы

1. Предложен подход, позволяющий без снижения точности в несколько раз сократить время и затраты при одновременном количественном определении нескольких серий субстанции или готового ЛС.

2. Показана применимость данного подхода на примере проведения теста «Количественное определение» для таблеток эналаприла 0.01 г.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Гризодуб А.И., Левин М.Г., Леонтьев Д.А., Георгиевский В.П. Стандартизация хроматографического анализа лекарственных средств. Сообщение 1. Метрологические аспекты применения высокоэффективной жидкостной хроматографии // Фармаком. - 1995. - № 7. - С. 8-19.
2. A.G.J. Daas, J.H.McV Miller. Content limits in the European Pharmacopoeia, Pharmeuropa, 9, 148 (1997); 10, 137 (1998).
3. Гризодуб А.И., Левин М.Г., Леонтьев Д.А., Вырова Е.В., Доценко Т.Н. Аттестация стандартных образцов. Сообщение 1. Аттестация вторичных стандартных образцов для количественного хроматографического анализа лекарственных средств // Фармаком. — 1999. - № 2. - С. 46-51.
4. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Левин М.Г., Доценко Т.Н. Аттестация стандартных образцов для спектрофотометрического анализа лекарственных средств // Фізіологічно активні речовини. - 2000. - № 2. - С. 38-44.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Харків, РІРЕГ, 2001. — С 44-49.
6. МУ ФК-1-96. Индивидуальные лекарственные вещества и готовые лекарственные средства. Основные показатели качества и методы контроля, включаемые в аналитическую нормативную документацию (методические указания для разработчиков проектов аналитической нормативной документации) // Фармаком. - 1996. - № 4/5. - С. 2-19.
7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Харків, РІРЕГ, 2001. — С. 58-67.
8. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Левин М.Г. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ // Фізіологічно активні речовини. — 2001. - № 1 (31). - С. 32-44.
9. Pharmaceutical statistics: practical and clinical applications/ Sanford Bolton. — 3<sup>rd</sup> ed. — 737 p.
10. Большев Л.Н., Смирнов Н.В. Таблицы математической статистики. - Москва: Наука, 1983. - 415 с.
11. European Pharmacopoeia. 4<sup>th</sup> Edition, 2002. 2.2.46. Chromatographic separation techniques.

*Резюме*

Гризодуб О.І., Леонтьев Д.А.,  
Доценко Т.М., Денисенко Н.В.

**Метрологічні аспекти офіційних методик контролю якості лікарських засобів. 3. Виконання тесту "Кількісне визначення" за одночасного контролю якості декількох зразків лікарських засобів хроматографічними методами**

У рамках створення Державної Фармакопеї України розглянуті метрологічні аспекти одночасного кількісного визначення кількох зразків субстанцій і готових лікарських засобів хроматографічними методами. У загальних статтях ДФУ 2.2.28. *Газова хроматографія* та 2.2.29. *Рідинна хроматографія* ці питання не конкретизуються, що призводить до великого обсягу хроматографічного часу за одночасного контролю якості кількох серій субстанцій, напівпродуктів або готових лікарських засобів. У даній статті сформульовані вимоги до невизначеності результатів для тесту "Кількісне визначення", надані метрологічно обґрунтовані рекомендації щодо необхідного числа вимірювань при аналізі кожної одиниці лікарського засобу, що дозволяє суттєво скоротити обсяг експерименту при збереженні точності. Розвинуті підходи застосовні до кількісного визначення таблеток еналаприлу 0.01 г.

*Summary*

Grisodub A.I., Leontyev D.A.,  
Dotsenko T.N., Denisenko T.N.

**Metrological aspects of drug quality control official procedures. 3. «Assay» test performing with simultaneous control of several samples quality by chromatographic methods.**

In the network of the State Pharmacopoeia of Ukraine creation the metrological aspects of simultaneous assay of several substance and finished drug samples by chromatographic methods were considered. In the SPU general monographs 2.2.28 «Gas chromatography» and 2.2.29 «Liquid chromatography» these matters are not define concretely that results in very large value of chromatographic time when simultaneous drug quality controlling of several substance, intermediates or finished drugs batches. In this ar-

ticle the requirements to the results uncertainty for the «Assay» test are stated and the metrologically substantiated recommendations on the required number of measurements when analyzing each drug unit permitting to decrease essentially the experiment size are given. The approaches developed are adapted to the assay of enalapril tablets, 0.01 g.

**Гризодуб Александр Иванович.** Окончил химический факультет Харьковского государственного университета (1971). Зав. лабораторией хроматографии ГНЦЛС. Зам. директора ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр» по научной работе (1992). Канд. хим. наук (1982). Доктор хим. наук (1990). Профессор (1996). Действительный член Нью-Йоркской Академии Наук (1994). Член Международной ассоциации аналитических химиков. (1997).

**Леонтьев Дмитрий Анатольевич** (р. 1963). Окончил биологический факультет Харьковского государственного университета (1986). Работает в лаборатории хроматографии ГНЦЛС (с 1993). Ст. науч. сотрудник. Руководитель группы «Валидация методик, стандартные образцы и метрология» отдела ГФУ ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр». Канд. фарм. наук (1997).

**Доценко Татьяна Николаевна.** Окончила Харьковский государственный университет (1997). Работает в отделе ГФУ ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр». Мл. науч. сотрудник группы «Валидация методик, стандартные образцы и метрология».

**Денисенко Наталья Васильевна.** Окончила Харьковский государственный университет (1997). Работает в отделе ГФУ ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр». Мл. науч. сотрудник группы «Валидация методик, стандартные образцы и метрология».

## До видання Доповнення до Державної Фармакопеї України

До Вашої уваги представлений проект монографії Доповнення до Державної Фармакопеї України 1-го видання “Метилцелюлоза”, який є адаптованим перекладом відповідної статті Європейської Фармакопеї.

Проект монографії наданий до друку групою “Монографії на лікарські субстанції” (керівник групи - канд. фарм. наук Георгієвський Г.В., відповідальний виконавець – канд. біол. наук Товмасян Є.К.) відділу Державної Фармакопеї України ДП “Науково-експертний фармакопейний центр”.

В обговоренні проекту брали участь Гризодуб О.І. (доктор хім. наук, професор, заступник директора ДП НЕФЦ із наукової роботи), Хованська Н.П. (канд. хім. наук, зав. лабораторії фармакопейного аналізу ДП НЕФЦ), Штейнгарт М.В. (доктор фарм. наук, зав. лабораторії оптимізації біофармацевтичних властивостей таблетованих лікарських препаратів ДНЦЛЗ), Согоян Т.П. (канд. хім. наук, ст. наук. співробітник лабораторії фармакопейного аналізу ДП НЕФЦ).

Зауваження та пропозиції щодо проекту Ви можете направляти на адресу ДП “Науково-експертний фармакопейний центр” (відділ ДФУ) або журналу “Фармаком”. Запрошуємо всіх зацікавлених осіб до відкритого обговорення на Форумі сайту журналу “Фармаком” [Farmacom.narod.ru](http://Farmacom.narod.ru).

### ПРОЕКТ

## МЕТИЛЦЕЛЮЛОЗА

Methylcellulosum

### **METHYLCELLULOSE**

Метилцелюлоза являє собою частково *О-метильовану* целюлозу.

#### ВЛАСТИВОСТІ

**Опис.** Порошок білий, жовтувато-білий або сірувато-білий або гранули. Гігроскопічні після висушування.

**Розчинність.** Практично не розчинний у гарячій воді *P*, ацетоні *P*, етанолі *P*, ефірі *P* і толуолі *P*.

(Розчиняється в холодній воді *P* із утворенням колоїдного розчину).

#### ІДЕНТИФІКАЦІЯ

**A.** 10 мл розчину *S*, приготованого, як зазначено в розділі «Випробування на чистоту», нагрівають на водяній бані, постійно перемішуючи; при температурі вище 50 °С розчин каламутніє або утворюється пластівчастий осад. Розчин знову стає прозорим при охолодженні.

**B.** До 10 мл розчину *S* додають 0.3 мл кислоти оцтової розведеної *P* і 2.5 мл розчину 100 г/л кислоти танінової *P*; утворюється жовтувато-білий пластівчастий осад, який розчиняється у розчині аміаку розведеному *P1*.

**C.** 1 г субстанції у пробірці заввишки близько 160 мм ретельно перемішують із 2 г тонко здрібненого марганцю(II) сульфату *P*. На глибину 2 см від верхньої частини пробірки поміщають смужку фільтрувального паперу, імпрегнованого свіжоприготованою сумішшю розчину 20 % (об/об) гіетаноламіну *P* - розчину 50 г/л натрію нітропрусику *P*, рН якого доведено до 9.8 1 *M* розчином кислоти хлористоводневої, (1:11). Пробірку занурюють на глибину 8 см у баню із силіконовим маслом, нагріту до температури від 190 °С до 200 °С; фільтрувальний папір протягом 10 хв не має забарвлюватися у синій колір. Паралельно проводять контрольний дослід.

**D.** 0.2 г субстанції без нагрівання повністю розчиняють у 15 мл розчину 70 % (м/м) кислоти сірчаної *P*, постійно перемішуючи додають 100 мл льодяної води *P* і доводять об'єм розчину льодяною водою *P* до 250 мл. 1 мл одержаного розчину поміщають у пробірку і при ретельному перемішуванні й охолодженні в льодяній бані додають краплями 8 мл кислоти сірчаної *P*. Нагрівають у водяній бані протягом близько 3 хв і відразу охолоджують у льодяній бані. До охолодженої суміші обе-

режно додають 0.6 мл розчину нінгітрину P2, ретельно перемішують і витримують при температурі 25 °С; відразу з'являється рожеве забарвлення, яке не переходить у фіолетове протягом 100 хв.

**Е.** 1 мл розчину S поміщають на скляну пластинку; після випарування води утворюється тонка плівка.

**Ф.** 0.2 г субстанції не розчиняються ні в 10 мл толуолу P, ні в 10 мл етанолу P.

#### ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

**Розчин S.** 1.0 г субстанції, у перерахунку на суху речовину, розчиняють у 50 г води, вільної від вуглецю діоксиду, P, нагрітої до температури 90 °С і витримують до охолодження. Масу одержаного розчину доводять водою, вільною від вуглецю діоксиду, P до 100 г і перемішують до повного розчинення субстанції. Безпосередньо перед проведенням випробувань «Прозорість розчину» і «Кольоровість розчину» одержаний розчин витримують при температурі від 2 °С до 8 °С протягом 1 год.

**Прозорість розчину (2.2.1).** Розчин S за ступенем каламутності не має перевищувати еталон III.

**Кольоровість розчину (2.2.2, метод II).** Забарвлення розчину S має бути не інтенсивнішим за еталон Y<sub>6</sub>.

**pH (2.2.3).** Від 5.5 до 8.0. Вимірюють pH розчину S.

**Уявна в'язкість.** Не менше 75 % і не більше 140 % від зазначеної на етикетці.

6.00 г субстанції, у перерахунку на суху речовину, при постійному перемішуванні додають до 150 мл води P, нагрітої до температури 90 °С. Суміш перемішують мішалкою з лопаттю протягом 10 хв. Потім колбу поміщають у льодяну баню і продовжують перемішувати протягом 40 хв до повного розчинення субстанції. Масу розчину доводять до 300 г і центрифугують для звільнення від поглиненого повітря. Температуру розчину доводять до (20±0.1) °С. В'язкість (2.2.10) одержаного розчину визначають при температурі 20 °С і кутовій швидкості 10 с<sup>-1</sup>, використовуючи ротацийний віскозиметр.

**Хлориди (2.4.4).** Не більше 0.5 %. 1 мл розчину S доводять водою P до об'єму 15 мл. Одержаний розчин має витримувати випробування на хлориди.

**Важкі метали (2.4.8, метод C).** Не більше 0.002 % (20 ppm). 1.0 г субстанції має витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням 2 мл еталонного розчину свинцю (10 ppm Pb) P.

**Втрата в масі при висушуванні (2.2.32).** Не більше 10.0 %. 1.000 г субстанції сушать при температурі від 100 °С до 105 °С.

**Сульфатна зола (2.4.14).** Не більше 1.0 %. Визначення проводять з 1.000 г субстанції.

#### МАРКУВАННЯ

На етикетці зазначають значення уявної в'язкості 2 % (м/м) розчину субстанції, у мПа·с.

**N**

**Залишкові кількості органічних розчинників.** Субстанція має витримувати вимоги статті (5.4).



## Міжнародні конгреси, семінари, виставки

4 ноября 2002 года в г. Харьков Государственный научный центр лекарственных средств провел международный семинар

### Лабораторные животные – возможные альтернативы в экспериментальной фармакологии

Семинар организован Комитетом по биоэтике ГНЦЛС, г. Харьков, и Харьковской ассоциацией биоэтики. В семинаре принял участие доктор Р. Хубреخت - заместитель директора Федерации Университетов Великобритании по социальной защите животных (UFAW).

Спонсорскую помощь в проведении семинара оказали предприятия отрасли: ДП "Биостимулятор" ГАК «Укрмедпром», ЗАО НПЦ "Борщаговский ХФЗ", ХГФП "Здоровье народу".

Состав участников и гостей семинара был представлен специалистами в различных областях биологии и медицины научно-исследовательских институтов, высших учебных заведений, фармацевтических заводов г. Харькова и г. Киева: Национального фармацевтического университета, Харьковского государственного медицинского университета, НИИ биологии Харьковского университета им. В.Н. Каразина, НИИ патологии позвоночника и суставов, Институт проблем эндокринной патологии, НИИ проблем криобиологии и криомедицины, НИИ гигиены труда и профзаболеваний, Института фармакологии и токсикологии АМН Украины, НИИ молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Института радиофизики и электроники НАНУ им. А.Я. Усикова, Педагогического университета им. Г. Сковороды, ООО "ФК "Здоровье", ОАО ФФ "Дарница"; членами Харьковского областного Общества защиты животных, представителями прессы. В подготовке и работе семинара активное участие принимали сотрудники медико-биологических лабораторий ГНЦЛС.

В работе семинара участвовало около 100 человек.

На семинаре рассматривались вопросы, освещающие основные концепции биоэтики, проблемы гуманного обращения с экспериментальными животными, перспективы более широкого внедрения в экспериментальную фармакологию и токсикологию альтернативных моделей, позволяющих снизить количество лабораторных животных в эксперименте.

Семинар открыл академик МИА, Заслуженный деятель науки и техники Украины, профессор, доктор фармацевтических наук, директор ГНЦЛС **Георгиевский В.П.** В приветственном слове к участникам семинара проф. Георгиевский В.П. подчеркнул актуальность открытой общественной дискуссии по вопросам биоэтики – составной части нравственного отношения к окружающему человеку миру. Конечной целью создания лекарственных препаратов является сохранение здоровья людей. Достижение этой цели возможно лишь при тщательных доклинических исследованиях фармакологической эффективности и безопасности потенциальных лекарств, в которых нельзя обойтись без использования экспериментальных животных.



На сегодняшний день основной задачей ГНЦАС является улучшение условий содержания лабораторных животных, строгое соблюдение норм гуманного обращения с ними, более широкое использование в научно-исследовательской работе биологических систем "in vitro", математическое и компьютерное моделирование эксперимента.

Большой интерес участников семинара вызвали доклады доктора Роберта Хубрехта. В первом докладе "**Партнерство между хорошей защитой животных и хорошей наукой**" Р. Хубрехт осветил деятельность UFAW - одной из немногих благотворительных организаций, использующих науку для содействия защите животных. Еще в 50-е годы XX столетия научные исследования Рассела и Берча в UFAW привели к разработке ими концепции трех R: **replacement (замена** экспериментов на животных альтернативными методами); **reduction (сокращение** количества животных в эксперименте); **refinement (гуманизация** методов работы с животными), которые используются в качестве фундаментальной стратегии улучшения благосостояния экспериментальных животных. Основное внимание Р. Хубрехт уделил вопросам усовершенствования условий содержания и разведения животных, привел ряд убедительных доказательств необходимости такого усовершенствования, обусловленного как этическими соображениями, так и требованиями хорошей науки. Данные исследований в этой области доказали, что обогащение стандартной лабораторной обстановки способно снизить частоту проявления аномалий в поведении животных, положительно влияет на формирование структур мозга. Советы экспертов в области защиты животных учитываются некоторыми фирмами при проектировании клеток и вольер. Вместе с тем, докладчик отметил, что к выбору методов обогащения среды животных следует подходить осторожно, они должны соответствовать типу исследования, быть стандартизованными в рамках отдельно взятого исследования для сведения к минимуму любой вариативности или иного негативного влияния на результаты эксперимента. В заключении Р. Хубрехт подчеркнул: общим долгом ученых и экспертов по биоэтике является обязанность удостовериться в том, что в каждом отдельно взятом проекте эксперименты с лабораторными животными проводятся самым гуманным образом.

Во втором докладе "**Современное законодательство ЕС по контролю над экспериментами на животных**" Р. Хубрехт ознакомил собравшихся с современным законодательством Европейского Союза по контролю над экспериментами на животных. Повышению такого контроля способствуют два основных документа — Директива 86/609 ЕЕС и Соглашение Совета Европы ETS123 (Европейская Конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (1986)). Директива действует в рамках стран-участниц Европейского Союза и должна быть переведена в национальный законопроект Великобритании (Акт о животных. Научные процедуры). Соглашение содержит необязательные руководящие принципы и применяется приблизительно в 40 странах, из которых 15 входит в ЕС. Оба документа содержат инструкции по экспериментам на животных, основанные на принципе, что животные должны иметь размещение и уход, обеспечивающие их здоровье и благосостояние, и что "любое ограничение степени удовлетворения физиологических и этологических потребностей должно быть сведено к минимуму". В дополнение к ETS123 имеется ряд документов, касающихся охраны животных: Европейская Конвенция по защите животных во время международных перевозок (1968); Европейская Конвенция по защите животных, содержащихся для целей сельского хозяйства (Т-АР, 1976); Европейская Конвенция по защите животных при убое (1979); Европейская Конвенция по защите домашних животных (1987). В Англии документы, соответствующие Директиве — это Свод правил Министерства внутренних дел по использованию животных, используемых для научных процедур. Вследствие прогресса науки о физиологии животных, их познавательных способностях, социальных и поведенческих потребностях, в 1997 году был начат пересмотр принципов Соглашения по размещению и уходу за животными и разработка рекомендаций по этому вопросу с учетом принципов GLP. Было согласовано, что в тексте новой редакции Соглашения будут представлены увеличенные размеры клеток, удовлетворяющие физическим и поведенческим требованиям животных; принята статья о необходимости улучшения оборудования помещений для всех животных.

В докладе от группы авторов (Государственный научный центр лекарственных средств, г. Харьков) "**ЛАЛ-тест - надежная замена контроля пирогенности на животных**", представленном Меркуловой Ю.В., была поднята проблема разработки методов, альтернативных испытаниям на животных, непосредственно связанная с разработкой и валидацией фармакопейных биологических тестов, используемых при контроле качества лекарственных средств. Докладчиком подробно рассмотрен блестящий пример замены испытаний на пирогены на кроликах определением бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ-теста: освещена история вопроса; представлены данные, наглядно демонстрирующие более высокую чувствительность ЛАЛ-теста в сравнении с тестом на пирогены на кроликах; показаны преимущества одного из возможных методов проведения ЛАЛ-теста (метод гелеобразования: предельное испытание). Интерес слушателей вызвал вопрос о перспективах развития теста на пирогены. В настоящее время в Европейском Центре валидации альтернативных методов был зарегистрирован новый иммунохимический метод контроля пирогенных загрязнений «in vitro» с использованием цельной крови человека или клеток, выделенных из крови. Считают, что этот метод имеет ряд преимуществ по сравнению с тестом на кроликах и ЛАЛ-тестом: обладая чувствительностью последнего, позволяет контролировать пирогенные загрязнения "неэндотоксиновой" природы.

В докладе канд. биол. наук Комаровой И.В. (НИИ проблем эндокринной патологии) "**Альтернативные методы в фармакологии**" подробно рассмотрены принципиально новые подходы к вопросу создания оригинальных лекарственных субстанций и их первичного скрининга, включающие компьютерное прогнозирование и виртуальный скрининг. В частности, перспективным направлением поиска новых биологически активных соединений являются методы, основанные на анализе взаимосвязей структура-активность (SAR; QSAR) для известных биологически активных веществ и на моделировании микромоделей-мишеней с низкомолекулярными лигандами. В московском НИИ Биомедицинской химии на основе методов SAR/QSAR была разработана компьютерная программа прогноза спектра биологической активности PASS — Prediction of Activity Spectra for Substances, позволяющая предска-

зывать свыше 780 фармакологических эффектов, биохимических механизмов действия, канцерогенность, мутагенность, тератогенность и эмбриотоксичность на основе анализа обучающей выборки известных соединений, принадлежащих к различным химическим классам. Точность такого прогноза составляет 85%. По программе PASS был получен прогноз биологической активности более 100 соединений, синтезированных в Институте эндокринной патологии (г. Харьков), в ряде случаев выявлен более широкий спектр фармакологических эффектов. Использование альтернативных методов возможно и в рамках традиционного биологического скрининга. Докладчиком показана высокая эффективность тестирования потенциальных тиреостатиков на наличие специфической активности в условиях «in vitro» — на клеточной культуре или срезах ткани щитовидной железы животных и человека, позволяющая существенно снизить количество животных в эксперименте.

Доклад доктора биол. наук, проф. Малоштан Л.Н. (Национальный фармацевтический университет) "**Биоэтические проблемы обращения с животными в эксперименте**" по сути, представляет обзор публикаций дискуссионного характера по биоэтическим аспектам. Докладчиком излагались различные точки зрения на использование животных в эксперименте. Примером крайней позиции могут служить тезис защитников прав животных о том, что какое-либо использование животных в эксперименте несовместимо с моралью и этикой; весьма спорное положение об отказе от теста LD<sub>50</sub> и др. С другой стороны, обосновывается необходимость дальнейшего применения животных в эксперименте, вызванная следующими причинами: альтернативные методы и методы «in vivo» являются дополняющими, но не заменяющими друг друга; механизм развития и терапии ряда серьезных патологий (диабет, болезнь Альцгеймера, СПИД, рак, болезнь Паркинсона и др.) пока невозможно изучить без использования животных. По мнению докладчика, реальными в наших условиях являются такие основные альтернативы использованию позвоночных животных в эксперименте, как генетические исследования на клетках растений и дрозофиле; базы данных уже проведенных тестов; использование клеточных культур эмбриональных клеток человека с

дальнейшей возможностью трансформации в разные типы клеток.

Доклад зав. лабораторией иммунофармакологии и аллергологии ГНЦАС, канд. биол. наук Гладковой Л.В. **"Изучение иммуномодулирующего влияния лекарственных препаратов в опытах *in vitro*"** посвящен анализу методических подходов по изучению иммуномодулирующих свойств лекарственных препаратов «*in vitro*»; показано преимущество методов «*in vitro*» для раннего выявления токсичности и прогнозирования специфических эффектов иммуотропных лекарственных средств; описан комплекс стандартных методик «*in vitro*», применяемых в лаборатории иммунофармакологии и аллергологии ГНЦАС. Докладчиком сделан вывод о целесообразности и обоснованности использования клеточных культур при иммунофармакологических исследованиях, что дает возможность изучить действие лекарственного средства на все клеточные системы, обеспечивающие реализацию иммунных реакций, и сопоставить митогенное, митостатическое и лимфостатическое действие препарата.

Большой интерес участников семинара вызвал доклад Девейкис Д.Н. (НИИ гигиены труда и профзаболеваний) **"Оценка влияния на потомство химических соединений — есть ли альтернатива экспериментам на животных?"**, поднимающий важные вопросы оценки влияния химических соединений на потомство. От результатов этих исследований зависит как здоровье нации, так и здоровье и выживаемость популяции человека в целом. В рамках стандартной токсикологической экспертизы на животных проводятся полномасштабные исследования отдаленных последствий применения новых химических соединений, в том числе и лекарственных препаратов (эмбриотоксическое действие с влиянием на поколение, мутагенность — тест доминантных леталей). Такие исследования чрезвычайно "материалоемки". Согласуясь с нормами и принципами биоэтики, использование такого огромного количества животных вызывает озабоченность не только общественных организаций, но и самих исследователей. Выход из сложившейся ситуации докладчик видит прежде всего в использовании информационных систем для создания банка данных о веществах, обладающих токсическим влиянием не только на антенатальное развитие плода, но и на все процессы ин-

дивидуального постнатального развития, что позволит уменьшить количество экспериментальных групп животных. Возможно использование краткосрочных отборочных тестов, однако, по данным ВОЗ, ни одна из существующих в настоящее время тест-систем для изучения тератогенности не включает хорин-аллонтаисную или интактную материнскую метаболическую систему. Перспективно использование эмбриональных клеток млекопитающих и органных культур; одной из моделей выявления гонадотоксических, мутагенных и эмбриотоксических эффектов могут быть системы биологических мембран. Тем не менее, в настоящее время не существует программы краткосрочных тестов для выявления тех нарушений, которые могут накапливаться в процессе онтогенеза и приводить к снижению жизнеспособности популяции. Таким образом, на сегодняшний день в сфере репродуктивной токсикологии нельзя отказаться от экспериментов на животных. В то же время, внедрение развивающихся систем в значительной мере сократит количество используемых экспериментальных животных.

Современные направления в создании новых лекарственных форм с применением методов «*in vitro*» были освещены в докладе доктора физ.-мат. наук Щеголевой Т.Ю. (Институт радиофизики и электроники) **"Исследование действия биологически активных агентов на системы регуляции живой клетки радиофизическими методами, как альтернатива использованию лабораторных животных в биологии, медицине и фармакологическом эксперименте"**. Одним из таких направлений является метод КВЧ-диэлектротометрии, использующийся для создания новых способов оценки качества лекарственных препаратов в трех аспектах — на молекулярном уровне (экспресс-идентификация конечной структурно-функциональной организации макромолекул), на надмолекулярном уровне (испытание стабильности системы при оптимальных условиях хранения), на клеточном уровне (способ экспресс-анализа молекулярных механизмов действия в живой клетке). Метод разработан в ИРЭ совместно с ГНЦАС, показана его эффективность при анализе молекулярных механизмов действия ряда гормонов, цитостатиков, иммуностимуляторов, антибиотиков и антикатаральных средств. Представленные докладчиком ре-

зультаты показывают возможность применения метода КВЧ-дизэлектрометрии для:

- конструирования «in vitro» новых лекарственных форм с оптимальными параметрами;
- экспресс-идентификации конечной структурно-функциональной организации макромолекул и их комплексов для создания новых способов оценки качества лекарственных препаратов, разработки методик испытания их стабильности и определения оптимальных условий хранения;
- контроля влияния микродобавок и комплексных воздействий биологически неактивных компонентов на выпускаемые лекарственные препараты;
- регистрации «in vitro» побочных эффектов и подбор оптимальной дозы лекарств;
- индивидуализации подбора препаратов и их сочетаний непосредственно на клетках крови больного или культурах тканей;
- подбор фармакологических способов коррекции зрения человека по наблюдению за состоянием ткани хрусталика глаза;
- создание альтернативных методов оценки качества лекарственных препаратов.

Актуальные биоэтические проблемы были подняты в докладе зав. лабораторией фармакокинетики, биоэквивалентности и токсикокинетики ГНЦАС канд. биол. наук Либиной В.В. **«Биоэтические аспекты оценки фармакокинетической эквивалентности как медикобиологического метода контроля качества генерических препаратов»**. С точки зрения биоэтических аспектов оценка ФКЭ не относится к альтернативным методам исследования, так как проводится в условиях «in vivo» с использованием лабораторных животных. Вместе с тем, данный подход к изучению генерических препаратов на этапе их разработки можно рассматривать как один из наиболее гуманных: опыты проводятся на здоровых животных без экспериментального моделирования какого-либо патологического процесса; используется относительно небольшое количество животных; в ходе эксперимента животные получают препарат однократно (реже-повторно) только в терапевтической тест-дозе, исключающей

развитие токсических явлений; схема отбора и общий отбираемый объем крови не представляют опасности для жизни и состояния животного. Представленные докладчиком экспериментальные данные свидетельствуют о высокой избирательности и эффективности исследования ФКЭ «in vivo» как метода медико-биологического контроля препаратов-генериков. Наряду с этим, с позиций биоэтики данный метод достаточно гуманный в отношении лабораторных животных.

Все доклады были заслушаны с большим вниманием, вызвали ряд вопросов, на которые были даны исчерпывающие ответы.

В обсуждении докладов выступили зав. отделом токсикологии Института фармакологии и токсикологии (г. Киев), доктор биол. наук Коваленко В.Н.; доктор биол. наук, проф. Маслова Н.Ф.; канд. мед. наук Чайка Л.А., доктор физ.-мат. наук Щеголева Т.Ю.; канд. биол. наук. Бутенко И.Г.; председатель Харьковского областного Общества защиты животных Бондаренко О.Б. Несмотря на определенные разногласия, все выступавшие были единодушны в том, что на данном этапе фармакологические и токсикологические исследования на животных не могут быть в полной мере заменены альтернативными методами. Вместе с тем, необходимо дальнейшее внедрение и совершенствование культуральных методов исследования. Первоочередной задачей экспериментаторов с позиций биоэтики является строгое соблюдение гуманных норм в обращении с лабораторными животными, включающих улучшение условий их содержания, кормления, сокращение числа животных в эксперименте, использование щадящих экспериментальных процедур и методов эвтаназии.

В заключительном слове доктор Р. Хубрехт выразил удовлетворение высоким профессионализмом докладчиков и глубоким пониманием проблем биоэтики, еще раз подчеркнул необходимость сотрудничества общественных организаций по защите животных и ученых, проводящих фармакологические и токсикологические исследования в области совершенствования условий содержания лабораторных животных.

Маслова Н.Ф., Никитина Н.С., Дзюба И.П.  
Государственный научный центр лекарственных средств

## Проблеми. Пошук. Рішення.

---

УДК 615.076

Жемерова Е.Г., Деркач Н.З., Дунай Е.В., Литкевич С.А.,  
Мирошниченко А.П., Шермухамедова О.Г., Поддубная Т.Л.  
Государственный научный центр лекарственных средств  
Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

### **Изучение пригодности метода мембранной фильтрации с использованием предфильтра для контроля микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств**

Экспериментально доказана возможность использования метода мембранной фильтрации с использованием предфильтра для контроля микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств. Доказана пригодность материала адсорбционных подложек для использования в качестве предфильтров.

Микробиологическая чистота является одним из показателей качества нестерильных лекарственных средств. В настоящее время требования по контролю микробиологической чистоты включены в ведущие Фармакопей мира (Европейская, Британская, США и др.), включены эти требования и в Государственную Фармакопею Украины (ГФУ) [1].

Существует три основных фармакопейных метода контроля микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств. Это метод прямого посева на чашки Петри (в Фармакопеях описаны различные модификации данного метода) и в жидкие питательные среды, метод наиболее вероятного числа и метод мембранной фильтрации. Следует отметить, что в соответствии с Европейской Фармакопеей метод наиболее вероятного числа используется только для определения общего числа жизнеспособных аэробных бактерий, и его применение допускается только в тех случаях, когда другие методы не могут быть использованы [2].

Метод прямого посева фактически является классическим микробиологическим методом, однако, существуют ограничения по его использованию при контроле микробиологической чистоты лекарственных средств. Основной причиной этого является тот факт, что многие лекарственные средства обладают антимикробным действием в условиях испытания на микробиологическую чистоту (например, около 50 % препаратов, поступивших на контроль в лабораторию микробиологических исследований ГНЦЛС и лабораторию фармакопейного анализа (группа микробиологического контроля) за последние несколько лет обладали антимикробным дей-

ствием в условиях испытания). Здесь речь идет не только о фармакологических группах препаратов антимикробного действия, таких, например, как антибиотики и химиотерапевтические средства; антимикробным действием в условиях испытания обладают лекарственные средства других фармакологических групп, например, нестероидные противовоспалительные средства, некоторые витаминные (например, аскорбиновая кислота), а также многие лекарственные средства, содержащие субстанции растительного происхождения [3]. При испытании микробиологической чистоты таких лекарственных средств необходимо осуществить нейтрализацию антимикробного действия, в противном случае полученные результаты испытания будут ошибочными. Для метода прямого посева самым простым методом нейтрализации антимикробного действия является метод разведений, однако, его использование ограничено тем, что при высокой степени разведения существенно возрастает погрешность определения числа бактерий и грибов, и уменьшается вероятность выявления отдельных видов микроорганизмов. Для нейтрализации антимикробного действия могут быть также использованы специфические или неспецифические инактиваторы. Специфические инактиваторы, однако, известны лишь для небольшого количества препаратов, например, пенициллиназа является специфическим инактиватором для антибиотиков пенициллинового ряда, пара-аминобензойная кислота — для сульфаниламидов [4]. Неспецифические инактиваторы чаще всего не позволяют существенно снизить антимикробную активность лекарственных средств, что требует

комбинировать метод инактивации с методом разведений и, следовательно, ведет к возникновению указанных выше проблем, характерных для метода разведений. Возрастающие погрешности определения числа бактерий и грибов, а также уменьшение вероятности выявления отдельных видов микроорганизмов в ряде случаев настолько существенно, что делает невозможным использование метода прямого посева для контроля микробиологической чистоты лекарственного средства.

Метод мембранной фильтрации, как метод контроля микробиологической чистоты, получил развитие в последние десятилетия. Метод основан на способности материала мембранных фильтров задерживать микробные клетки на своей поверхности. Если поместить мембранный фильтр вместе с задержанными им микроорганизмами на поверхность плотной питательной среды или в жидкую питательную среду, микроорганизмы дают видимый рост, что позволяет осуществлять подсчет колоний или проводить идентификацию выделенных микроорганизмов. Использование метода мембранной фильтрации дает возможность освободить микроорганизмы от воздействия лекарственного средства либо сразу после фильтрации, либо после дополнительного промывания мембранного фильтра подходящей промывной жидкостью, например, буферным раствором с натрия хлоридом и пептоном. Такой метод испытания позволяет нейтрализовать антимикробную активность многих, даже высоко активных лекарственных средств.

Метод мембранной фильтрации описан в ведущих Фармакопеех мира, однако, полнота его описания существенно отличается. Так, в Фармакопее США 23 издания, этот метод лишь упомянут как «спасательный круг» в тех случаях, когда невозможно нейтрализовать антимикробную активность препарата методом разведений или при помощи инактиваторов, но методика проведения испытания микробиологической чистоты с использованием данного метода не описана. Следует отметить, что такой подход был использован и в Государственной Фармакопее СССР XI издания (ГФ XI), в которой также отсутствовала методология испытания микробиологической чистоты методом мембранной фильтрации [5]. Именно этот факт и послужил одной из причин разработки в России Изменения к статье ГФ XI «Методы микро-

биологического контроля лекарственных средств» [6] и Дополнения № 1 Украины к общей статье Государственной Фармакопее СССР XI издания «Испытание на микробиологическую чистоту» [7]. В Европейской Фармакопее указаны основные моменты, которые следует учитывать при испытании лекарственных средств методом мембранной фильтрации, а также достаточно подробно описан сам метод. При этом методы мембранной фильтрации и прямого посева на чашки Петри являются равноправными, и согласно Европейской Фармакопее, любой из этих методов может быть применен для определения общего числа жизнеспособных аэробных микроорганизмов.

Метод мембранной фильтрации, в том виде, в каком он описан в Европейской Фармакопее, имеет ряд ограничений при использовании. Эти ограничения связаны в первую очередь с физическим состоянием анализируемых лекарственных средств. Нестерильные лекарственные средства можно разделить на следующие группы: твердые лекарственные средства (таблетки, гранулы, капсулы, рассыпки), мягкие (мази, гели, суппозитории), жидкие (растворы, сиропы, настойки), аэрозоли. Из этих лекарственных форм образец для анализа микробиологической чистоты может быть получен в форме истинного раствора для жидких ЛС, аэрозолей и очень небольшого числа твердых лекарственных средств. При анализе твердых и мягких лекарственных средств образец, как правило, получают в форме суспензии или эмульсии. Поскольку мембранные фильтры, применяемые для контроля микробиологической чистоты, имеют диаметр пор не более 0.45 мкм, образцы, полученные в форме суспензии или эмульсии, плохо поддаются фильтрации через такие фильтры. Как правило, образец либо вообще не удастся профильтровать, либо невозможно осуществить отмывание мембранных фильтров от лекарственного средства. Кроме того, твердые механические частицы, которые задерживаются на мембранном фильтре, препятствуют росту микроорганизмов на его поверхности и делают практически невозможным подсчет колоний. Таким образом, контроль микробиологической чистоты ЛС методом мембранной фильтрации (без дополнительных модификаций) возможен лишь для легко растворимых лекарственных средств. На практике это означает, что для тех препаратов, которые не ра-

створяются в воде, обладают высокой антимикробной активностью и не имеют специфических инактиваторов, контроль микробиологической чистоты невозможен.

Многолетний опыт работы в области микробиологического контроля, показывает, что даже те ЛС, в состав которых входят высоко активные антибиотики или химиотерапевтические средства, могут быть загрязнены микроорганизмами. Это особенно характерно для таблеток, покрытых оболочкой, капсул, сухих экстрактов и гранул. В этих случаях контаминация может происходить на стадии нанесения оболочек, наполнения капсул или сушки, т.е. тогда, когда антимикробные ингредиенты, входящие в состав препарата, не могут существенно снизить его микробную загрязненность. Таким образом, отсутствие возможности осуществления микробиологического контроля таких ЛС, может привести к поступлению на рынок некачественных препаратов.

Невозможность эффективно нейтрализовать антимикробное действие препарата является также непреодолимым препятствием при изучении эффективности антимикробных консервантов, т.к. не дает возможности произвести определение числа микроорганизмов в контаминированных образцах [1].

В Изменении к статье ГФ XI «Методы микробиологического контроля лекарственных средств» [6] была предложена модификация метода мембранной фильтрации, заключающаяся в использовании предварительной фильтрации испытуемого образца через материал, позволяющий эффективно задерживать механические частицы. Такая модификация позволяет использовать метод мембранной фильтрации для контроля нерастворимых лекарственных средств. Этот метод был включен и в Дополнение № 1 Украины к общей статье Государственной Фармакопеи СССР XI издания «Испытание на микробиологическую чистоту» [7]. В приведенных выше документах помимо описания метода были также предложены в качестве предфильтров некоторые материалы, в том числе предфильтры AP 15 производства фирмы «Миллипор».

Дальнейшие исследования, выполненные сотрудниками Центральной лаборатории по анализу качества лекарственных средств МЗ Украины показали, что предфильтры AP 15 практически полностью задерживают микроорганизмы и непригодны для использования

при контроле микробиологической чистоты [8]. Однако эти результаты, несомненно, имеющие большое практическое значение, были, на наш взгляд, не вполне корректно интерпретированы авторами. В своей работе авторы сделали вывод не только о непригодности исследованного материала, но и подвергли сомнению целесообразность применения метода мембранной фильтрации с использованием предфильтра, хотя полученные экспериментальные результаты не дают достаточных оснований для такого вывода.

В дополнении к методу мембранной фильтрации, описанному в Европейской Фармакопее, в национальной части ГФУ описан метод мембранной фильтрации с использованием предфильтра. Этот метод давно и успешно применяется во многих лабораториях Украины и России. Он позволяет решить ряд проблем микробиологического контроля и проконтролировать микробиологическую чистоту большого количества препаратов, для которых в противном случае контроль был бы попросту невозможен. Поэтому считаем, что введение этого метода в ГФУ не только не было ошибочным, но и открыло перед отечественными микробиологами новые возможности при проведении микробиологического контроля.

Действительно, достоверность результатов контроля микробиологической чистоты методом мембранной фильтрации с использованием предфильтров во многом зависит от материала предфильтра. Поскольку в ГФУ рекомендованные материалы не указаны, исследователю здесь предоставляется полная свобода выбора. Материал, использующийся в качестве предфильтра, должен удовлетворять двум основным требованиям: он должен эффективно задерживать механические частицы и при этом не задерживать микроорганизмы.

В лабораториях микробиологических исследований ГНЦАС и фармакопейного анализа (группа микробиологического контроля) наиболее часто в качестве предфильтров используются адсорбционные подложки фирмы «Миллипор». Эти подложки белого цвета, изготовленные из чистой целлюлозы, имеют номер по каталогу AP 10 (например, AP 10 047 00). Их можно приобрести в упаковках по 100 штук или в комплекте с мембранными фильтрами с гидрофобным ободком 6 мм (номер по каталогу НАЕР 047 АW) [9]. Несмотря на то, что производитель предпола-



гал для них иное применение, подложки чрезвычайно удобно использовать именно в качестве предфильтров. Они эффективно предохраняют мембранный фильтр от механических частиц, что было неоднократно подтверждено на практике при испытании микробиологической чистоты таблеток, капсул, мазей, гелей, суппозиторий и суспензий. Поскольку подложки входят в комплект мембранных фильтров, никакая отдельная дополнительная подготовка (например, стерилизация), для них не требуется.

Нами были проведены исследования пригодности указанного материала для использования в качестве предфильтра, а также пригодности методик контроля микробиологической чистоты методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра.

### *Экспериментальная часть*

#### *Материалы и методы исследования*

Исследования проводили на установке для мембранной фильтрации производства фирмы «Миллипор». Для проведения исследований использовали мембранные фильтры MF-типа производства фирмы «Миллипор» (номер по каталогу НАЕР 047 AW). В качестве предфильтров применяли адсорбционные подложки (absorbent pads), входящие в комплект указанных фильтров.

В качестве тест-микроорганизмов при проведении исследований были выбраны тест-микроорганизмы, рекомендованные ГФУ для проверки пригодности методики испытания на микробиологическую чистоту:

*Bacillus cereus* ATCC 10702

*Escherichia coli* ATCC 25922

*Staphylococcus aureus* ATCC 6538

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

*Candida albicans* ATCC 885-653

*Aspergillus niger* ВКПГf -156/7813.

Тест-штаммы бактерий были получены в ГИСК им. Л.А. Тарасевича, г. Москва, тест-штаммы грибов - в НИЛ глубоких микозов, г. Санкт-Петербург.

В работе использовали суточные культуры бактерий, 48 часовые культуры *S. albicans* и 7 суточные культуры *A. niger*. Подготовку тест-микроорганизмов для проведения исследований осуществляли в соответствии с требованиями ГФУ, 2.6.12.

При проверке пригодности предфильтров проводили определение числа КОЕ в суспензии монокультуры тест-микроорганизмов тремя методами: прямого посева, мембран-

ной фильтрации без использования предфильтра и мембранной фильтрации с использованием предфильтра. Для проведения исследований готовили исходную суспензию монокультуры каждого из тест-микроорганизмов в фосфатном буферном растворе pH 7.0, содержащую от 10 до 100 КОЕ/мл. Затем путем десятикратного разбавления исходной суспензии стерильным фосфатным буферным раствором готовили рабочую суспензию каждого из тест-микроорганизмов, содержащую от 1 до 10 КОЕ/мл. По 10 мл каждой рабочей суспензии пропускали через мембранный фильтр с предфильтром и мембранный фильтр без предфильтра. После окончания фильтрации мембранные фильтры помещали на поверхность плотной питательной среды в чашках Петри. В качестве питательных сред использовали питательные среды № 1 и № 2, описанные в национальной части ГФУ. Для определения точного числа микроорганизмов в 10 мл рабочей суспензии высевали по 1 мл соответствующей исходной суспензии прямым методом (двухслойный вариант) на чашки Петри с соответствующей плотной питательной средой. Проводили инкубацию посевов и подсчитывали число колоний, выросших на мембранных фильтрах и на плотной питательной среде.

В работе представлены данные, полученные 5 научными сотрудниками в разные дни в течение 7 месяцев. Для проведения исследований использовали не менее 5 партий мембранных фильтров и адсорбционных подложек. Число повторных экспериментов для каждого из тест-микроорганизмов составило от 4 до 9.

Для каждого тест-микроорганизма по результатам всех повторных экспериментов вычисляли среднее значение и стандартную ошибку числа КОЕ в 10 мл рабочей суспензии определенные каждым методом исследования.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы "Origin". Достоверность отличий средних значений КОЕ, полученных тремя методами, определяли при помощи теста ANOVA. Полученные экспериментальные результаты подчиняются нормальному закону распределения для всех тест-микроорганизмов, независимо от метода определения [10]. В работе принят уровень вероятности  $P < 0.05$ .

Проверку пригодности методик контроля микробиологической чистоты лекарственных средств методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра проводили в соответствии с требованиями ГФУ, 2.6.12. Подробное описание методики проверки и схемы исследования опубликованы ранее [11].

#### Результаты и их обсуждение

Оценку пригодности адсорбционных подложек для использования в качестве предфильтров при определении числа жизнеспособных микроорганизмов оценивали по двум основным критериям, указанным выше – эффективности удерживания механических частиц и эффективности пропускания микроорганизмов.

Было установлено, что адсорбционные подложки удерживают механические частицы, препятствуя их попаданию на мембранный фильтр. Использование данного материала в качестве предфильтра позволяло проводить фильтрацию образцов лекарственных средств в форме суспензий и эмульсий, а также осуществлять последующее отмывание мембранного фильтра после удаления или замены предфильтра.

Для оценки эффективности пропускания микроорганизмов проводили сравнительный анализ результатов определения числа тест-микроорганизмов в суспензии микроорганизмов, полученных методом прямого посева на чашки Петри, методом мембранной фильтрации без использования предфильтра и методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра. Средние значения числа КОЕ в 10 мл суспензии (по результатам всех проведенных экспериментов), определенные каждым из указанных методов, приведены в Табл. 1. Полученные эксперимен-

тальные данные свидетельствуют о том, что метод прямого посева, метод мембранной фильтрации без использования предфильтра и метод мембранной фильтрации с использованием предфильтра дают близкие результаты определения числа КОЕ в суспензии тест-микроорганизмов. Сравнительный анализ полученных данных показал, что для всех тест-микроорганизмов, использованных в эксперименте, отсутствуют статистически достоверные отличия средних значений числа КОЕ, определенных тремя указанными методами.

Для более точной оценки влияния предфильтров на результаты определения числа жизнеспособных клеток в суспензии тест-микроорганизмов для каждого тест-микроорганизма среднее число КОЕ в суспензии, определенное методом мембранной фильтрации без использования предфильтра и методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра, вычисляли в процентном отношении, принимая за 100 % среднее число КОЕ, определенное методом прямого посева. Анализ расчетных величин, приведенных в Табл. 2, показывает что несмотря на отсутствие статистически достоверных отличий между исходными экспериментальными результатами, для всех тест-микроорганизмов, использованных в эксперименте, относительное среднее число КОЕ, определенное методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра - менее 100 %.

Среднее число КОЕ, полученное методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра, относительно среднего числа КОЕ, полученного методом прямого посева составило от 81.6 % до 88.9 % для бактерий и 76.8 % и 62.4 % для грибов (*S. albicans* и *A. niger*, соответственно). Следует отметить,

Таблица 1

**Результаты определения числа КОЕ в суспензии микроорганизмов методами прямого посева, мембранной фильтрации и мембранной фильтрации с использованием предфильтра**

Тест-микроорганизм	Среднее число КОЕ, полученное различными методами			Число повторных опытов
	Прямой посев	Мембранная фильтрация без предфильтра	Мембранная фильтрация с предфильтром	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	55.4 ± 6.7	55.9 ± 8.5	45.2 ± 7.5	9
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	52.1 ± 7.7	58.3 ± 10.6	43.9 ± 8.2	9
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	25.3 ± 7.4	29.5 ± 12.1	22.5 ± 8.2	4
<i>B. cereus</i> ATCC 10702	30.8 ± 5.9	29.3 ± 5.3	26.7 ± 5.2	6
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	33.2 ± 5.7	30.7 ± 7.3	25.5 ± 4.6	6
<i>A. niger</i> ВКПГ f-156/7813	20.5 ± 4.6	15.7 ± 2.5	12.8 ± 1.9	7

Таблица 2

**Относительные значения числа КОЕ в суспензии микроорганизмов, полученные для метода мембранной фильтрации**

Тест-микроорганизм	Отношение числа КОЕ, полученного методом мембранной фильтрации, к числу КОЕ, полученному методом прямого посева, в процентах		Отношение числа КОЕ, полученного методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра, к числу КОЕ, полученному методом мембранной фильтрации без использования предфильтра, в процентах
	Мембранная фильтрация		
	без предфильтра	с предфильтром	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	100.9	81.6	80.6
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	111.9	84.3	74.3
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	116.6	88.9	76.3
<i>B. cereus</i> ATCC 10702	95.1	86.4	90.8
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	92.5	76.8	83.1
<i>A. niger</i> ВКПГf-156/7813	76.6	62.4	81.5
Все тест-микроорганизмы (среднее значение по всем опытам)	98.9	80.1	81.1

что для грибов среднее число КОЕ, определенное методом мембранной фильтрации без использования предфильтра, также было ниже числа КОЕ, определенного методом прямого посева. Процентное отношение среднего числа КОЕ, определенного методом мембранной фильтрации без использования предфильтра и методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра, составило, 83.1 % и 81.5 % для *C. albicans* и *A. niger*, соответственно.

Полученные экспериментальные результаты показывают, что адсорбционные подложки, при использовании их в качестве предфильтров, в среднем задерживают не более 20 % микроорганизмов. Такой результат соответствует критерию пригодности методики определения общего числа бактерий и грибов, приведенному в разделе 2.6.12 ГФУ, в соответствии с которым положительное заключение о пригодности методики принимают в случае, когда результаты, полученные в контроле и в опыте, отличаются не более, чем в пять раз.

Точность метода определения числа микроорганизмов путем подсчета на чашках Петри ограничена ошибками двух типов – ошибкой выборочного метода, возникающей вследствие случайного распределения микроорганизмов в суспензии, и технической ошибкой, обусловленной погрешностью измерений (например, объемов растворов) и влиянием оператора. С учетом указанной погрешности границы 95 % доверительного интервала для среднего числа колоний отстоят

от среднего значения на 21 % [12]. Таким образом, погрешность определения числа клеток в суспензии микроорганизмов методом мембранной фильтрации с предфильтром не превышает погрешности метода подсчета на чашках Петри.

Как было отмечено выше, исследования были выполнены в разные дни, разными экспериментаторами на 5 партиях адсорбционных подложек. Это исключает влияние на результаты эксперимента как субъективных факторов, связанных с оператором, так и неоднородности характеристик материала, и дает возможность утверждать, что полученные экспериментальные данные характеризуют не только отдельные образцы адсорбционных подложек, но и весь материал в целом.

Таким образом, результаты проведенных экспериментальных исследований позволяют сделать вывод о возможности применения метода мембранной фильтрации с использованием предфильтра для определения числа бактерий и грибов в суспензии микроорганизмов и о пригодности материала адсорбционных подложек для использования в качестве предфильтров.

При испытании микробиологической чистоты лекарственных средств методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра достоверность результатов испытания зависит не только от материала предфильтра, но и от ряда других факторов, таких как способ пробоподготовки, режим фильтрации и отмывания мембранных фильтров. Для каждого лекарственного средства долж-

на быть разработана методика испытания, учитывающая все эти факторы и соответствующая критерию пригодности методики, указанному выше. При этом при проверке пригодности должны быть учтены все факторы, которые могут повлиять на результаты испытания.

Нами было проведено изучение возможности применения метода мембранной фильтрации с использованием предфильтра для контроля микробиологической чистоты готовых лекарственных средств в форме капсул и крема, а также для нерастворимой субстанции. Все лекарственные средства обладали выраженным антимикробным действием, которое удалось устранить только методом мембранной фильтрации. При этом образец для проведения испытания представлял собой суспензию или эмульсию, не поддающуюся фильтрации через мембранный фильтр без предфильтра, однако использование предфильтра позволяло решить проблему фильтрации образца и осуществить последующее отмывание мембранных фильтров от лекарственного средства. Для каждого из лекарственных средств была разработана методика испытания, позволяющая полностью устранить антимикробное действие препарата.

В Табл. 3 приведены результаты, полученные при проверке пригодности методик определения общего числа бактерий и грибов

методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра. В таблице представлены данные только для тех тест-микроорганизмов, в отношении которых наблюдалось антимикробное действие препаратов.

Приведенные экспериментальные данные показывают, что для каждого из исследованных лекарственных средств результаты, полученные при подсчете каждого из тест-микроорганизмов в присутствии испытуемого образца (при определении методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра) и в отсутствие испытуемого образца (при определении методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра и без использования предфильтра) отличаются не более, чем в пять раз, что соответствует приведенному в ДФУ критерию пригодности методики испытания на общее число бактерий и грибов.

Таким образом, метод мембранной фильтрации с использованием предфильтра позволяет объективно оценивать как число КОЕ в суспензии микроорганизмов, так и общее число бактерий и грибов в лекарственных средствах, и может быть использован для контроля микробиологической чистоты лекарственных средств.

Таблица 3

**Результаты проверки пригодности методик определения микробиологической чистоты методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра**

Наименование препарата	Тест-микроорганизм	Число КОЕ на мембранном фильтре		
		В присутствии образца ЛС при фильтрации через мембранный фильтр с предфильтром	В суспензии тест-микроорганизмов при фильтрации через мембранный фильтр с предфильтром	В суспензии тест-микроорганизмов при фильтрации через мембранный фильтр без предфильтра
Капсулы экстракта артишока по 0.1 г	<i>B. cereus</i> ATCC 10702	18	17	21
	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	101	83	115
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	30	32	47
Мазь клотримазола	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	51	45	61
	<i>A. niger</i> ВКПГf-156/7813	17	26	34
Субстанция фуразолидон	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	13	28	25
	<i>A. niger</i> ВКПГf-156/7813	6	10	9

**Выводы**

1. Полученные экспериментальные результаты объективно доказывают, что описанный в ГФУ метод мембранной фильтрации с предфильтром может быть использован для контроля микробиологической чистоты готовых лекарственных средств.

2. Установлено, что адсорбционные подложки, входящие в состав мембранных фильтров НАЕР 047 АW производства фирмы «Millipore» (подложки AP 10), эффективно задерживают механические частицы и при использовании в качестве предфильтра, не создают существенных препятствий для попадания микроорганизмов на мембранный фильтр. Считаём возможным использовать адсорбционные подложки в качестве предфильтров при контроле микробиологической чистоты лекарственных средств методом мембранной фильтрации с использованием предфильтра.

3. При разработке новых методик контроля микробиологической чистоты решение о возможности применения метода мембранной фильтрации с использованием предфильтра для каждого лекарственного средства должно быть принято на основании проверки пригодности методики испытания в соответствии с требованиями ГФУ. При проверке пригодности должны быть учтены все факторы, которые могут повлиять на результаты испытания, в том числе и наличие предфильтра. Считаём, что дополнительные исследования, подтверждающие пригодность материала предфильтра, при этом не требуются.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-е вид. – Харків: РІПЕГ, 2001. – 556 с.
2. European Pharmacopoeia, 4<sup>th</sup> ed. – 2002. – P.133-136.
3. Гунар О.В., Каламова Н.И., Евтушенко Н.С. Определение антимикробного действия лекарственных средств - практические подходы // Фармация. - 2002. - С. 4-7.
4. United States Pharmacopoeia, XXIII ed.
5. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. - 11-изд., доп. - М.: Медицина, 1989. - 400 с.
6. Изменение к статье Государственной Фармакопеи СССР XI издания «Методы микробиологического контроля лекарственных средств». Утверждено 28 декабря 1995 г.
7. Дополнение № 1 к общей статье Государственной Фармакопеи СССР XI издания «Испытание на микробиологическую чистоту». Утверждено 25 декабря 1997 г.
8. Жерноклев В.Н., Тысячная О.В., Герасимчук Т.В. Изучение правильности метода определения микробиологической чистоты при помощи мембранной фильтрации с использованием предфильтров. // Фарматека. – 2002. - № 4. – С. 65-69.

9. Millipore Laboratory Catalogue 2001-2002. - Millipore Corporation or an affiliated company. -Bedford, MA. - 2001.
10. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
11. Жемерова Е.Г., Кобзарь А.И., Хованская Н.П. К вопросу контроля микробиологической чистоты лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ. Сообщение 1. Проверка пригодности методик определения общего числа жизнеспособных аэробных микроорганизмов. // Фармаком – 2002. - № 3. – С. 51-55.
12. Дж. Мейнелл, Э. Мейнелл. Экспериментальная микробиология. – М.: Мир, 1967 – 347 с.

**Резюме**

Жемерова К.Г., Деркач Н.З., Дунай О.В., Літкевич С. О., Мирошніченко А.П., Шермухамедова О.Г., Поддубна Т.Л.

**Вивчення придатності методу мембранної фільтрації з використанням передфільтра для контролю микробиологічної чистоти нестерильних лікарських засобів**

Експериментально доведена можливість застосування методу мембранної фільтрації із використанням передфільтра для контролю микробиологічної чистоти нестерильних лікарських засобів. Доведена придатність матеріалу адсорбційних підкладок для використання як передфільтрів.

**Summary**

Gemerova E.G., Derkach N.Z., Dunay E.V., Litkevitch S.A., Mirochnichenko A.P., Shermukhamedova O.G., Poddubnaya T.L.

**Study of suitability of membrane filtration method with the pre-filters usage for microbiological purity control of non-sterile drugs**

The possibility of membrane filtration method with the pre-filters usage for microbiological purity control of non-sterile drugs using was experimentally demonstrated. The suitability of adsorption substrate material for using as pre-filters was proved.

**Жемерова Екатерина Георгиевна.** Окончила Харьковский государственный университет (1985). И.о. зав. лабораторией микробиологических исследований ГНЦЛС (2002). Вед. науч. сотр. лаборатории фарманализа ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр».

**Деркач Надежда Зосимовна.** Окончила Мордовский государственный университет (1974). Работает в ГНЦЛС (с 1976). Мл. науч. сотр. лаборатории микробиологических исследований ГНЦЛС и лаборатории фарманализа ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр».

**Дунай Елена Вячеславовна.** Окончила Харьковский государственный университет (1996). Работает в ГНЦЛС (с 1996). Мл. науч. сотр. лаборатории микробиологических исследований ГНЦЛС.

**Литкевич Светлана Алексеевна.** Окончила Харьковский государственный педагогический институт (1971). Работает в ГНЦЛС (с 1980). Мл. науч. сотр. лаборатории микробиологических исследований ГНЦЛС и лаборатории фарманализа ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр».

**Мирошниченко Антонина Петровна.** Окончила Днепропетровский государственный университет (1993). Работает в ГНЦЛС (с 1993). Мл. науч. сотр. лаборатории микробиологических исследований ГНЦЛС и лаборатории фарманализа ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр».

**Шермухамедова Оксана Геннадьевна.** Окончила Харьковский государственный университет

(1990). Работает в ГНЦЛС (с 1994). Мл. науч. сотр. лаборатории микробиологических исследований ГНЦЛС и лаборатории фарманализа ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр».

**Погдубная Татьяна Леонидовна.** Окончила Харьковский медицинский институт (1981). Зав. баклабораторией СЭС Киевского района г. Харькова.

## Фітохімічні дослідження

УДК 582.736.3+547.918

Аммосов А.С., Литвиненко В.И.

Государственный научный центр лекарственных средств

### Природные тритерпеновые соединения родов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. et Mey. (обзор)

Впервые обобщены сведения о тритерпеновых соединениях растений близких между собой родов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. et Mey. Проведена биохимическая классификация соединений, рассмотрены вопросы хемосистематики тритерпеноидов, перспективы их изучения и применения.

В последние 50 лет возрос интерес к применяемому с древних времен и казалось бы хорошо изученному растению — солодке (лакричнику). Этот интерес постоянно поддерживается открытием новых ценных свойств препаратов «лакричного корня», динамизмом их применения. Всякий раз пик интереса приходится на время, связанное с новыми пионерскими исследованиями, касающимися изучения химии и фармакологического действия основных групп биологически активных веществ (БАВ) природных комплексов, обнаруженных в растениях солодки.

#### Постановка задачи

Цель настоящего сообщения — попытка критического обобщения и систематизация фактического литературного материала по природным тритерпеновым соединениям, выделенным к настоящему времени из растений родов солодки и раздельнолодочник.

Основные этапы изучения тритерпеновых соединений солодки кратко изложены ниже.

Одним из главных и ранее всех подвергнутых серьезному и всестороннему изучению был сапониновый (тритерпеновый) комплекс БАВ и его основной представитель — глицирризиновая кислота (ГК). Она привлекала внимание химиков разных поколений. Впервые в неочищенном виде ГК была выделена из корней солодки гладкой (голой) еще

в начале XIX века [1]. Очистить ее от примесей и получить в чистом виде пытались многие исследователи, но впервые это удалось лишь спустя столетие известному химику А. Чирху (A. Tschirch) с сотрудниками [2]. После работ А. Чирха глицирризиновая кислота была получена в чистом виде и другими учеными. К настоящему времени существует много способов и патентованных методов выделения и очистки ГК, получения из нее химических производных [3,4,5,6].

Первые попытки установления химического строения ГК также относятся к середине XIX века [7]. Тогда было доказано, что глицирризин — соль трехосновной органической кислоты, относящейся к гликозидам и распадающейся при гидролизе на агликон и углеводную часть. Позже А. Чирх с сотрудниками показал, что агликоном является одноосновная кислота, которую они назвали глицирретиновой (Гк), и доказал присутствие в ее молекуле двойной связи и двух функциональных групп, содержащих кислород.

Поворотным пунктом в изучении ГК явилось установление структуры основного углеводного скелета тритерпеноидов в конце 30-х годов XX века известным химиком L. Ruzicka с сотрудниками [8,9,10]. Получив чистую Гк и ряд ее эфиров, Ружичка с сотрудниками сравнил их брутто-формулы и пришел к выводу, что наиболее вероятна формула

$C_{30}H_{46}O_4$ , а также с помощью химических превращений доказал принадлежность Гк к производным  $\beta$  – амирина путем превращения ее в последний.

Это сразу же определило общий углеродный скелет глицирретиновой кислоты и показало положение гидроксигруппы у С-3 и двойной связи у С-12-С-13 ( $\Delta^{12}$ ), так как было уже известно положение этих групп в  $\beta$  – амирине. Нахождение в Гк  $\alpha$ ,  $\beta$  – ненасыщенной кетогруппы (карбонильной группы) определялось единственно возможным положением у С-11 атома в системе сопряжения кетогруппы с соседней двойной связью. Однако наиболее трудной задачей явилось доказательство местоположения карбоксильной группы. После ряда попыток Ruzicka и Jeger [8] показали, что карбоксильная группа находится в положении С-29.

Формула Гк была дополнительно доказана рядом других остроумных и изящных экспериментов, убедительно показавших, что глицирретиновая кислота – 3-гидрокси-11-кетолеан-12-ен-29-карбоновая кислота. Пространственная ориентация заместителей в формуле Гк далее изучалась в связи с обнаружением изомеров. Впервые два изомера Гк получили Ruzicka и Leuenberger [10]. Эти изомеры образуются при омылении эфиров Гк спиртами и при воздействии минеральных кислот. Так, стало известно, что изомеризация проходит с участием 18-Н-атома и стереоизомерные формы Гк также отличаются друг от друга его положением – 18Н- $\alpha$  (транс-) и 18Н- $\beta$  (цис-). Глицирретиновая кислота (глицирретовая), находящаяся в природном соединении – глицирризине, является 18Н- $\beta$ -изомером. Было установлено, что кроме 18Н-атома, при изомеризации происходит изменение положения СООН-группы (карбоксильной группы), то есть она может быть при С-29 и С-30. Это положение дает возможность выделения из растений различных изомерных производных [40].

При сравнении скоростей гидролиза метиловых эфиров 18- $\beta$ -Гк и 18- $\alpha$  -Гк оказалось, что первая гидролизуется труднее. На этом основании Beaton и Spring [11] сделали вывод об аксиальной ориентации ( $\alpha$ -ориентация,  $\beta$ -положение) карбоксильной группы в Гк и ее экваториальной ориентации по отношению к оси симметрии в 18  $\alpha$  – Гк. Замедление скорости гидролиза вызывается большими пространственными затруднениями в случае аксиальной ориентации. Изучение углевод-

ной части ГК, образующей в целом глицирризиновую кислоту, показало, что она представляет собой глюкуронидо-глюкуронид с  $\beta, \beta$ -конфигурацией, присоединенный к Гк через 3-гидроксигруппу.

ГК представляет собой прозрачные бесцветные кристаллы, легко растворимые в этаноле, ацетоне, частично растворимые в воде, не растворимые в эфире, хлороформе. ГК легко образует соли с ионами металлов и аммонием. Самая распространенная ее соль: глицирризинат аммония – глицирам. Соли щелочных металлов растворимы в воде, а соли тяжелых металлов не растворимы и легко разлагаются сероводородом с образованием свободной глицирризиновой кислоты, и это свойство часто используется при очистке ГК. Из водных растворов солей ГК легко осаждается разведенными минеральными кислотами, тогда как органические кислоты не способны ее осаждать.

Следующим этапом в изучении тритерпеноидов солодки были 50-60-е годы XX века. Этот этап был вызван обнаружением ценных свойств препаратов солодкового корня – дезоксикортикостероидоподобного действия и противоязвенной активности. Было установлено, что это действие обусловлено глицирризиновой кислотой. С этих пор зарубежные и отечественные исследователи начали активно изучать тритерпеновый состав представителей и других видов рода *Glycyrrhiza* L. и близкого к нему рода *Meristotropis* Fisch. et Mey. (раздельнолодочник). Следует отметить, что сам род солодка по анатомо-морфологическим и химическим признакам (по составу тритерпеноидов) был поделен Кругановой Е.А. на две секции: настоящих и ложных солодок *Euglycyrrhiza* Boiss. и *Pseudoglycyrrhiza* (Regel.) Krug [12].

### Результаты и их обсуждение

В этом сообщении предпринята попытка обобщения и классификации обширного фактического материала по химической структуре тритерпеноидов и их сродства с использованием элементов известной химической классификации природных тритерпеноидов [108] и более глубокой дифференциацией химических особенностей.

1) Представленные соединения сведены в классификационную таблицу (Табл. 1), основные структурные формулы - в Табл. 2.

2) По результатам представленного обобщения и в свете последних представлений высказаны некоторые соображения по хемо-

систематике тритерпеноидного состава для видов этих двух близких между собой родов.

3) Показаны перспективы изучения и практического использования выделенных тритерпеноидов.

Следует отметить, что все виды секции настоящих солодок (с. голая, с. уральская, с. Коржинского, с. вздутая и с. шиповатая) характеризуются, как правило, наличием тритерпеновых соединений  $\beta$ -амиринового ряда, то есть производных ГК и Гк.

С середины 60-х годов XX века отечественные исследователи в видах ложных солодок и видах рода раздельнолодочник обнаружили новые пентациклические тритерпеновые кислоты  $\beta$ -амиринового ряда с сопряженной системой двойных связей в основном ядре. В видах настоящих солодок основными являются производные ГК и Гк с наличием только одной двойной связи в молекуле ядра. Хотя в последнее время при выделении минорных тритерпеновых соединений в видах настоящих солодок (например, с. уральская) обнаружены и тритерпеновые диены [18, 68], тогда как обнаруженная трифилловая кислота, выделенная из р. тройчатоллистного, содержит одну двойную связь [19].

Установлению окончательной структуры новых выделенных соединений предшествовал продолжительный дискуссионный период как среди отечественных, так и среди зарубежных исследователей [20, 23]. В Табл. 1 и Табл. 2 приведены структуры последних вариантов и все известные литературные ссылки, начиная с пионерских.

Так, при химическом изучении тритерпеновых соединений трех видов ложных солодок (с. македонской, с. щетинистой и с. бледноцветковой, а также р. бухарского) в корнях были обнаружены общие для этих видов тритерпеновые кислоты — мацедониковая (64), эхинатова (53). Меристотроповая кислота (57) обнаружена в видах с. македонской, с. бледноцветковой и р. бухарского, р. тройчатоллистного. Кислоты изомацедониковая (54), изоэхинатова (65) были выделены из корней с. щетинистой и с. македонской, а кислоты изомеристотроповая (50), оксимеристотроповая (58) и трифилловая (48) — из подземных органов р. тройчатоллистного.

В результате этих исследований было установлено высокое содержание (до нескольких процентов) меристотроповой, мацедониковой и эхинатовой кислот в подземных органах этих видов.

В видах настоящих солодок доминируют ГК (глицирризин) и ее агликон Гк, наличие которых в подземных органах с. голой, с. уральской и с. Коржинского достигает 10-15 % и выше - это основные соединения. В небольшом количестве есть и другие тритерпеноиды - минорные соединения [18, 68].

### Классификация и структура тритерпеноидов

Выделенные из видов родов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. et Mey. тритерпеноиды по биохимической классификации нами были распределены в порядке усложнения структур и по элементам классификации: ряд, тип, подтип, класс.

### Пентациклические тритерпеноиды

Тип  $\Delta^{12}$  олеанен, подтип 11-оксо-олеан-12-ен спирты: глицирретол (01);

29-СООН кислоты: глицирретовая (02), ликвиритиновая (10), 24-гидроксиглицирретинавая (11), глабровая (12);

30-СООН кислоты: глицирретинавая (02), 18 $\beta$ -гидроксиглицирретинавая (03), 18  $\alpha$ -глицирретинавая (ураленовая) (04), 18  $\alpha$ -гидроксиглицирретинавая (глабриковая) (05), глабриновая (06), 24-гидроксиглицирретинавая (07), ликвориковая (08), 28-гидроксиглицирретинавая (09), 18,19-дегидроглицирретинавая (гидеринин) (13);

лактоны: глабролид (уранолид) (14), 24-гидроксиглабролид (15), изоглабролид (16), 21 $\alpha$ -гидроксиизоглабролид (17), глиуранолид (18);

монозиды (моно- и бигликозиды): глицирризиновая кислота (19), ураленовая кислота (20), уралсапонин А (21), уралсапонин В (22), ликорица-сапонин Н<sub>2</sub> (23), ликорица-сапонин С<sub>2</sub> (24), апиоглицирризин (25), арабоглицирризин (26);

бисдесмозиды (дигликозиды): ликорица-сапонин А<sub>3</sub> (27);

лактон-гликозиды: ликорица-сапонин Е<sub>2</sub> (28);

метилловые эфиры кислот: глицирретинавой (29), 3-ацетоксиглицирретинавой (30), 24-гидроксиглицирретинавой (31), ликвориковой (32).

Всего представлено 32 соединения 8 классов.

Тип  $\Delta^{12}$  олеанен, подтип 11-гезоксо-олеан-12-ен

спирты:  $\beta$ -амирин (33), соясапогенол В (34);

28-СООН кислоты: олеаноловая (36);



29-СООН кислоты: ликвиритидоловая (39);  
30-СООН кислоты: 11-дезоксоглицирретин-  
 новая (36), 24-гидрокси-11-дезоксоглицирре-  
 тинновая (37), 21,24-дигидрокси-11-дезоксогли-  
 цирретинновая (глиюннансапогенин В) (38);

лактоны: 11-дезоксоглабролид (40);

монозиды (моно- и бигликозиды): ликори-  
 ца-сапонин В<sub>2</sub> (11-дезоксоглицирризин) (41),  
 ликорица-сапонин J<sub>2</sub> (42), ликорица-сапонин  
 D<sub>3</sub> (43), ликорица-сапонин L<sub>3</sub> (44);

лактон-гликозиды: ликорица-сапонин F<sub>3</sub>  
 (45);

эфиры кислот: метиловый эфир 24-гидро-  
 кси-11-дезоксоглицирретинновой кислоты (46).

Всего представлено 14 соединений 7 классов.

Тип олеанановый, подтип олеан-12-ен  
кислоты: глиюннансапогенин А (47), трифил-  
 ловая кислота (48).

Тип олеанановый, подтип олеан-13-ен  
спирты: соединение S – 12 (49).

Тип олеаненовый (гомоаннулярные диены),  
подтип 22-оксо-олеан  $\Delta^{9(11),12}$ -диены

29-СООН кислоты: изомеристотроповая  
 (50);

Тип олеаненовый (гомоаннулярные диены),  
подтип 22-дезоксо-олеан  $\Delta^{11(13),12}$ -диены

30-СООН кислоты: соединения (51, 52);  
29-СООН кислоты: эхинатовая (53), изома-  
 цедониковая (54);

монозиды: сапонин В (55).

Всего представлено 6 соединений 3 классов.

Тип олеаненовый (гетероаннулярные диены),  
подтип 22-оксо-олеан  $\Delta^{11,13(18)}$ -диены

спирты: сквасапогенол (56);

29-СООН кислоты: меристотроповая (57),  
 оксимеристотроповая (58);

лактоны: ураленолид (59);

монозиды: сапонин (60), меристоропо-  
 зид (61).

Всего представлено 6 соединений 4 классов.

Тип олеаненовый (гетероаннулярные диены),  
подтип 22-дезоксо-олеан  $\Delta^{11,13(18)}$ -диены

30-СООН кислоты: соединения (62,63);

29-СООН кислоты: мацедониковая (64),  
 изоэхинатовая (65);

монозиды: ликорица-сапонин С<sub>2</sub> (66), ма-  
 цедонозид С (67), сапонин А (68), ликорица-  
 сапонин К<sub>2</sub> (69);

бисдесмозиды (дигликозиды): глиюннанп-  
 росапогенин D (70);

метиловые эфиры 30-СООН кислот: со-  
 единения (71,72);

эфиры 29-СООН кислот: метиловый эфир  
 меристотроповой кислоты (73), метиловый  
 эфир мацедониковой кислоты (74), метило-  
 вый эфир 21-дегидромацедониковой кислоты  
 (75), метиловый эфир паллидифлориковой  
 кислоты (76).

Всего представлено 15 соединений 6 классов.

Необозначенные по структуре: юнганозиды  
 А1, В1, С1, D1, E2, F2 (77,78,79,80,81,82); гли-  
 юннансапогенин F (83).

Всего представлено 7 соединений.

Тип лупеоловый

спирты: лупеол (84);

карбоновые кислоты: бетулиновая кисло-  
 та (85).

Всего представлено 2 соединения.

**Тетрациклические тритерпеноиды**

Тип стеринны: 22,23-дигидростигмастерин (86)

Тип метилстеринны:  $\beta$ -ситостерин (87).

Всего представлено 2 соединения.

**Соли тритерпеновых кислот**

Тип нативная соль: глицирризин (К, Mg, Na-  
 соль глицирризиновой кислоты) (88).

В качестве многочисленных полусинтети-  
 ческих производных ГК и Гк приводим не-  
 сколько основных и распространенных.

Тип полусинтетическая соль: глицирризиат  
 аммония или 6<sup>1</sup>-моноаммоний глицирризинат  
 (глицирам) (89), глицирренат калия (эноксо-  
 лон калия) (90), карбеноксолон натрия (91),

Диеновое производное Гк: глдеринин (92)  
 или (13).

После продолжительной дискуссии по по-  
 воду местонахождения иона аммония в гли-  
 цираме пришли к обоснованному выводу о  
 его нахождении в карбоксильной группе од-  
 ной из молекул глюкуроновой кислоты (при  
 С-6<sup>1</sup>), а не в карбоксильной группе тритерпе-  
 ного ядра (при С-30) [113,114], а также  
 бета-бета связей между глюкуроновыми кис-  
 лотами и углеводной частью - агликоном  
 [113]. Выпускаемый за рубежом карбеноксо-  
 лон натрия представляет собой динатриевую  
 соль глицирретинновой кислоты и янтарной  
 кислоты, у которой один ион натрия находит-

ся в карбоксильной группе при С-30, а второй ион - в концевой карбоксильной группе янтарной кислоты, присоединенной к ядру молекулы тритерпеноида по С-3 [115]. У энколсона калия ион калия находится в карбоксильной группе у С-30 [114].

Интересны сообщения, уточняющие конфигурацию колец тритерпеноидного ядра у 18 Н - альфа и 18 Н- бета изомеров Гк и ГК и их биологическую активность, например, в работах [117,118].

В последнее время появились работы, связанные с явлением мицеллообразования (так называемые ассоциаты) глицирризиновой кислоты, то есть получение межмолекулярных образований молекул ГК за счет водородных связей, образующихся в концевых карбоксильных группах молекулы глюкуроновой кислоты одной молекулы ГК с другой молекулой ГК у С-30. Это придает ассоциату клатратные свойства для включения различных молекул, например, различных лекарственных веществ — природных (флавоноидных) [119] и синтетических [5].

Части молекулы ГК обладают различными свойствами: гликозидная часть — гидрофильными за счет глюкуроновой кислоты, а агликон (Гк) - гидрофобными. Поэтому обе молекулы ГК и Гк обладают большими потенциальными возможностями при образовании различных молекулярных комплексов с различными молекулами вводимых веществ и служат источником получения модифицированных лекарственных препаратов [4-6].

Таким образом, в данном сообщении обобщено и представлено 88 индивидуальных природных тритерпеноидных соединения, выделенных к настоящему времени из растений родов солодка и раздельнолодочник, что дает возможность сделать некоторые хемосистематические предположения по местоположению рассмотренных видов внутри родов семейства бобовых.

#### *Хемосистематика солодки ( по тритерпеноидам )*

Представленная Кругановой Е.А. ботаническая система родов солодка и раздельнолодочник, в которой род солодка разделен на две секции - настоящие и ложные солодки, а род раздельнолодочник выделен самостоятельным родом, отличается от описания этих родов во Флоре СССР. В своей основе такое разделение базировалось, кроме морфологических, и на химических (по тритерпеноидам) особенностях. В качестве химического

признака было выбрано нахождение или отсутствие в подземных органах этих таксонов глицирризина [12]. Наши представления совпадают с системой, предложенной Кругановой Е.А.

Следует отметить, что в свое время авторы обработки этих двух родов во Флоре СССР Васильченко И.Т. и Григорьев Ю.С. [110] указывали на близость этих родов и целесообразность их объединения после дополнительных исследований на большем фактическом материале. Однако спустя более полувека вопрос этот всё ещё остается открытым и дискуссионным.

Так, с точки зрения отечественных исследователей тритерпеноидов, выделенных из видов секции ложных солодок и раздельнолодочника, следует род раздельнолодочник объединить в одну систему с видами секции ложных солодок [39]. Аргументами в пользу объединения эти авторы считают наличие преобладающих по содержанию в видах ложных солодок и раздельнолодочника общих меристотроповой, мацедониновой и эхинатовой кислот. Эти кислоты отсутствуют в видах секции настоящие солодки [23, 77]. Хотя в известной нам недавней работе японские исследователи выделили из корней с.уральской тритерпеновый гликозид — ликорица-сапонин С<sub>2</sub>, агликоном которого является гетероаннулярный диен типа Δ<sup>11,13(18)</sup>олеанен - (3β-олеан-11,13(18)-диен-30-овая кислота) - минорное соединение. Такие соединения ранее обнаруживали и отечественные исследователи в с.голой и с.уральской [72,76,77] в минорных количествах.

Таким образом, всё же подтверждается четкое разделение видов солодки на две секции: настоящие, содержащие глицирризин, и ложные, содержащие другие тритерпеновые кислоты β-амиринового ряда. Пентациклические тритерпеноиды, в том числе глицирретиновая кислота, в своём структурном ядре имеет только одну двойную связь, тогда как тритерпеноиды ложных солодок и раздельнолодочника - гомо- или гетероаннулярные диены с двумя двойными связями.

В этом находит экспериментальное подтверждение и гипотеза, выдвинутая в своё время Кирьяловым Н.П. [23] о возникновении видов секции ложных солодок на Земле раньше, чем видов, относимых к секции настоящих солодок. Хотя и здесь есть пока одно исключение - трифилловая кислота, выделенная только из раздельнолодочника тройчато-

лиственного и содержащая в своём ядре одну двойную связь. Ботаники-систематики склонны считать виды раздельнолодочника молодой ветвью, отходящей всё же от с.голой, нежели от с.македонской или с.щетиной [39,120,121]. Так, автор работы [120] на основании проведенных исследований по репродуктивной биологии и кариологии 10 видов рода *Glycyrrhiza* L. и 3 видов рода *Meristotropis* Fisch. et Mey. уточнил систематическое положение и филогенетические связи отдельных таксонов и рассмотрел возможные пути эволюции видов названных родов. Очевидно, наиболее древними видами являются предковые виды: *G.pallidiflora* Maxim., *G.echinata* L., *G.macedonica* Boiss. et Oph., от которых ведут свое начало существующие представители этих двух родов. Таким образом, виды секции *Pseudoglycyrrhiza* являются более примитивными, что показывает нахождение у них в большом количестве и разнообразии тритерпеноидов диеновой структуры по данным, приведенным и в нашем сообщении. Автор другой работы [121] так представляет себе формирование этих двух родов: первичный прародительский материал солодок формировался уже в палеогеновый период. Это первичные *Protoglycyrrhizae*. Возможно, уже в начале неогена началась дифференциация первичного материала и становление видов секций настоящих и ложных солодок. Автор полагает, что североафриканская *G.foetida* Desf., восточносредиземноморская *G.foetidissima* Tausch (*G.macedonica* L.), дальневосточная *G.pallidiflora* Maxim. и североамериканская *G.lepidota* (Nutt.) Purch. в определенной степени близки к первичным *Protoglycyrrhizae*. С неогеновой миграцией первичных солодок автор связывает формирование *G.lepidota* (Nutt.) Purch. Возможно, в какой-то связи с ней находится южноамериканский вид *G.astragalina* Gill. Что же касается еще одного вида из Австралии — *G.acanthocarpa* (Lindl.) I.M. Black., он, по-видимому, занесен давно из Китая и близок к *G.pallidiflora* Maxim. В умеренных широтах Центральной Азии в эпицентре первичных солодок в середине неогена шла консолидация видов секции *Glycyrrhiza* (*Euglycyrrhiza*) и дифференциация западной и восточной популяции, давшая соответственно *G.glabra* L. и *G.uralensis* Fisch. Четвертичный период, стал временем встречи популяций: «западной» - с.голой и «восточной» - с.уральской, в результате их значительных миграций

в степной зоне. В результате образовался отдельный вид — *G.korshinskyi* Grig. и молодые производные с.голой и с.уральской — представители аридных районов *G.aspera* Pall. и *G.inflata* Batal., а также, возможно, недавно описанные 2 вида из Китая — *G.yunnanensis* Cheng f. et L.K.Tai и *G.eurycarpa* P.C.Li. Два последних по представленным нами данным все же ближе к видам ложных солодок (по нахождению в них диеновых структур). Таким образом, в этих родах до настоящего времени, по-видимому, идут интенсивные процессы видо- и формообразования (естественный отбор и гибридизация).

На наш взгляд, в этом вопросе следует исходить как из биологии (морфологии) видов, так и из химического состава видов. Поэтому, рассматривая химию тритерпеноидов солодки и раздельнолодочника, необходимо учитывать не только структурные особенности, но и количественное содержание этих соединений по видам растений (основные или минорные). Тогда, принимая во внимание все составляющие, анализируя и сопоставляя, можно прийти к тому или иному окончательному выводу.

В данном случае здесь уместно привести несколько интересных обобщающих положений по поводу общей роли тритерпеновых гликозидов в систематике и эволюции цветковых растений, изложенных в недавно опубликованной работе известных отечественных фитохимиков [41].

Авторы работы рассматривают биосинтез тритерпеновых гликозидов как один из характерных аспектов биохимической специализации цветковых растений и предлагают биогенетическую схему классификации тритерпеноидов, основанную на 4-х видах стереохимических особенностей тритерпенового скелета, образуемого из молекулы сквалена, как основного фрагмента тритерпеноидного ядра. В зависимости от структуры циклической части скелета и их стереохимии тритерпеноиды ими поделены на 8 типов: олеанан, лупан, даммаран, лимонид, гопан, циклоартан, кукурбитацины и стероиды.

Приведены обобщенные данные по распространению тритерпеноидных гликозидов (ТТГ) в подклассах цветковых растений по ботанической системе, принятой в настоящее время [111,112].

Наиболее часто встречаются пентациклические системы олеананового типа: в различных модификациях они фигурируют в 77 се-

мействах, относящихся к 37 порядкам, в том числе, в подклассе Rosidae, семействе Fabaceae. В этом семействе обнаружено три типа тритерпеноидов: циклоартан, олеанан и лупан. При этом наблюдается ряд закономерностей распределения ТТГ таксономического и эволюционного характера. Так, интересую-

щая нас в солодке олеанановая структура встречается во всех подклассах цветковых растений, и как хемотаксономический признак из-за своей большой завершенности (окончателности) уже неинформативна. Вторая по распространению в цветковых растениях и недавно найденная в солодке [42]

Таблица 1

**Биохимическая классификация тритерпеновых соединений, выделенных из видов родов солодка и раздельнолодочник**

№	Тривиальное название соединения	Химическое название соединения	Ботанический вид, часть растения														Литература
			Род солодка											Род раздельнолодочник			
			Секция настоящие					Секция ложные						Новые			
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	

**Пентациклические тритерпеноиды**

Олеанановый ряд

Тип:  $\Delta^{12}$ олеанен

Подтип: 11-оксо-олеан-12-ен

Класс: спирты

01	глицирретол	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,30-диол-11-он	к																[51]
----	-------------	--------------------------------------	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------

Класс: карбоновые кислоты

02	глицирретиновая(глицирретовая)	олеан-12-ен-3 $\beta$ -ол-11-он-30-овая (Гк) (олеан-12-ен-3 $\beta$ -ол-11-он-29-овая)	к	к	к		к												[7,47,58,70]
03	18 $\beta$ -гидрокси-глицирретиновая	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,18 $\beta$ -диол-11-он-30-овая	к																[50]
04	18 $\alpha$ Нглицирретиновая (ураленовая)	олеан-12-ен-3 $\beta$ -ол-18 $\alpha$ Н-11-он-30-овая	кТ	к	х														[59-61]
05	18 $\alpha$ -гидрокси-глицирретиновая (глабриковая)	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,18 $\alpha$ -диол-11-он-30-овая	к																[61,63]
06	Глабриновая	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,26-диол,18 $\alpha$ Н -11-он-30-овая	к																[61,63]
07	24-гидрокси-Гк	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,24-диол-11-он-30-овая	к	к	к														[52,83]
08	Ликвориковая	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,21 $\alpha$ -триол-11-он-30-овая	к																[62]
09	28-гидрокси-Гк	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,28-диол-18 $\beta$ Н11-он-30-овая	к																[64]
10	Ликвиритиновая	олеан-12-ен-3 $\beta$ -ол,18 $\alpha$ Н-11-он -29-овая	к																[48]
11	24-гидроксили квиритиновая	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,24-диол,18 $\alpha$ Н -11-он-29-овая	к																[53]
12	Глабровая	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,21 $\alpha$ -диол-11-он-29-овая	к																[66]
13	18,19-дегидро-глицирретиновая	олеан-12-ен-3 $\beta$ -ол-18,19-дегидро-11-он-30-овая	к																[60]

Класс: лактоны

14	Глабролид (уранолид)	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,22 $\beta$ -диол-11-он-30-овая, 30:22 лактон	к	к		к	к											[47,54]
15	24-гидрокси-глабролид	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,22 $\beta$ ,24-триол-11-он-30-овая,30:22 лактон	к															[55]
16	изоглабролид	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,18 $\alpha$ -диол-11-он-29-овая, 29:18 лактон	к															[49]
17	21 $\alpha$ - гидроксизоглабролид	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,18 $\alpha$ ,21 $\alpha$ -триол-11-он-29-овая, 29:18 лактон	к	к														[51]
18	Глиуранолид	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,22 $\alpha$ -диол-11-он-27 $\alpha$ метилкарбонил 29-овая, 29:22- лактон	к															[56]

Класс: монозиды (моно- и бигликозиды )

19	Глицирризиновая ГК	олеан-12-ен-11-он-3 $\beta$ -0-( $\beta$ -D-глюкуронил -1 $\rightarrow$ 2- $\beta$ -D-глюкуро-ронид)- 30-овая	к	к	к	к	к											[23,57, 58]
20	Ураленовая	олеан-12-ен-11-он-3 $\beta$ -0-(3 <sup>II</sup> уроновые к-ты)	к															[59]
21	Уралсапонин А	олеан-12-ен-11-он-3 $\beta$ -0-( $\beta$ -D-глюкуронил-1 $\rightarrow$ 2- $\beta$ -D-глю куронид)- 30-овая	к															[58]
22	Уралсапонин В	олеан-12-ен-11-он-3 $\beta$ -0-( $\beta$ -D- глюкуронил-1 $\rightarrow$ 3 - $\beta$ -D-глюкуронид)- 30-овая	к															[58]
23	Ликорица-сапонин Н <sub>2</sub>	олеан-12-ен-11-он-3 $\beta$ -0-( $\beta$ -D-глюкуро-ронил-1 $\rightarrow$ 2 - $\beta$ -D-глюкуронид)-29-овая	к															[18]
24	Ликорица-сапонин G <sub>2</sub>	олеан-12-ен-11-он-3 $\beta$ ,21-ди -ол-3-0- ( $\beta$ -D-глюкуронил -1 $\rightarrow$ 2 - $\beta$ -D-глюкуронид)-30-овая	к															[18]
25	Апиоглицирризин	олеан-12-ен-11-он-30-овая, 3 $\beta$ -0-[ $\beta$ -D-апиофуранозил- (1-2) $\beta$ -D-глюкопиранозид]	к			к												[70]
26	Арабглицирризин	олеан-12-ен-11-он-30-овая, 3 $\beta$ -0- [ $\alpha$ -L-арабинопиранозил(1-2)- $\beta$ -D-глюкопиранозид]	к			к												[70]

Класс: бисдесмозиды ( дигликозиды)

27	Ликорица-сапонин А <sub>3</sub>	олеан-12-ен-11-он- 30-овая, 3 $\beta$ -0- ( $\beta$ -D-глюкуро-нил-1 $\rightarrow$ 2- $\beta$ -D-глюкуро-нид)-30- $\beta$ -D-глюкозид	к															[68]
----	---------------------------------	---	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------

Класс: лактон-гликозиды

28	Ликорица-сапонин E <sub>2</sub>	олеан-12-ен-11-он-22 $\beta$ -ол, 30:22 $\beta$ -лактон,3-0-( $\beta$ -D-глюкуронил-1 $\rightarrow$ 2- $\beta$ -D-глюкуронид)	к															[18]
----	---------------------------------	---	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------

## Класс: сложные эфиры тритерпеновых кислот

29	Метилвый эфир глициретиновой	олеан-12-ен-11-он-3 $\beta$ -ол,30-метоксикарбонил, 30-овая	к																	[54,72, 83]
30	Метилвый эфир 3-ацетокси Гк	олеан-12-ен-11-он-3 $\beta$ -ацетокси-30-метоксикарбонил, 30-овая	к																	[73]
31	Метилвый эфир 24-гидрокси-Гк	олеан-12-ен-11-он-3 $\beta$ , 24-диол 30-метоксикарбонил, 30-овая	к																	[73]
32	Метилвый эфир ликвориновой к-ты	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,21 $\alpha$ -триол-11-он-30-метоксикарбонил, 30-овая	к																	[73]

Подтип: 11-дезоксо-олеан-12-ен

## Класс: спирты

33	$\beta$ - Амирин	олеан-12-ен-3 $\beta$ -ол	к																	[73]
34	Соясапогенол В	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,22 $\alpha$ ,24-триол											к							[42]

## Класс: карбоновые кислоты

35	Олеаноловая	олеан-12-ен-3 $\beta$ -ол-28-овая								к										[47]
36	11-дезоксоглицирретовая	олеан-12-ен-3 $\beta$ -ол-30-овая	к																	[89]
37	24-гидрокси-11-дезоксоглицирретовая	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,24-диол-30-овая	к																	[52]
38	21,24-гидрокси-11-дезоксо-Гк (глиюннансапогенин В)	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,21,24-триол-30-овая													к					[74]
39	Ликвидиоловая	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,21 $\alpha$ ,24-триол-29-овая	к																	[53]

## Класс: лактоны

40	11-дезоксо-глаголид	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,22 $\beta$ -диол-30-овая,30:22 лактон	к																	[42]
----	---------------------	--	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------

## Класс: монозиды (моно- и бигликозиды)

41	Ликорица-сапонин В <sub>2</sub>	олеан-12-ен-3 $\beta$ -0- ( $\beta$ -D-глюкуронил -1 $\rightarrow$ 2- $\beta$ -D-глюкуронил)- 30-овая	к																	[68]
42	Ликорица-сапонин J <sub>2</sub>	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,24-диол-30-овая,3 $\beta$ -0- ( $\beta$ -D-глюкуронил -1 $\rightarrow$ 2- $\beta$ -D-глюкуронил)	к																	[18]
43	Ликорица-сапонин D <sub>3</sub>	олеан-12-ен-22 $\beta$ -ацетокси-3 $\beta$ -0- (D-глюкуронил-1 $\rightarrow$ 2- $\beta$ -D-глюкуронил-1 $\rightarrow$ 2- $\alpha$ -L-рамнозил)- 30-овая	к																	[18]
44	Ликорица-сапонин L <sub>3</sub>	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,24-диол-22 $\beta$ -ацетокси-30-овая,3-0-( $\alpha$ -L-рамнозил-1 $\rightarrow$ 2- $\alpha$ -L-арабинозил-1 $\rightarrow$ 2- $\beta$ -D-глюкуронил)	к																	[71]

## Класс: лактон-гликозиды

45	Ликорица-сапонин F <sub>3</sub>	олеан-12-ен-3 $\beta$ ,22 $\beta$ -диол, 30:22-лактон, 3-0-( $\alpha$ -L-рамнозил-1 $\rightarrow$ 2- $\beta$ -D-глюкуронил-1 $\rightarrow$ 2- $\beta$ -D-глюкуронил)	к																	[18]
----	---------------------------------	--	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------

Класс: сложные эфиры тритерпеновых кислот

46	Метиловый эфир 24-гидрокси-11-дезоксо-Гк	олеан-12-ен-3β,24-диол-30-метоксикарбонил, 30-овая	к																			[73]
----	--	--	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------

Тип: олеанановый  
Подтип: олеан-12-ен

Класс: карбоновые кислоты

47	Глионнансапогенин А	олеан-12-ен-16-он-3β,24-диол-29-овая																		к					[74]
48	Трифилловая	олеан-12-ен-22-он-3β,24-диол-29-овая																						к	[19]

Подтип: олеан-13-ен

Класс: спирты

49	--S-12	олеан-13(18)-ен-22α-Cl-3β,24-диол																						к	[42]
----	--------	-----------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	---	------

Олеаненовый тип

Подтип: 22-оксо- олеан-Δ<sup>9(11),12</sup>-диены (гомоаннулярные диены)

Класс: карбоновые кислоты

50	Изомеристотроповая	олеан-9(11),12(13)-диен-3β-ол-22-оксо-29-овая																						к				к	[33,34,37, 38]
----	--------------------	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	---	--	--	--	---	----------------

Подтип: 22-дезоксо— олеан-Δ<sup>9(11),12</sup>-диены

Класс: карбоновые кислоты

51	-----	олеан-9(11),12(13)-диен-3β-ол -30-овая	к																											[23]
52	-----	олеан-9(11),12(13)-диен-3β,24-диол -30-овая	т																											[72]
53	Эхинатовая	олеан-9(11),12(13)-диен-3β,21α,24-триол -29-овая											к	к	к													к	[24,26,32]	
54	Изомацедониковая	олеан-9(11),12(13)-диен-3β,21α-диол -29-овая											к		к														[31,84]	

Класс: монозиды (моно- и бигликозиды)

55	Сапонин Б	олеан-9(11),12(13)-диен-3β,21α,24-триол-3β-( D-глюкуронил-1 → 2- α-L-рамнозид)-29-овая																												[16,79, 27]
----	-----------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------------

Подтип: 22-оксо- олеан-Δ<sup>11,13(18)</sup>-диены (гетероаннулярные диены)

Класс: спирты

56	Сквасапогенол	олеан-11,13(18)-диен-3β,22β -диол																												[42]
----	---------------	-----------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------

Класс: карбоновые кислоты

57	Меристотроповая	олеан-11(12), 13(18)-диен-3β-ол-22-оксо-29-овая																												[14, 15, 28-30, 38]
58	Оксимеристотроповая	олеан-11(12), 13(18)-диен-3β, 24-диол-22-оксо-29-овая																												[35, 36, 38]

Класс: лактоны

59	Ураленолид	олеан-11(12), 13(18)-диен-3β,24-диол-30-овая,30:22 лактон	к																											[108]
----	------------	---	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------

Класс: монозиды (моно- и бигликозиды)

60	Сапонин	олеан-11(12), 13(18)-диен-3β-ол-22-он, 3β-0-(2-е уруновые к-ты)	к														[28, 38]
61	Меристотропозид	олеан-11(12), 13(18)-диен-22-оксо-3β(олигосахара) 29-овая														к	[91]

Подтип: 22-дезоксо- олеан-Δ<sup>11,13(18)</sup>-диены

Класс: карбоновые кислоты

62	-----	олеан-11,13(18)-диен-3 β-ол-30-овая	т к	к													[72, 76, 82]
63	-----	олеан-11,13(18)-диен-3 β,24-диол-30-овая	т														[72]
64	Мацедоникова	олеан-11(12), 13(18)-диен-3β,21α-диол-29-овая					к	к	к						к		[13, 21, 39, 80, 85]
65	Изоэхинатова	олеан-11(12), 13(18)-диен-3β,21α,24-триол-29-овая					к	к									[25, 38]

Класс: монозиды (моно- и бигликозиды)

66	Ликорица-сапонин C <sub>2</sub>	олеан-11(12), 13(18)-диен-3β-( D-глюкуронил-1 → 2-β-D-глюкуронид)- 30-овая	к														[68]
67	Мацедонозид С	олеан-11(12),13(18)-диен-3β, 21α-диол-29-овая,3β-0-(β-D-глюкуронил-1 → 2-β-D-глюкуронид)					к	к	к								[86]
68	Сапонин А	олеан-11(12), 13(18)-диен-3β,21α-диол-3- (β- D-глюкуронил-1 → 2- α-L-рамнозид)-29-овая	к				к	к	к								[78, 77]
69	Ликорица-сапонин К <sub>2</sub>	олеан-11(12), 13(18)-диен-3β,24-диол-30-овая,3β-0-(β-D-глюкуронил-1 → 2-β-D-глюкуронид)	к														[18]

Класс: бисдесмозиды (дигликозиды)

70	Глюоннанпро-сапогенин D	олеан-11,12(18)-диен-29-овая 3β,21α-ди-(0-β-D-глюкуронид)														к	[88]
----	-------------------------	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	---	------

Класс: эфиры кислот

71	-----	олеан-11(12), 13(18)-диен-3β-ол-30-метоксикарбонил, 30-овая	к														[23, 77]
72	Метилвый эфир тритерпеновой к-ты	олеан-11(12), 13(18)-диен-3β,24-диол-30- метокси-карбонил, 30-овая	к														[77]
73	Метилый эфир меристотроповой кислоты	олеан-11,13(18)-диен-3β-ол-22-он-29-метоксикарбонил, 29-овая													к		[37, 39]
74	Метилый эфир мацедониковой к-ты	олеан-11,13(18)-диен-3β-ол-29-метоксикарбонил, 29-овая						к			к						[42, 89]
75	Метилый эфир 21-дегидромацедониковой к-ты	олеан-11,13(18)-диен-3β-ол-21-дегидро-29-мето-ксикарбонил 29-овая						к									[89]
76	Метилый эфир паллидифлориковой кислоты	-----						к									[89]



Необозначенные по структуре соединения

77-82	Юнганозиды A1 ,B1, C1,D1, E2, F2	-----																		к			[87]
83	Глионнансапогенин F	-----																		к			[74]

Лупановый ряд  
Тип: лупеоловый

Класс: спирты

84	лупанол	Лупан-3β-ол	к																				[108]
----	---------	-------------	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-------

Класс: карбоновые кислоты

85	Бетулиновая к-та	3β –гидроксилуп-20:29-ен-28—овая																			к		[42]
----	------------------	----------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	---	--	------

**Тетрациклические тритерпеноиды**

Тип: стерены

86	22,23-дигидро-стигмастерин	-----	к																				[43]
----	----------------------------	-------	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------

Тип: метилстерены

87	β -ситостерин	Δ <sup>5</sup> - Стигмастенол- 3β	к	к																к			[89, 102]
----	---------------	-----------------------------------	---	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	---	--	--	-----------

**Соли тритерпеновых кислот**

Тип: нативная соль

88	глицирризин	К-Mg- Na –соль глицирризиновой кислоты	к	к	к	к	к																[7, 102]
----	-------------	--	---	---	---	---	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----------

Тип: полусинтетическая соль (распространенные)

89	Глицирризинат аммония	аммоний 20 –карбокси-11-оксо-30-нор-олеан-12-ен-3β –D-глюкопираноуронозил-α –D- глюкопиранозидуронат																					[114]
	Глицирам	или аммоной 3-0-β- ( глюкопиранозил-1-2-β-D-глюкуронопиранозид) 3β-гидрокси-11-оксо-18β,20β-олеан-12-ен-30-овой (или 6'- моноаммоний глицирризинат )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	[113]
90	Эноксолон калия	3 β-гидрокси-11-оксо-олеан-12-ен-калийкарбонил-30-овая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	[114]
91	Карбеноксолон натрия	3 β-(3 -карбосилатопропионилокси)-11-оксо-олеан-12-ен-30-овая, динатриевая соль	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	[115]
92	Глидеринин	18-дегидро-3β-гидрокси -11-оксо-12-ен-30-овая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	[116]

Примечания: - К- корни и корневища (подземная часть); Т- листья и стебли (надземная часть); X - не исследованы или нет сведений в литературе (пустая ячейка); - полусинтетические соединения ( не содержатся в растениях)

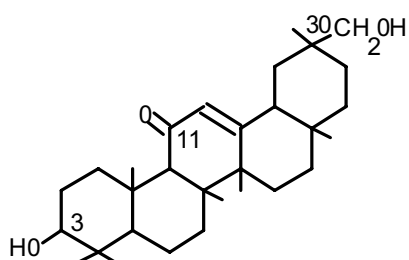
Графы таблицы 1-15 - виды растений :

1. с.голая – G. gladra L. 2. с.уральская- G.uralensis Fisch. 3. с. Коржинского- G.korshinskiy Grig. 4. с.вздутая- G.inflata Vat. 5. с. шероховатая- G.aspera Pall. 6. с.щетиная – G.echinata L. 7. с.бледноцветковая- G.pallidiflora Maxim. 8. с. македонская- G.foetissima Tausch. Syn. G.macedonica Boiss.et Orph. 9. с.чешуйчатая-G.lepidota (Nutt.) Pursh. 10. с.чешуйковатая- G.squamullosa Franch. 11.с.дурнопахнущая-G.foetida Desf. 12.с.юннаньская-G.yunnanensis Cheng f. et L.K.Tai 13.с.широкоплодная - G.euycarpa P.C.Li 14. р.бухарский-M.bucharica (Regel. )Krug. 15. р.тройчатоллиственный-M.triphylla (Fisch. et Mey.)Fisch. et Mey. Семейство бобовые – Fabaceae.

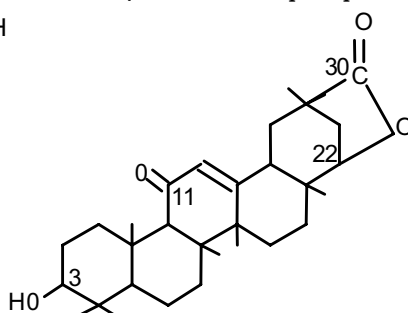
Таблица 2

Структурные формулы тритерпеновых соединений родов солодка и раздельнолодочник (основные типы соединений)

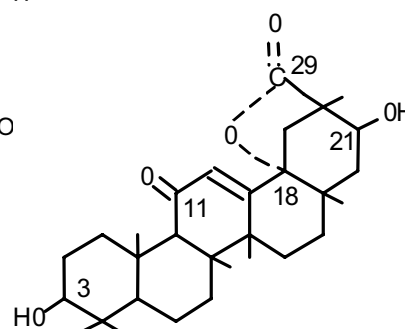
## Пентациклические тритерпеноды



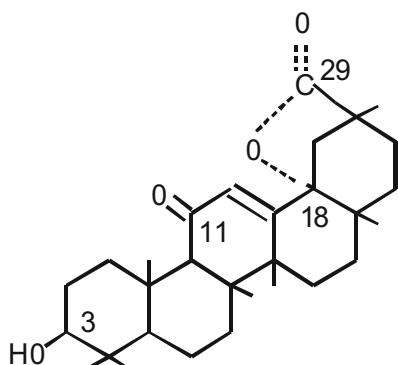
Глицирретол (01)



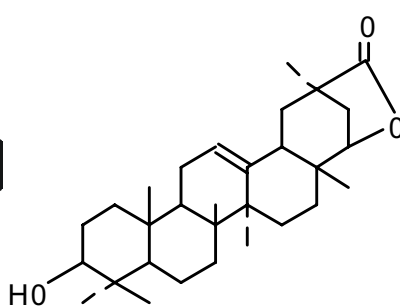
Глабролид (14)



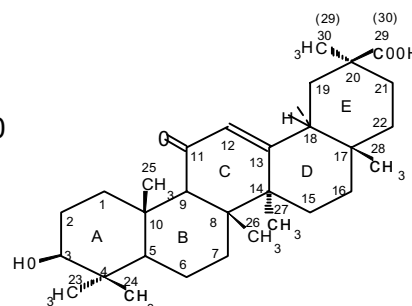
21-гидроксиизоглабролид (17)



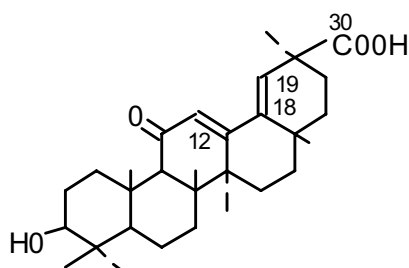
Изоглабролид (16)



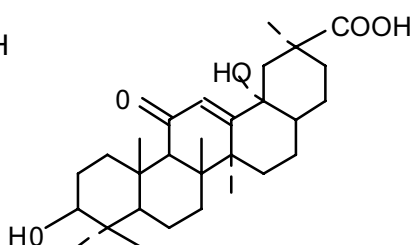
11-дезоксоглабролид (40)



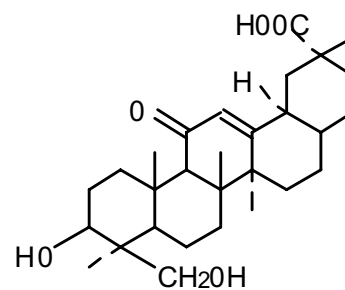
Глицирретиновая к-та (02)



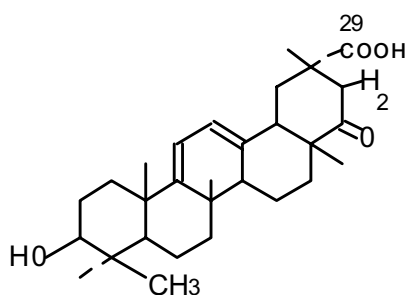
Глидеринин (92)



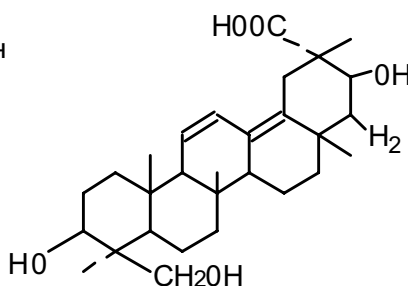
18-α – гидроксигк (05)



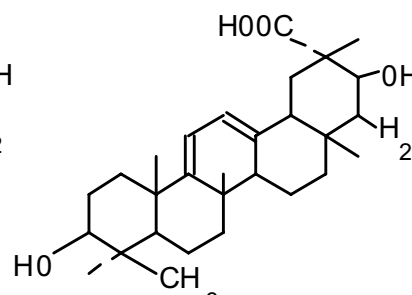
24-дигидроксигк (07)



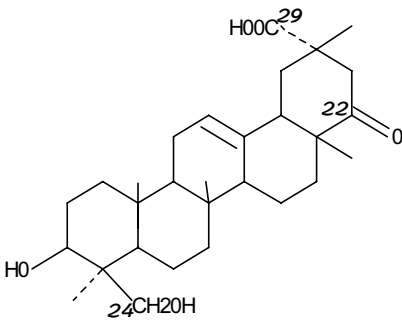
Изомеристротроповая к-та (50)



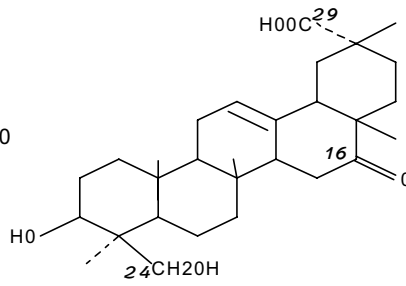
Изоэхинатовая к-та (65)



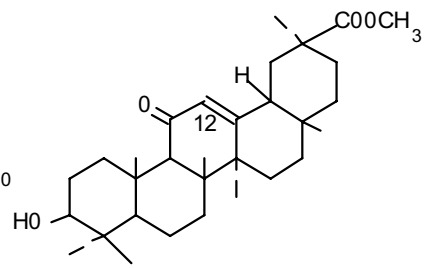
Эхинатовая к-та (53)



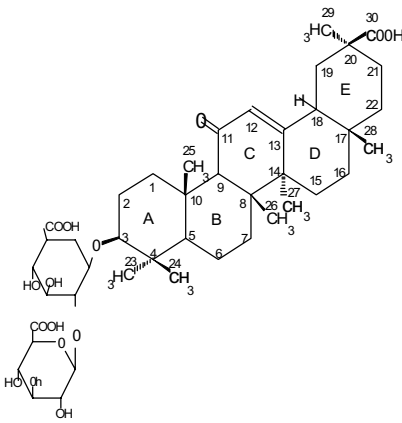
Трифилловая к-та (48)



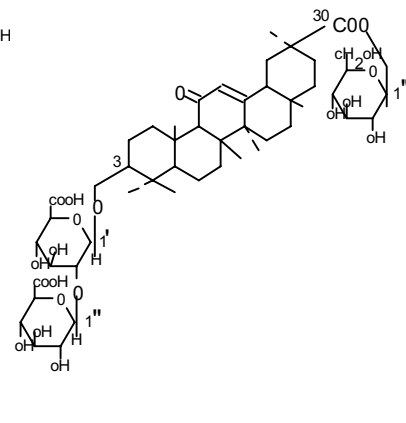
Глионнансапогенин А (47)



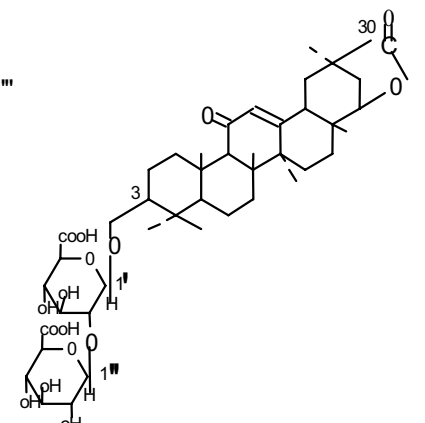
Метилловый эфир Гк (29)



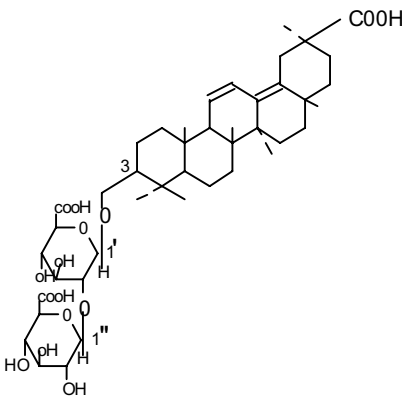
Глицирризиновая к-та (19)



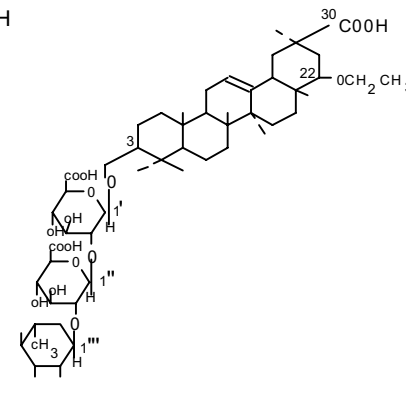
Арабоглицирризин (26)



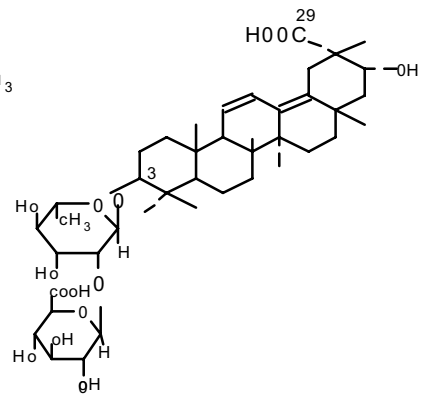
Ликорица-сапонин E<sub>2</sub> (28)



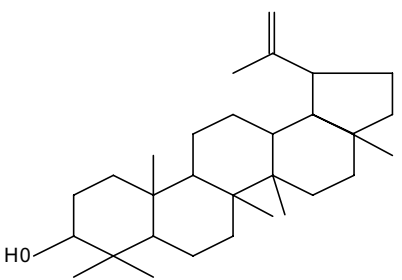
Ликорица-сапонин C<sub>2</sub> (66)



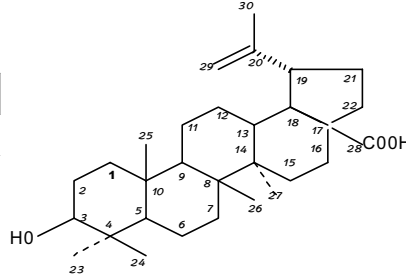
Ликорица-сапонин D<sub>3</sub> (43)



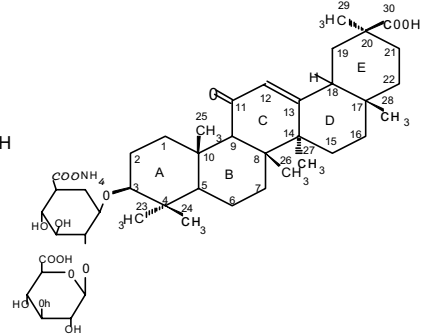
Мацедонозид С (67)



Лупанол (84)

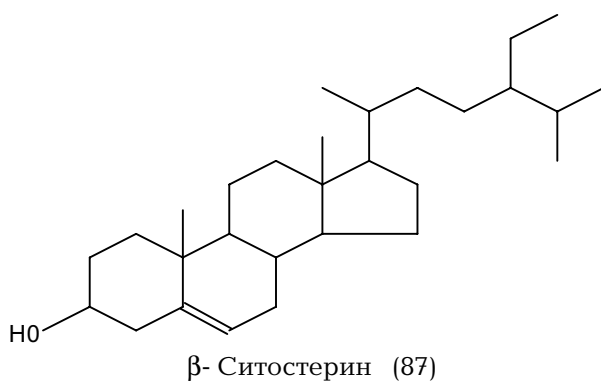


Бетулиновая к-та (85)



Глицирам (89)

## Тетрациклические тритерпеноиды



структура лупана хотя тоже малоинформативна, однако, характеризуется достаточно отчетливым филогенетическим сдвигом в сторону продвинутых таксонов.

С позиций биологических функций следует рассматривать биогенетическую группу олеанана с конформацией сквалена «сссб», как получившую полное развитие в плане реализации возможного разнообразия и функций и, соответственно, распространения в растительном мире. Роды солодка и раздельнолодочник являются в этом отношении яркими примерами.

В эволюционном плане биогенетическая линия циклоартана, присутствующая в сем. Fabaceae, структура которого по конформации сквалена «сбсб», близка к стероидам. В отличие от олеанана, рассматриваемого законченной линией реализации химической структуры, циклоартановая оказалась способной к эволюции в структуру стероидных гликозидов (стеролов), что в функциональном биологическом плане означает переход от псевдого르몬альных и стимулирующих свойств к гормональным. В этом отношении роль циклоартановой группы уникальна. Обладая свойствами универсальных биорегуляторов для растений, она, в то же время, является переходным этапом к стероидной регуляции жизнедеятельности, характерной, в первую очередь, для животных.

В свете этих рассуждений, выделяемые из солодок такие представители стероидов как β-ситостерин, 22,23-дигидростигмастерин, эстриол, фитоэстрон [43, 92,93], придают солодке определенные биологические и фармакологические свойства. Это можно рассматривать как философский фактор единства и непрерывности биохимической эволюции живой материи и как звено, связывающее её

различные формы, и, в первую очередь, растения и животных.

*Обобщение*

Представленная в обзоре химия тритерпеновых соединений видов рода *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch.et Mey., предпринятая попытка классификации выделенных соединений, рассмотрение фрагментов хемосистематики - все это является подтверждением закона множественности, сформулированного А.М. Годовским [45]. Согласно этому закону каждая группа органических веществ в растении представлена не только химически индивидуальным соединением, а целым гомологическим рядом веществ, близких по строению и свойствам. Это определяет возможность дифференциального ответа растения на изменения внешней среды без радикальных изменений свойственного растению метаболизма, к усилению одних вариантов ответа с одновременным ослаблением других в рамках общей и частной специфичности химического состава.

Представленные здесь обобщенные результаты по одной группе вторичных метаболитов (тритерпеновым соединениям) солодки подтверждают мысль о связи метаболизма с филогенетическим статусом растения. Также подтверждается тезис о том, что эволюционно более древние виды солодки обнаруживают сдвиг своего метаболизма на сторону специализированного (отличающегося) обмена. Связь метаболизма с филогенетическим его статусом в растениях впервые предположил А.В. Благовещенский [46]. Это нашло свое подтверждение и для солодки при рассмотрении представленного нами материала. Такая тенденция также просматривается на примере выделенных и классифицированных фе-

нольных соединений родов солодка и раздельнолодочник [44].

**Выводы**

1) На основании проведенных изысканий впервые в таком объеме обобщены результаты по выделенным природным тритерпеновым соединениям растений родов солодка и раздельнолодочник.

2) Проведена классификация и распределение известных тритерпеновых соединений по видовому составу растений, отмечены закономерности и особенности их распределения по морфологическим органам растений, по таксонам и родам.

3) На основании проведенных обобщений по хемосистематике тритерпеновых соединений подтверждается основание разделения рода солодки на две секции: настоящие солодки и ложные солодки. Определено возможное местоположение рода в системе семейства бобовых.

4) Представлены перспективы поиска возможных новых тритерпеноидов, а также практического их использования в фармако-терапевтических [109] и др. целях [3].

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Pfaff C. System der Materia medica nach chemischen Prinzipien. — Leipzig, 1808.
2. Tschirch A., Cederberg H. // Arch.Pharm.(Weinheim). - 1907. - Bd.245. - S.97.
3. Аммосов А.С., Литвиненко В.И., Попова Т.П. Использование солодки в мировой практике: обзор патентных источников / Хим.-фармац. пр-во: Обзорная информ. - М.:НИИЭМП, 1998. - Вып. 1. — 83 с.
4. Толстиков Г.А., Горяев М.И. Глицирретовая кислота. - Алма-Ата: «Наука», 1966. - 96 с.
5. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Шульц Э.Э., Покровский А.Г. Глицирризиновая кислота (обзор) // Биоорганич. химия. - 1997. - Т. 23, № 9. - С. 691-709.
6. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Сердюк Н.Г. Глицирретовая кислота (обзор) // Хим.-фармац. журн. - 1998. - Т. 32, № 8. - С. 5-14.
7. Муравьев И.А., Пономарев В.Д. Глицирризиновая кислота и ее препараты в качестве новых лекарственных средств (Обзор литературных данных) // Мед. пр-сть СССР. - 1962. - Т.16, № 8. - С. 11-18.
8. Ruzicka L., Jeger O. Zur Kenntnis der Triterpene. (67.Mitteilung). Zur Lage der Carboxylgruppe bei der Glycyrrhetinsäure // Helv.Chim.Acta. - 1942. - Vol. 25. - S. 775-785.
9. Ruzicka L., Jeger O., Ingold W. Zur Kenntnis der Triterpene.(84..Mitteilung). Neuer Beweis für die verschiedene Lage der Carboxylgruppe bei der Oleanolsäure und der Glycyrrhetinsäure // Helv.Chim.Acta. - 1943. - Vol. 26. - S. 2278-2300.
10. Ruzicka L., Leuenberger H. Zur Kenntnis der Glycyrrhetinsäure // Helv.Chim.Acta. — 1937. - Vol. 20. - S. 207-208.
11. Beaton J.M., Spring F.S. Triterpenoids. Part.XLII. The configuration of the carboxyl group in glycyrrhetic acid / J. Chem.Soc. - 1955. — No. 9. - P. 3126-3129.

12. Круганова Е.А. Обзор видов родов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. et Mey // Тр. БИН СССР. — Серия 1. - 1955. - Вып. 2. - С. 164-197.
13. Кирьялов Н.П., Наугольная Т.Н. О новой тритерпеновой кислоте (мацедониновой) из солодки македонской (*Glycyrrhiza macedonica* Boiss. et Orph.) // Журн. общ. химии. - 1963. - Т. 33. - Вып. 2. - С. 697-700.
14. Кирьялов Р.П., Наугольная Т.Н. Новая тритерпеновая кислота (меристотроповая) из солодки тройчатолистой // Журн. общ. химии. - 1963. - Т. 33, № 2. - С. 694-697.
15. Зорина А.Д., Матюшина Л.Г., Рябинин А.А. Строение меристотроповой кислоты // Химия природных соединений - 1966. - № 3. - С. -217.
16. Муравьев И.А., Семенченко В.Ф. Строение тритерпеновых сапонинов из корней *Glycyrrhiza echinata* // Химия природных соединений - 1969. - № 1. - С. 17-19.
17. Kitagawa J., Zhou J.L., Sakagami M., et al. Licorice-saponins A<sub>3</sub>, B<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> and E<sub>2</sub> five new oleanene-type triterpene oligoglycosides from Chinese *Glycyrrhiza radix* // Chem.Pharm.Bull. - 1988. — Vol 36, No. 9. - P. 3710-3713.
18. Kitagawa J., Hori K., Sakagami M., et al. Saponin and Sapogenol. XLVIII. On the constituents of the roots *Glycyrrhiza uralensis* Fischer from northeastern China (2). Licorice-saponin D<sub>3</sub>, E<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, G<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, J<sub>2</sub> and K<sub>2</sub> // Chem.Pharm.Bull. - 1993. - Vol. 41, No. 8. - P. 1337-1345.
19. Амирова Г.С. Строение трифилловой кислоты // Химия природных соединений. - 1984. - № 2. - С. 179-182.
20. Зорина А.Д., Салтыкова И.А., Мартынов В.Ф., Матюшина Л.Г. Исследование тритерпеноидов. Строение меристотроповой кислоты // Журн. общей химии. - 1990. - Т. 60. - Вып. 6. - С. 1395-1401.
21. Зорина А.Д. Исследование тритерпеноидов. Строение мацедониновой и меристотроповой кислот // Автореф. дис. ... канд. хим. наук. - Л., 1973. - 16 с.
22. Кирьялов Н.П. О строении мацедониновой кислоты // Химия природных соединений - 1969. - № 5. - С. 448-449.
23. Кирьялов Н.П. Новые тритерпеновые кислоты из солодок // Вопр. изуч. и использ.солодки в СССР. - М.-Л., 1966. - С. 123-129.
24. Кирьялов Н.П., Богаткина В.Ф. О строении эхинатовой кислоты // Химия природных соединений - 1969. - № 5. - С. 447-448.
25. Кирьялов Н.П., Богаткина В.Ф. Эхинатовая кислота из корней *Glycyrrhiza echinata* // Там же. - 1971. - № 3. - С. 378-380.
26. Кирьялов Н.П., Наугольная Т.Н. О тритерпеновой кислоте (эхинатовой) из корней солодки щетинистой (*Glycyrrhiza echinata* L.) // Журн. общей химии. - 1963. - Т.33. - Вып.2. - С. 700-703.
27. Семенченко В.Ф. Эхинатовая кислота из солодки македонской // Химия природных соединений. — 1970. - № 4. - С. 490.
28. Кирьялов Н.П., Амирова Г.С. О структуре меристотроповой кислоты // Там же.-1968. - № 2. - С. 87-92.
29. Шнулин А.Н., Александров Г.Г., Стручков Ю.Т. и др. Рентгеновское исследование метилового эфира меристотроповой кислоты // Там же. — 1975. - № 5. - С. 350-353.
30. Шнулин А.Н., Александров Г.Г., Стручков Ю.Т. и др. Молекулярная и кристаллическая структура тритерпена - метилового эфира меристотроповой кислоты // Кристаллография. - 1978. - Т. 23. - Вып. 1. - С. 66-72.
31. Кирьялов Н.П., Богаткина В.Ф. Изомацедониновая кислота из корней *Glycyrrhiza echinata* L. // Химия природных соединений. - 1971. - № 1. - С. 123-124.

32. Кирьялов Н.П., Богаткина В.Ф. О строении эхина-  
товой и изоэхинатовой кислот // Там же. - 1977. - № 1. -  
С. 120-121.
33. Кирьялов Н.П., Амирова Г.С. О структуре изомери-  
стотроповой кислоты // Там же. - 1968. - № 3. - С. 150-  
153.
34. Амирова Г.С. О строении изомеристотроповой кис-  
лоты // Там же. - 1982. - № 2. - С. 262-263.
35. Амирова Г.С. Оксимеристотроповая кислота из кор-  
ней *Meristotropis triphylla* // Там же. - 1970. - № 5. - С.  
631-632.
36. Амирова Г.С. Строение оксимеристотроповой кис-  
лоты // Там же. - 1981. - № 3. - С. 400-402.
37. Кирьялов Н.П., Амирова Г.С. Тритерпеновые кисло-  
ты корней *Meristotropis triphylla* Fisch. et Mey // Там же.  
- 1965. - № 5. - С. 311-315.
38. Амирова Г.С., Кирьялов Н.П. К хемотаксономии род-  
ов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. et Mey Флоры  
СССР // Журн. общ. биологии. - 1989. - Т. 1,  
№ 2. - С. 184-188.
39. Амирова Г.С. Продукты ацетилирования тритерпе-  
новых оксикислот, выделенных из корней солодки  
тройчатолистой (*Glycyrrhiza triphylla* Fisch. et Mey) //  
Журн. общ. химии. - 1978. - Т. 48. - Вып. 8. - С. 1895-1898.
40. Балтина Л.А., Сердюк Н.Г., Краснова Л.В. и др. По-  
лучение глицирризиновой кислоты из экстракта солод-  
ки // Хим.-фармац. журн. - 1994. - Т. 28, № 9. - С. 51-54.
41. Акимов Ю.А., Кинтя П.К., Фадеев Ю.М. Тритерпе-  
новые глюкозиды в систематике и эволюции цветковых  
растений // Растительные ресурсы. - 1997. -  
Т. 33. - Вып. 2. - С. 114-124.
42. Liang H., Zhang R.Y., Studies on the triterpenoides from  
roots of *Glycyrrhiza squamulosa* Franch. // Yao Hsuch  
Hsuch Pao. - 1993. - Vol. 28, No. 2. - P. 116-121.
43. Romeo A., Viollotti R., Carelli V. A phytosterol isolated  
from the roots of *Glycyrrhiza glabra* // Ann. Chim. (Ital.). -  
1956. - Vol. 46. - P. 1092-1104.
44. Аммосов А.С., Литвиненко В.И. Фенольные соеди-  
нения родов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. et Mey  
// Растительные ресурсы. - 1995. - Т. 31. - Вып. 3. - С. 116-  
145.
45. Голдовский А.М. Закономерности химического стро-  
ения циклических веществ в растениях // Тр. Ботан. ин-  
та им. В.Л. Комарова АН СССР. - Серия 5. - Расти-  
тельное сырье. - М.-Л., 1957. - Вып. 4. - С. 340-362.
46. Благовещенский А.В. Биохимическая эволюция  
цветковых растений. - М., 1966.
47. Canonica L., Russo G., Bonati A. Triterpenes of  
*Glycyrrhiza glabra* I. Two new lactones with an oleanene  
structure // Gazz. Chim. Ital. - 1966. - Vol. 96, No. 6. - P.  
772-785.
48. Canonica L., Russo G., Bombardelli E. Triterpenes of  
*Glycyrrhiza glabra* II. Liquiritic acid // Gazz. Chim. Ital. -  
1966. - Vol. 96, No. 6. - P. 833-842.
49. Canonica L., Danieli B., Manitto P. Triterpenes of  
*Glycyrrhiza glabra* III. Structure of isoglabrolide // Gazz.  
Chim. Ital. - 1966. - Vol. 96, No. 6. - P. 843-851.
50. Canonica L., Danieli B., Russo G., Bonati A. Triterpenes of  
*Glycyrrhiza glabra* IV. 18  $\beta$ -Hydroxyglycyrrhetic acid  
// Gazz. Chim. Ital. - 1967. - Vol. 97, No. 5. - P. 769-786.
51. Canonica L., Danieli B., Manitto P. et al. Triterpenes of  
*Glycyrrhiza glabra* V. Glycyrrhetol and 21 $\alpha$ -  
hydroxyisoglabrolide // Gazz. Chim. Ital. - 1967. - Vol. 97,  
No. 10. - P. 1347-1358.
52. Canonica L., Danieli B., Manitto P. et al. Triterpenes of  
*Glycyrrhiza glabra* VI. 24-Hydroxyglycyrrhetic acid and 24-  
hydroxy-11-deoxyglycyrrhetic acid // Gazz. Chim. Ital. -  
1967. - Vol. 97, No. 10. - P. 1359-1369.
53. Canonica L., Danieli B., Manitto P. et al. Triterpenes of  
*Glycyrrhiza glabra* VII. 24-Hydroxyliquiritic acid [ $3\beta$ -24-  
dihydroxy-11-oxoolean-12-en-29-oic acid] and liquiritidic  
acid [ $3\beta$ , 21 $\alpha$ , 24 trihydroxyolean-12-en-29-oic acid] // Gazz.  
Chim. Ital. - 1968. - Vol. 98, No. 6. - P. 712-728.
54. Кирьялов Н.П., Богаткина В.Ф., Надежина Т.П. Глаб-  
ролид- из корней *Glycyrrhiza aspera* L. // Химия природ-  
ных соединений. - 1973. - № 2. - С. 277.
55. Shu Y., Zhang R., Zhao Y et al. Isolation and structural  
identification of triterpene saponin from *Glycyrrhiza*  
*uralensis* Fisch // Yaoxue Xuebao. - 1985. - Vol. 20, No.3.  
- P. 193-197. (C.A. 1985. - V. 103, 119932).
56. Jia Q., Wang B., Shu Y.H., et al. The structure of  
glucuronolide, a new triterpene of *Glycyrrhiza uralensis*  
Fisch. // Yao Hsuch Hsuch Pao. - 1989. - Vol. 24, No. 5. -  
P. 348-352.
57. Corey E.J., Cantrall E.W. Proof of the structure and  
stereochemistry of  $\alpha$ -amyrin synthesis from a  $\beta$ -amyrin  
derivative, glycyrrhetic acid // J.Am. Chem. Soc. - 1959. -  
Vol. 81, No.7. - P. 1745-1751.
58. Zeng L., Zhang R.Y., Lou Z.C. Separation and quan-  
titative determination of three saponins in licorice root by  
high performance liquid chromatography // Acta  
Pharm.Sinica. - 1991. - Vol. 26, No. 1. - P. 53-58.
59. Белоус В.Н., Матюхина Л.Г., Рябинин А.А. Уралено-  
вая кислота // Журн. общей химии. - 1965. - Т. 35. -  
Вып. 2. - С. 401.
60. Van Hulle C., Braeckman P., Vanderwalle M. Impurities  
in glycyrrhetic acid // Pharm.Weekblad. - 1971. - Jrg. 106e,  
No. 25. - P. 501-505.
61. Beaton J.M., Spring F.S. Triterpenoids. Part. LI. The  
isolation and characterization of glabric acid, a new  
triterpenoid acid from licorice root // J. Chem. Soc. - 1956,  
No. 7. - P. 2417-2419.
62. Elgamal M.H.A., Fayez M.B.E., Snatzke G. Constituents  
of local plants VI. Liquorice acid, a new triterpenoid from  
roots of *Glycyrrhiza glabra* L // Tetrahedron. - 1965. - Vol.  
21, No. 8. - P. 2109-2115.
63. Elgamal M.H.A., Fayez M.B.E. Structure of glabric acid,  
a further triterpenoid constituent of *Glycyrrhiza glabra* //  
Acta Chim. (Budapest). - 1968. - Vol. 58, No. 1. - P. 75-84.
64. Elgamal M.H.A., El-Tawil B.A. Constituents of local  
plants: 28-Hydroxyglycyrrhetic acid, a new triterpenoid  
isolated from roots of *Glycyrrhiza glabra* // Planta med. -  
1975. - Bd. 27, H. 2. - S. 159-163.
65. Elgamal M.H.A., Fayez M.B.E. A new triterpenoid from  
the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. collected locally // Indian  
J.Chem. - 1972. - Vol.10, No. 1. - P. 128.
66. Кирьялов Н.П., Богаткина В.Ф. Структура глабровой  
кислоты // Химия природных соединений. - 1975. - No.  
1. - С. 105-107.
67. Fuggersberger-Heinz R., Franz O. Formation of  
glycyrrhizinic acid in *Glycyrrhiza glabra* var. *typica* //  
Planta med. - 1984. - Vol. 50, No. 5. - P. 409-413.
68. Kitagawa I., Hori K., Taniyama T., et al. Saponin and  
Sapogenol.XLVII. On the constituents of the roots of  
*Glycyrrhiza uralensis* Fischer from northeastern China. (1).  
Licorice-saponins A<sub>3</sub>, B<sub>2</sub> and C<sub>2</sub> // Chem. Pharm. Bull. -  
1993. - Vol. 41, No. 1. - P. 43-49.
69. Муравьев И.А., Маняк В.А. Отличие корней и кор-  
невиц с. уральской (*G.uralensis* Fisch. ) от корней и кор-  
невиц с. голай (*G.glabra* L.) // Аптечное дело. - 1966. -  
Т. 15, No. 4. - С. 27-31.
70. Kitagawa I., Hori K., Sakagami M., et al. Saponin and  
Sapogenol.XLIX. On the constituents of the roots of  
*Glycyrrhiza inflata* Batalin from Xinjiang, China. Characterization  
of two sweet oleanane-type triterpene  
oligoglycosides, apioglycyrrhizin and araboglycyrrhizin //  
Chem. Pharm. Bull. - 1993. - Vol. 41, No. 8 - P. 1350-1357.

71. Kitagawa I., Hori K., Uchida E., et al. Saponin and Sapogenol. I On the constituents of the roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer from Xinjiang, China. Chemical structures of licorice-saponin L<sub>3</sub> and isoliquiritin apioside // Chem. Pharm. Bull. - 1993. - Vol. 41, No. 9. - P. 1567-1572.
72. Кирьялов Н.П., Муравьев И.А., Степанова Э.Ф., Богаткина В.Ф. Тритерпеновые соединения травы *Glycyrrhiza glabra* // Химия природных соединений. - 1970. - № 6. - С. 770-771.
73. Price K.R., Johnson J.T., Fenwick P. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feeding stuffs // C.R.C. Crit. Rev. Food. Sci. Nut. - 1987. - Vol. 26. - Issue 1. - P. 27-61.
74. Zeng L., Zhang R.Y., Wei P et al. New triterpenoidol sapogenins from roots of *Glycyrrhiza yunnanensis* // Yao Hsuch Hsuch Pao (Acta Pharm.Sinica). - 1990. - Vol. 25, No. 7. - P. 515-521.
75. Bombardelli E., Gabetta B., Martinelli E.M., Mustich G. Quantitative evaluation of glycyrrhetic acid and GC-MS investigation on licorice triterpenoids // Fitoterapia. - 1979. - Vol. 50, No. 1. - P. 11-24.
76. Богаткина В.Ф., Муравьев И.А., Степанова Э.Ф., Кирьялов Н.П. Тритерпеновые соединения из надземной части солодки голой // Химия природных соединений. - 1975. - № 1. - С. 101-102.
77. Семенченко В.Ф., Муравьев И.А. Исследование сапонинов некоторых видов *Glycyrrhiza* L. секции *Pseudoglycyrrhiza* Krug. // Растительные ресурсы. - 1975. - Т. 11. - Вып. 3. - С. 381-384.
78. Семенченко В.Ф., Муравьев И.А. Тритерпеновые сапонины корней солодки щетинистой // Там же. - 1968. - Т. 4. - Вып. 1. - С. 62-67.
79. Семенченко В.Ф. Материалы к химической характеристике корней солодки щетинистой // Там же. - 1969. - Т. 5. - Вып. 3. - С. 394-397.
80. Муравьев И.А., Семенченко В.Ф., Кухарева Л.В. Македониковая кислота корней *Glycyrrhiza pallidiflora* // Химия природных соединений. - 1971. - № 1. - С. 122-123.
81. Кирьялов Н.П., Наугольная Т.Н. О новой тритерпеновой оксиметокислоте - ураленовой из солодки уральской (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) // Журнал общей химии. - 1964. - Т. 34. - Вып. 8. - С. 2814.
82. Кирьялов Н.П., Богаткина В.Ф., Баркаева Е.Ю. Тритерпеноиды корней *Glycyrrhiza uralensis* // Химия природных соединений. - 1974. - № 1. - С. 102-103.
83. Кирьялов Н.П., Богаткина В.Ф., Надежина Т.П. 24-оксиглицерреговая кислота из корней *Glycyrrhiza korshinsky* // Там же. - 1972. - № 3. - С. 395-396.
84. Зорина А.Д., Матюхина Л.Г., Салтыкова И.А., Шавва А.Г. О строении македониковой и изомакедониковой кислот // Журн. органической химии. - 1973. - Т. IX. - Вып. 8. - С. 1673-1678.
85. Zorina A.D., Matyukhina L.D., Chavva A.G., Saltikova I.A. Structure de l'acide macedonique triterpene pentacyclique // Tetrahed.Lett. - 1972. - No. 18. - P. 1841-1844.
86. Hayashi H., Hosono N., Kondo M., et al. Phylogenetic relationship of *Glycyrrhiza* species based on rbcL sequences and chemical constituents // Biol.Pharm.Bull. - 2000. - Vol. 23, No. 5. - P. 602-606.
87. Ohtani K., Ogawa K., Kasai R et al. Oleanane glycosides from *Glycyrrhiza yunnanensis* roots // Phytochem. - 1992. - Vol. 31, No. 5. - P. 1747-1752.
88. Zeng L., Zhang R.Y., Wang D. et al. Glyyunnanprosapogenin and glyyunnansapogenin from the roots *Glycyrrhiza yunnanensis* // Yao Hsuch Hsuch Pao. - 1990. - Vol. 25, No. 10. - P. 750-757.
89. Liu J.H., Yang S.S., Fu Y.O., et al. Studies on chemical constituents from *Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim // Yao Hsuch Hsuch Pao. - 1990. - Vol. 25, No.9. - P. 689-693.
90. Boiteua P., Pasich B., Ratsimananga A.R. Les Triterpenoides en physiologie vegetale et animale. - Ganthier. - Villars, editeur, 55. - Paris, 1964.
91. Чирва В.Я., Чебан П.Л., Кинтя П.К. Гликозид мерситропной кислоты // Химия природных соединений - 1970. - No. 5. - С. 636.
92. Cai L.N., Zhang R.Y., Wang B. Studies on the chemical constituents of *Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim // Yao Hsuch Hsuch Pao. - 1992. - Vol. 27, No.10. - P. 748-751.
93. Wang C.L., Zhang R.Y., Han Y.S., et al. Chemical studies of coumarins from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch // Yao Hsuch Hsuch Pao. - 1991. - Vol. 26, No. 2. - P. 147-151.
94. Costello C.H., Lynn E.V. Estrogenic substances from plants: *Glycyrrhiza* // J. Amer. Pharm. Assoc. Sci. Ed. - 1950. - Vol. 39. - P. 177-180.
95. Djerassi C., Foltz C.M. Terpenoids.VII. Experiments in the glycyrrhetic acid series // J.Am.Chim.Soc. - 1954. - Vol. 76, No. 16. - P. 4085-4088.
96. Kan Y., Wang R. Constituents of *Glycyrrhiza pallidiflora* // Fitoterapia. - 1994. - Vol. 65, No. 1. - P. 91.
97. Glasl H., Jhrig M. Quantitative Bestimmung von Triterpensaponinen in Drogen // Pharm.Zeitung. - 1984. - 129 Jg. - No. 42. - S. 2619-2622.
98. Муравьев И.А., Кононихина Н.Ф. Эстрогенные свойства травы солодки голой // Растительные ресурсы. - 1972. - Т. 8. - Вып. 4. - С. 490-497.
99. Маняк В.А. Исследование солодки уральской как источника лекарственных препаратов // Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. - Тарту, 1967. - 21 с.
100. Зюбр Т.П. Изучение химического состава и некоторых вопросов экстракции корней и корневищ солодки уральской // Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. - Харьков. - 1972. - 21 с.
101. Mahato S.D., Sarkar S.K., Poddar G. Triterpenoid saponins // Phytochem. - 1988. - Vol 27, No. 10. - P. 3037-3067.
102. Hiller K., Keipert M., Linzer B. Triterpensaponine // Pharmazie. - 1966. - Jg. 21, H. 12. - S. 713-751.
103. Hiller K., Voigt G. Neue Ergebnisse in der Erforschung der Triterpensaponine // Pharmazie. - 1977. - Jg.32, H. 7. - S. 365-393.
104. Woitke H.-D., Kayser J.-P., Hiller K. Fortschritte in der Erforschung der Triterpensaponine // Pharmazie. - 1970. - Jg. 25, H. 3. - S. 133-143 und H. 4. - S. 213-241.
105. Mahato S.b., Nandy A.K. Triterpenoid saponins discovered between 1987 and 1989 // Phytochem. - 1991. - Vol. 30, No. 5. - P. 1357-1390.
106. Mahran G.H., El-Fishawy A., Elgamal M.H.A. et al. Triterpenoids // Egypt. J. Pharm. Sci. - 1991. - Vol. 32, No. 1-2. - P 275-282.
107. Van Hulle C. Uber die ostrogene Wirkung der Sussholzwurzel // Pharmazie. - 1970. - Jg. 25, H. 10. - S. 620-621.
108. Shöpke Th., Hiller K. Triterpenoid saponins // Pharmazie. - 1990. - Jg. 45, H.5. - S. 313-342.
109. Оболенцева Г.В., Литвиненко В.И., Аммосов А.С., Попова Т.П., Сампиев А.М. Фармакологические и терапевтические свойства препаратов солодки (обзор) // Хим.-фармац. журн. - 1999. - Т. 33, № 8. - С. 24-31.
110. Васильев И.Т., Григорьев Ю.С. Род *Glycyrrhiza* L. / Флора СРСР. - Л., 1948. - Т. 13. - С. 230-242.
111. Тахтаджан А.Л. Система и филогения цветковых растений. - М.:Л., 1966.
112. Тахтаджан А.Л. Система магнолиофитов. - Л., 1987.

113. Запесочная Г.Г., Звонкова Е.Н., Куркин В.А. и др. Некоторые свойства глицирризиновой кислоты // Химия природных соединений. - 1994, № 6. - С. 772-780.
114. Catalogue FLUKA. Laboratory Chemicals and Analytical Reagents 1999/2000. - Switzerland: Fluka Chemie. - P. 699.
115. British Pharmacopoeia. - London: HMSO, 1999. - Vol. I. - P. 266-267.
116. Ирисметов М.П. 18-Дегидроглицирретовая кислота - новое противовоспалительное средство // Изучение и использование солодки в народном хоз-ве СССР. - Алма-Ата: Гылым, 1991. - С. 169-170.
117. Балтина Л.А., Сердюк Н.Г., Флехтер О.Б. и др. Изомеризация глицирризиновой кислоты. Противовозвращенная активность // Хим.-фармац.журн. - 1996. - Т. 30, № 10. - С. 8-11.
118. Amagaya S., Sugishita E., Ogichara Y. Separation and quantitative analysis of 18 $\alpha$ -glycyrrhetic acid and 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid in Glycyrrhizae Radix by gas-liquid chromatography // J.Chromatography. - 1985. - Vol. 320. - P. 430-434.
119. Сампиев А.М. Экспериментально-теоретическое обоснование технологии препаратов с сапонино-флавоноидными композициями при комплексной переработке растительного сырья // Автореф. дис. ... д-ра фарм. наук. - Пятигорск, 1998. - 47 с.
120. Ашурметов А.А. О возможных путях эволюции видов родов Glycyrrhiza L. и Meristotropis Fisch. et Mey // Изучение и использование солодки в нар. хоз-ве СССР. - Алма-Ата: Гылым, 1991. - С. 39-42.
121. Байтенов М.С. История формирования видов рода Glycyrrhiza L. // Там же. - С. 42-44.

*Резюме*

Аммосов О.С., Литвиненко В.И.

**Природні тритерпенові сполуки родів Glycyrrhiza L. і Meristotropis Fisch. et Mey. (огляд)**

Вперше узагальнені відомості про тритерпенові сполуки рослин близьких між собою родів Glycyrrhiza L. та Meristotropis Fisch. et Mey. Проведена біохімічна класифікація сполук, розглянуті питання хемосистематики за тритерпеноїдами, перспективи їх вивчення та використання.

*Summary*

Ammosov A.S., Litvinenko V.I.

**Natural triterpene compounds of Glycyrrhiza L. and Meristotropis Fisch. et Mey. genus (review)**

In the review the known by now isolated natural triterpene compounds of plants of closely related genus of licorice (Glycyrrhiza L. and Meristotropis Fisch. et Mey) were summarized and presented in the full scope for the first time. The named compounds were biochemically classified 88 (92). Issues on chemosystematics by the triterpenoid composition among taxons of the specified genus were considered. Regularities and differences were noted, and the place of taxons in the genus system and perspectives of further study were determined.

**Литвиненко Василій Іванович** (р. 1932).

Окончил Харьковский фармацевтический институт (1959). Доктор хим. наук (1990). Академик ИА Украины (2000). Зав. сектором химии и технологии фенольных препаратов ГНЦЛС.

**Аммосов Алексей Серафимович** (р. 1940).

Окончил Ленинградский химико-фармацевтический институт. Работает в ГНЦЛС (с 1970). Канд. фарм наук (1988). Ст. науч. сотрудник сектора химии и технологии фенольных препаратов.

## Синтез та вивчення фармакологічної дії

УДК 615.015.4.668.53:547.298

Мерзликин С.И., Полторак В.В., Гладких А.И.

Национальный фармацевтический университет

Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского

### Синтез и сахароснижающая активность производных диакамфа – нового фармакологического средства

Осуществлен синтез производных диакамфа - ( $\pm$ )- цис-3 - (2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоневой кислоты и изучены их физико-химические свойства. Проведен фармакологический скрининг синтезированных веществ на сахароснижающую активность. Обсуждена зависимость гипогликемического эффекта от структуры.

Известно, что нормализующее влияние на углеводный обмен способны оказывать дикарбоновые кислоты и их производные, на основе которых в настоящее время разрабатываются новые препараты для лечения инсулиннезависимого сахарного диабета [1 - 5].

Диакамф – новое фармакологическое средство с антидиабетической активностью,

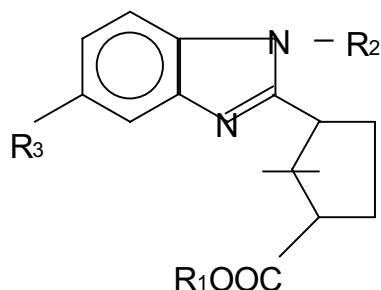
разработанное в Национальном фармацевтическом университете.

Продолжая исследования в данном направлении, мы осуществили синтез производных диакамфа - ( $\pm$ ) - цис - 3 - (2'-бензимидазолил) - 1,2,2-триметилциклопентанкарбо-



новой кислоты и изучили их сахароснижающую активность:

- R<sub>1</sub> – H; Na; CH<sub>3</sub>
- R<sub>2</sub> – H; CH<sub>3</sub>
- R<sub>3</sub> – H; CH<sub>3</sub>; Cl; NO<sub>2</sub>



**Объекты и методы синтеза**

Соединения I – IV (Табл. 1) получены из исходных продуктов: ангидрида (±)-камфорной кислоты и 4-R-о-фенилендиамина. Образование бензимидазола при C<sub>3</sub> согласуется с проведенными ранее расчетами барьера вращения метильной группы при C<sub>1</sub> и энергии стерического напряжения переходных интермедиатов, образующихся при раскрытии цикла камфорного ангидрида аминами, что свидетельствует о преимущественном образовании α-амидов соответствующей кислоты [6, 7].

Соединение V получено нами при кипячении соединения I в метаноле в присутствии NaOH.

Соединение VI получено методом этерификации соединения I в кипящем метаноле в присутствии концентрированной H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

При кипячении соединения V в растворе CH<sub>3</sub>I в ДМФА получено соединение VII.

Соединение VIII получено при гидролизе эфирной группы соединения VII в растворе LiI в пиридине.

(±)-Цис-3-(2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновая кислота (I).

Смесь 1.82 г (0.01 моль) ангидрида (±)-камфорной кислоты и 1.08 г (0.01 моль) о-фенилендиамина в 50 мл ксилола кипятят в течение 3 ч. Охлаждают, выпавший осадок отфильтровывают, промывают ксилолом, сушат, очищают кристаллизацией из этанола.

Аналогично получают соединения II - IV.

Метилловый эфир (±)-цис-3-(2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты (VI). Раствор 2.72 г (0.01 моль) (±)-цис-3-(2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты (I) и 3.2 мл концентрированной серной кислоты в 70 мл метанола кипятят в течение 3 ч. Охлаждают, прибавляют 24.2 г гидрокарбоната калия, 0.2 л воды и перемешивают до слабощелочной реакции среды. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат, очищают кристаллизацией из смеси этанол - гексан.

Натриевая соль (±)-цис-3-(2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты (V). Смесь 18 г (0.066 моль) (±)-цис-3-(2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты (I) и 2.8 г (0.07 моль) гидроксида натрия растворяют в 200 мл метанола и кипятят в течение 1 ч. Охлаждают, выпавший осадок отфильтровывают, очищают кристаллизацией из смеси этанол – вода.

Метилловый эфир N-метил-цис-(±)-3-(2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты (VII). Смесь 5 г (0.017 моль) натриевой соли (±)-цис-3-(2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты (VI) растворяют в 3 мл ДМФА, прибавляют 5 мл CH<sub>3</sub>I и кипятят 30 мин. Раствор выливают в воду. Прибавляют 13.2 г гидрокарбоната натрия до нейтральной реакции. Выпавший осадок отфильтро-

Таблица 1  
**Физико-химические свойства синтезированных веществ**

Соединение	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	T пл., °C	Выход, %	Брутто-формула	Значения Rf*
I	H	H	H	254-256	45	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.37
II	H	H	CH <sub>3</sub>	267-270	30	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.39
III	H	H	Cl	258-260	28	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Cl	0.25
IV	H	H	NO <sub>2</sub>	263-265	24	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	0.44
V	Na	H	H	280-285	74	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Na	-
VI	CH <sub>3</sub>	H	H	197-200	66	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.36
VII	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	186-189	28	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.42
VIII	H	CH <sub>3</sub>	H	284-286	28	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.49

Примечание

\* - значение Rf в системе хлороформ-этанол-гексан (1:1:2)

ывают, промывают водой, сушат, очищают кристаллизацией из смеси гексан – бензол.

N-метил-дис-(±)-3-(2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилцикло-пентанкарбоновая кислота (VIII). 12 г LiI безводного растворяют в 50 мл пиридина, добавляют 4.5 г (1.5 моль) метилового эфира N-метил-дис-(±)-3-(2'-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты (VII) и кипятят в течение 6 ч. Охлаждают, выпавший осадок отфильтровывают, сушат, очищают кристаллизацией из метанола.

#### Физико-химические исследования

Физико-химические свойства синтезированных веществ представлены в Табл. 1.

Температуру плавления определяли на нагревательном столике Voetius. Испытания на чистоту и идентификация веществ осуществлены хроматографически на пластинках Silufol UV-254 при проявлении бромкрезоловым зеленым (синие пятна). Результаты элементного анализа (С, Н, N) удовлетворительно совпадают с вычисленными значениями.

ИК-спектры записаны на спектрометре Spесord M-80 в таблетках КВг.

ИК-спектры соединений I - VIII содержат максимумы деформационных и валентных колебаний NH-группы в области 1560 – 1540 см<sup>-1</sup> и 3275 – 3260 см<sup>-1</sup>, соответственно.

Максимумы валентных колебаний ν<sub>C=O</sub> соединений I - IV и VII наблюдаются в области 1700 – 1670 см<sup>-1</sup>, а максимумы аналогичных колебаний соединений V и VI претерпели смещение в область ближнего ИК и находятся при 1745 – 1720 см<sup>-1</sup>. Максимумы валентных колебаний ароматической системы синтезированных соединений наблюдаются в области 1640 – 1620 см<sup>-1</sup>, а максимумы валентных асимметрических колебаний гемдиметильной группы фрагмента камфорной кислоты находятся при 2930 – 2920 см<sup>-1</sup>.

Данные ИК-спектров соединений представлены в Табл. 2.

Таблица 2

#### Данные ИК-спектров синтезированных соединений

Соединение	ИК-спектры, см <sup>-1</sup>				
	δ <sub>NH</sub>	ν <sub>C=O</sub>	ν <sub>NH</sub>	ν <sub>C-C</sub>	ν <sup>as</sup> <sub>CH</sub>
I	1540	1675	3265	1625	2925
II	1545	1680	3265	1630	2930
III	1550	1670	3260	1630	2925
IV	1540	1675	3270	1640	2925
V	1540	1745	3270	1620	2920
VI	1560	1740	3275	1625	2930
VII	1545	1680	3265	1620	2930
VIII	1560	1700	3270	1620	2925

Таблица 3

#### Сахароснижающая активность синтезированных соединений (S±S<sub>x</sub>)

Соединение	n*	Исходный уровень (ммоль/л)	После орального введения соединений, через:			
			2 ч	4 ч	6 ч	8 ч
I	5	16.4±1.29	13.6±0.74 17.1 %	12.9±1.82 22.5 %	12.6±2.04 24.2 %	12.7±1.60 23.6 %
II	5	15.1±1.21	14.1±2.41 7.7 %	13.7±2.0 13.5 %	15.3±1.58 6.0 %	14.4±0.87 5.3 %
III	5	18.6±1.30	20.3±1.07 8.6 %	20.3±1.26 10.0 %	19.6±1.03 5.1 %	17.9±1.28 3.5 %
IV	5	17.5±1.46	17.9±0.38 5.4 %	16.4±1.26 14.3 %	16.8±1.89 6.3 %	15.7±0.74 9.8 %
VI	5	17.4±1.49	17.3±2.21 3.2 %	16.6±1.49 4.8 %	14.9±1.08 12.6 %	13.9±1.18 18.4 %
VII	5	16.2±1.19	14.2±1.03 12.6 %	13.9±0.69 13.7 %	12.5±1.19 24.8 %	12.8±0.06 20.9 %
VIII	5	19.3±1.33	17.4±2.05 8.4 %	17.2±1.04 9.1 %	18.8±0.64 5.4 %	18,2±1.19 5.9 %
Плацебо+ дитизон	5	18.0±1.16	18.0±1.06	17.7±1.20	17.3±1.04	16.9±1.31
Интактный контроль	5	4.41±0.19	4.08±0.13	4.13±0.12	4.20±0.11	3.95±0.11

Примечание

\* - количество животных в группе.

*Фармакологические исследования*

Сахароснижающую активность синтезированных соединений оценивали на модели инсулиннезависимого сахарного диабета (стадия абсолютной инсулиновой недостаточности), индуцированного введением дитизона, у кролей массой 2.2 – 2.4 кг. Синтезированные соединения в дозе 25 мг/кг массы тела вводили животным внутривенно с помощью зонда в виде эмульсии, приготовленной из водной суспензии соединений и твина-80 в объемном соотношении 5:1.

Оценку сахароснижающего действия испытуемых веществ проводили по уровню глюкозы в крови кролей глюкозооксидазным методом с помощью анализатора глюкозы «Эксан-Г» спустя 2 ч, 4 ч, 6 ч и 8 ч после введения соединений.

Результаты исследований приведены в Табл. 3.

В результате проведенного фармакологического скрининга установлено, что наибольшей способностью снижать уровень глюкозы в крови испытуемых животных среди синтезированных веществ обладает соединение I. Этерификация карбоксильной группы диакамфа, а также введение в арильную часть его молекулы заместителей (соединения II – IV) приводит к снижению исследуемой активности. Сахароснижающее действие проявляет также соединение VII, однако его эффективность несколько уступает соединению I.

*Выводы*

1. Осуществлен синтез производных ( $\pm$ )-цис-3-(2'-бензимидазол)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты с заместителями в арильной части молекулы, ее метилового и N-метил-метилового эфиров.

2. В результате проведенного фармакологического скрининга установлено, что введение заместителей в арильную часть молекулы диакамфа, этерификация карбоксильной группы и метилирование имидазольного цикла приводит к снижению его сахароснижающего действия.

*ЛИТЕРАТУРА*

1. Полторак В.В., Горбенко Н.І. Сучасна концепція поральної фармакотерапії цукрового діабету та його су-

динних ускладнень // Клінічна фармація. - 1999. - Т. 2, № 3. - С. 31-34.

2. Полторак В.В., Гладких О.І., Мерзлікін С.І. та ін. Цукрознижуюча дія діакамфу у тварин з цукровим діабетом гетерогенного генезу // Вісник фармації. - 1997. - Т. 15, № 1. - С. 81-94.

3. Боднар П.М., Кононенко Л.О., Мерзлікін С.І. Застосування препарату діакамф у лікуванні хворих на інсуліннезалежний цукровий діабет // Ендокринологія. - 1999. - Т. 4, № 1. - С. 110-111.

4. Мерзлікин С.И., Черных В.П., Болотов В.В. и др. Разработка методов стандартизации субстанции диакамфа – нового фармакологического средства // Физиологично активні речовини. - 2000. - Т. 29, № 1. - С. 32-34.

5. Мерзлікін С.І., Черних В.П., Яременко Ф.Г. Розробка технології субстанції з діакамфом – нового антидіабетичного фармакологічного засобу // Вісник фармації. - 2001. - Т. 25, № 1. - С. 29-33.

6. Мерзлікін С.І., Черних В.П., Болотов В.В. синтез та біологічна активність N-ариламідів та N-арилімідів ( $\pm$ )-1,2,2-триметилциклопентан-1,3-дикарбонової кислоти // Там же. - 2000. - Т. 21, № 1. - С. 9-12.

7. Мерзлікін С.І., Черних В.П., Гладких О.І. Синтез та цукрознижуюча активність N-гетерамідів та N-гетерімідів ( $\pm$ )-1,2,2-триметилциклопентан-1,3-дикарбонової кислоти // Там же. - Т. 22, № 2. - С. 3-6.

8. Okamoto K. // Folia Endocrinol. Jap. - 1989. - Vol. 25, No. 1. - P. 32-61.

*Резюме*

Мерзлікін С.І., Полторак В.В., Гладких О.І.

**Синтез та цукрознижуюча активність похідних діакамфу – нового фармакологічного засобу**

Здійснено синтез похідних діакамфу - ( $\pm$ )-цис-3-(2'-бензимидазол)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонової кислоти та вивчено їх фізико-хімічні властивості. Проведено фармакологічний скринінг синтезованих сполук на цукрознижуючу активність. Обговорена залежність гіпоглікемічного ефекту від структури.

*Summary*

Merzlikin S.I., Poltorak V.V., Gladkikh A.I.

**Synthesis and sugar-lowering activity of derivatives of the Diacamph - a new pharmacological agent**

Synthesis of derivatives of diacamph, ( $\pm$ )-cis-3-(2'-benzimidazol)-1,2,2-trimethyl cyclopentane carboxylic acid was carried out and physico-chemical properties of these compounds were studied. Pharmacological screening of the synthesized compounds on the sugar-lowering activity was carried out. The hypoglycemic effect / structure dependence has been discussed.

**Мерзликін Сергій Іванович** (р. 1958). Окончила Харьковський фармацевтичний інститут (1986). Канд. хім. наук (1991).

**Полторак Вікторія Віталіївна** (р. 1937). Окончила Винницький медичинський інститут (1960). Доктор мед. наук (1989). Професор (1997).

**Гладких Александр Іванович** (р. 1955). Окончил Харьковський медичинський інститут (1979). Канд. мед. наук (1992).

## Готові лікарські засоби

УДК 615.276:615.454.2

Козлова Н.Г., Носальська Т.М., Замараєва О.Є.,  
Романова Я.Ю., Долейко Н.В., Горбач Т.В.  
Державний науковий центр лікарських засобів

### Супозиторії з етамбутолом – нова лікарська форма на основі етамбутолу для лікування туберкульозу

Робота присвячена проблемі захворювання населення України туберкульозом. Проведений комплекс наукових досліджень, внаслідок яких розроблений новий лікарський препарат протитуберкульозної дії - супозиторії з етамбутолом. Препарат має більш високу біодоступність та більш тривалу терапевтичну дію у порівнянні з існуючою лікарською формою – таблетками етамбутолу.

Туберкульоз є складною соціально-економічною і медичною проблемою. В Україні в останні роки туберкульоз характеризується тенденцією до прогресування, швидким розвитком каверн, полірезистентністю збудника хвороби до протитуберкульозних препаратів. Значно зросла кількість хворих із запущеними формами як серед дітей, підлітків, так і серед дорослого населення України. Поширення туберкульозу пов'язане із підсиленням антропогенного впливу на біосферу, внаслідок чого відбувається зниження захисних функцій організму; із катастрофою на Чорнобильській АЕС, яка призвела до негативного впливу на організм людини; зі збільшенням кількості мігруючих груп населення; із наростаючою інфікованістю населення туберкульозом внаслідок циркуляції серед нього не виявлених хворих заразними формами туберкульозу; із ростом соціально дезадаптованих груп; із неповноцінною соціальною і медичною допомогою хворим.

Ріст захворюваності та смертності від туберкульозу у країнах СНД і, зокрема, в Україні відзначається з початку 90-х років і зберігається до теперішнього часу, що свідчить про недостатню ефективність протитуберкульозних заходів [1, 2].

Зараз в Україні зареєстровано більше 600 тисяч хворих на туберкульоз, тобто 1.2 % усього населення, що, за визначенням ВООЗ, класифікується як епідемія. Крім інфікованих хворих, існує група підвищеного ризику, що включає 30-40 % школярів, 50-70 % підлітків та молоді і 100 % дорослих [3, 4].

Основним принципом хіміотерапії хворих на туберкульоз є своєчасне призначення протитуберкульозних препаратів. Одним із основних туберкулостатиків, що призначається при різних формах легеневого і позалеге-

невого туберкульозу, є етамбутол. Під впливом етамбутолу спостерігається дезінтоксикація організму, нормалізація температури тіла, припинення кашлю, зникнення мокротиння протягом 1-2 місяців із моменту призначення. При застосуванні етамбутолу протягом 3-4 місяців відзначається позитивна динаміка катаральних явищ. Особливо важливо, що при призначенні етамбутолу хворим із хронічним деструктивним туберкульозом легень підвищуються частота та швидкість настання абацілювання. При застосуванні етамбутолу протягом 3 місяців абацілювання настає у 25 % випадків, понад 3 місяців – у 52 % випадків. Позитивна рентгенологічна динаміка відзначається уже у перші три місяці застосування препарату. Відзначається (у 90 % випадків) значне чи часткове розсмоктування осередкових та інфільтративних змін [5-7]. Однак, пероральне застосування етамбутолу, як і інших туберкулостатиків, супроводжується побічними ефектами з боку шлунково-кишкового тракту (нудота, блювання, болі в епігастрії та ін.). У зв'язку з цим найбільш оптимальною лікарською формою є супозиторії, які істотно відрізняються від існуючих форм етамбутолу (таблеток, капсул) більш високою біодоступністю та значним зменшенням побічних ефектів.

Метою проведеного дослідження була розробка нової лікарської форми – супозиторіїв етамбутолу.

#### *Експериментальна частина*

Був проведений комплекс наукових досліджень, що включає: вибір оптимальної супозиторної основи, допоміжних речовин, способу введення лікарської речовини в основу, вивчення фізико-хімічних, структурно-механічних властивостей та стабільності

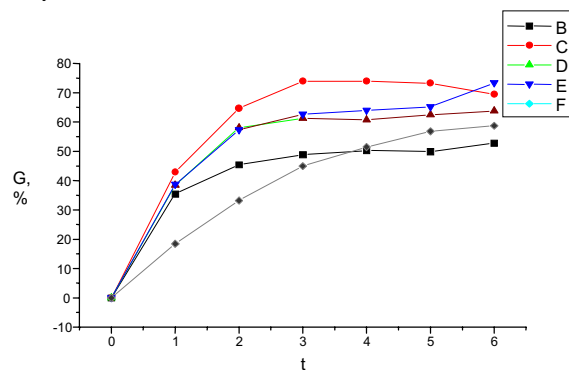
лікарського препарату, а також вивчення фармакокінетичних параметрів супозиторіїв у порівнянні з таблетками.

Об'єктом досліджень були супозиторії з етамбутолом, виготовлені на основах, що широко використовуються у вітчизняній фармацевтичній промисловості - твердому жиру, вітепсолі W-35 і поліетиленоксиді 1500 (ПЕО 1500). Супозиторії готували методом виливання. Етамбутол вводили до основи за типом суспензії дрібно-дисперсного порошку.

Для вибору оптимальної основи вивчали динаміку вивільнення етамбутолу з супозиторіїв стандартизованим методом *in vitro* [8], заснованим на діалізі лікарської речовини крізь напівпроникну мембрану на імітаторі абсорбції типу SM 16750 фірми "Sartorius" із камерою типу SM 16754 та діалізуючою мембраною фірми "Hoechst" (Німеччина) [9,10]. Кількість етамбутолу гідрохлориду, що вивільнився із супозиторіїв, визначали методом неводного титрування.

Як видно з Рис.1, кількість етамбутолу гідрохлориду, що вивільнюється, для супозиторіїв на різних основах відрізняється. Так, через 3 год після початку дослідження спостерігалось максимальне вивільнення етамбутолу із зразків, виготовлених на гідрофобних основах (на основі твердого жиру - близько 63 %, на основі вітепсолу - близько 50 %) і утримувалося постійним протягом подальших трьох годин. У той час максимальне вивільнення етамбутолу із зразків на основі ПЕО 1500 досягалося лише через 6 год після початку дослідження (близько 59 %). Для подальших досліджень препарату були вибрані зразки на гідрофобних основах, із яких спостерігалось найкраще вивільнення лікарської речовини. Однак, у процесі технологічних досліджень була виявлена неоднорідність розподілу лікарської речовини в основах. Із метою оптимізації складу супозиторіїв до основи вводили поверхнево-активні речовини (ПАР) - емульгатор №1, твін-80, емульгатор Т-2 у кількості 1-5 %. При виборі емульгатора вивчалася його здатність утворювати з даною супозиторною масою агрегативно стійку систему із необхідними реологічними властивостями. Дослідження показали, що уведення емульгатора № 1 у гідрофобні основи в кількості 5 % забезпечує рівномірний розподіл етамбутолу в супозиторній масі та термостабільність системи у процесі дозування.

Рисунок 1



**Залежність ступеня вивільнення (G, %) етамбутолу гідрохлориду із супозиторіїв на різних основах від часу**

B - вітепсол; C - твердий жир і емульгатор № 1 у відсотковому співвідношенні (95:5); D - вітепсол і емульгатор № 1 у відсотковому співвідношенні (95:5); E - твердий жир; F - поліетиленоксид-1500

Крім того, при вивільненні етамбутолу із супозиторіїв, виготовлених із додаванням 5 % емульгатора №1, спостерігалось збільшення активної речовини в діалізаті як зі зразків на твердому жиру так і із зразків на основі вітепсолу W-35. Але найбільш повне вивільнення етамбутолу спостерігалось із супозиторіїв, виготовлених на основі твердого жиру з додаванням 5 % емульгатора № 1. Так, через 1 год після початку дослідження, вивільнялося 43 % етамбутолу, через 2 год – 65 %, а через 3, 4 і 5 год – близько 75 % (Рис.1).

Для вивчення стабільності супозиторіїв у процесі зберігання досліджували 5 серій лабораторних зразків препарату в чарунках із плівки полівинілхлоридної марки ЕП-73 С за ГОСТ 25250-88 при температурі 8-15 °С у сухому, захищеному від світла місці. Результати досліджень свідчать, що супозиторії з етамбутолом стабільні у процесі встановленого терміну придатності (2 роки).

Також було проведено вивчення фармакокінетики супозиторіїв з етамбутолом, яке дає можливість виявити передумови їх терапевтичної дії та успішного застосування. Це особливо важливо в терапії туберкульозу, тому що у крові хворих має знаходитися визначена концентрація туберкулостатиків, що виявляють бактерицидну активність по відношенню до мікобактерій туберкульозу [11].

Становило інтерес вивчити концентрацію етамбутолу в сироватці крові та час її утримання при одноразовому ректальному введенні терапевтичної дози супозиторіїв з етамбутолом у порівнянні з таблетками «Етамбутол», виробництва НВЦ "Борщівський ХФЗ".

Фармакокінетичні дослідження проведені на щурах лінії Вістар, масою 220 - 250 г. Тварини були розділені на 2 групи: першій групі одноразово ректально вводили супозиторії з етамбутолом у добовій терапевтичній дозі 0.01 г/кг (за етамбутолом); другій групі — одноразово внутрішньошлунково препарат порівняння - таблетки «Етамбутол» в аналогічній дозі.

Фармакокінетичні дослідження проводили в динаміці: до уведення препаратів, через 2, 6, 8, 10 і останнє через 24 год. Така постановка досліду викликана тим, що, за літературними даними, час появи етамбутолу у крові складає 2 год, із подальшим утриманням максимальної концентрації протягом 6-8 год.

Отримані в результаті експерименту дані (Табл. 1) свідчать, що застосування супозиторіїв супроводжується більш швидким (ніж із таблетки) всмоктуванням етамбутолу у кров експериментальних тварин. Так, через годину концентрація етамбутолу у крові тварин при використанні супозиторіїв у 3 рази вище, ніж при застосуванні таблеток. Максимальна концентрація етамбутолу у крові тварин при ректальному застосуванні спостерігається через 2 год і складає 0.189 мкг/мл, у той час як при пероральному застосуванні вона складає всього 0.07 мкг/мл, що, відповідно, у 3 рази нижче, ніж при ректальному застосуванні. Максимальна концентрація етамбутолу при пероральному уведенні спостерігається через 4 год, однак вона нижче, ніж при ректальному застосуванні, в 1.3 рази. Потім поступово концентрація етамбутолу у крові знижується, однак при ректальному застосуванні через 24 год у крові ще міститься 0.04 мкг/мл етамбутолу, у той час як при внутрішньошлунковому уведенні таблетованої форми етамбутол у крові експериментальних тварин не виявляється.

Таким чином, можна зробити висновок, що використання етамбутолу у вигляді супозиторіїв більш доцільно, тому що максималь-

на концентрація його у крові спостерігається вже через 2 год і утримується протягом 24 год. При прийомі таблеток етамбутолу пік концентрації його у крові спостерігається тільки через 4 год і утримується протягом 10-12 год, що узгоджується з даними літератури, згідно з якими максимальна концентрація етамбутолу у крові людини спостерігається через 3 – 4 год після прийому таблетки і до 24 год цілком відсутня [12].

Розрахунок деяких параметрів фармакокінетики супозиторіїв з етамбутолом, проведений у порівнянні з таблетками, показав, що площа під кривою збільшується на 83 %, продовжується час перебування препарату у крові, а також зберігається його максимальна концентрація. Константа швидкості елімінації при прийомі супозиторіїв з етамбутолом збільшується на 74 % у порівнянні з таблетками етамбутолу. Середній час утримання етамбутолу при ректальному уведенні (MRT<sub>po</sub>) на 43 % вище, ніж при пероральному застосуванні. Ступінь біодоступності супозиторіїв складає 1.4 у порівнянні з таблетками.

Таким чином, фармакокінетичні дослідження показали, що для розроблених супозиторіїв з етамбутолом характерні: тривале вивільнення діючої речовини з основи, пролонгація терапевтичної дії, висока біодоступність, тривалий (протягом 24 год) час утримання у крові необхідної терапевтичної концентрації етамбутолу.

На підставі проведених фізико-хімічних та біофармацевтичних досліджень розроблено такий склад супозиторіїв:

етамбутолу - 0.4 г

основи: - достатня кількість до одержання супозиторія масою 1.9 г (твердого жиру - 95 %, емульгатора № 1 - 5 %).

#### Висновки

1. У дослідях *in vitro* вивчено вивільнення етамбутолу із супозиторіїв, виготовлених на різних основах, із додаванням ПАР при уве-

Таблиця 1

**Порівняльне вивчення всмоктування етамбутолу із супозиторіїв та з таблетки (препарат порівняння) у кров щурів у динаміці (n =6)**

Лікарська форма	Концентрація препарату (мкг/мл) у крові						
	через 1 год	через 2 год	через 4 год	через 6 год	через 8 год	через 10 год	через 24 год
супозиторії	0.115 ± 0.011*	0.189 ± 0.018*	0.173 ± 0.015*	0.165 ± 0.02*	0.158 ± 0.02*	0.110 ± 0.015*	0.04 ± 0.002*
таблетки	0.037 ± 0.001	0.07 ± 0.001	0.136 ± 0.02	0.121 ± 0.02	0.105 ± 0.002	0.078 ± 0.018	-

\* - вірогідність відносно препарату порівняння, P < 0.05

денні діючої речовини у вигляді суспензії дрібно-дисперсного порошку.

2. Фармакокінетичні дослідження суппозиторіїв у порівнянні з таблетками свідчать про пролонгацію терапевтичної дії та більш високу біодоступність суппозиторіїв.

3. Встановлено оптимальний склад суппозиторіїв з етамбутолом, який забезпечує стабільність препарату у процесі встановленого терміну придатності.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Москаленко В.Ф., Фещенко Ю.І. Актуальні проблеми туберкульозу в Україні за 10 років // Укр. пульмонологічний журн. - 2001. - № 1. - С. 5 - 8.
2. Фещенко Ю.І., Мельник В.М. Медико-соціальні та організаційні аспекти фтизіопульмонології // Матеріали II з'їзду фтизіатрів і пульмонологів України (Київ, 20—23 жовтня 1998 р.). — Київ, 1998. - С. 19 - 22.
3. Фещенко Ю.І., Мельник В.М. Туберкульоз легень в період епідемії: епідеміологічні, клініко-діагностичні, лікувально-профілактичні та організаційні аспекти. — Київ: Логос, 1998. — 284 с.
4. Маркарян Е. Оценка контроля туберкулеза в Украине // Провизор. — 2000. - № 1. — С. 48.
5. Адамович В.Н., Рейдман И.Б. Непосредственные результаты химиотерапии этамбутолом больных с хроническим деструктивным туберкулезом легких // Врачебное дело. — 1973. - № 10. — С. 98-102.
6. Бяблик И.Б. Применение этамбутола в повышенных и обычных дозах при лечении больных с хроническими деструктивными формами туберкулеза легких // Проблемы туберкулеза. — 1988. - № 6. — С. 30-33.
7. Ершов А.И., Григалинас А.П., Васильева И.Р. Применение этамбутола в лечении туберкулеза // Там же. — 1973. - № 12. — С. 33-36.
8. Гризодуб А.И., Козлова Н.Г., Драник Л.И., Асмолова Н.Н., Георгиевский В.П., Калман Я. Стандартизация метода высвобождения *in vitro* биологически активных веществ из суппозиториев и мазей // Фармаком. — 1994. - № 12. - С. 4-20.
9. Topical Dermatological Drug Product NDAs and ANDAs — In-Vivo Bioavailability, Bioequivalence, In-Vitro Release, and Associated Studies. - U.S. FDA, 1998. - June.
10. SUPAC-SS. Non-sterile Semi-solid Dosage Forms, Scale-Up and Post Approval Changes: Chemistry, Manufacturing and Controls. - In Vitro Release Testing and In Vivo Bioequivalence Documentation. - U.S. Food and Drug Administration (FDA):Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 1997. - May.
11. Татарина Н.В., Кузулицына Т.И., Коротаев Г.А. Исследования концентрации этамбутола в крови больных туберкулезом // Проблемы туберкулеза. — 1974. - № 10. — С. 34-45.
12. Соколов Г.Б. Зил А.Б., Абрамович А.Г., Бессарабова Т.Н. Фармакокинетика этамбутола у больных туберкулезом легких // Фармакология и токсикология. — 1986. - № 5. — С. 40-42.

#### Резюме

Козлова Н.Г., Носальская Т.Н., Замараева Е.Е., Романова Я.Ю., Долейко Н.В., Горбач Т.В.

#### Суппозитории с этамбутолом – новая лекарственная форма на основе этамбутола для лечения туберкулеза

Работа посвящена проблеме заболеваемости населения Украины туберкулезом. Проведен комплекс научных исследований, в результате которых разработан новый лекарственный препарат противотуберкулезного действия — суппозитории с этамбутолом. Препарат обладает более высокой биодоступностью и более длительным терапевтическим действием по сравнению с существующей лекарственной формой — таблетками этамбутола.

#### Summary

Kozlova N.G., Nosalskaya T.M., Zamarayeva O.E., Romanova Ya. Yu., Doleyko N.V., Gorbach T. V.

#### Suppositories with ethambutol - the new dosage form on basis of ethambutol for tuberculosis treatment

This work concerns the problem of the Ukraine population illness for tuberculosis. A set of scientific researches was carried out, and as the result a new medicinal preparation with anti-tuberculosis action — the suppositories with ethambutol has been developed. This preparation possesses a higher bioavailability and longer therapeutic action in comparison with an existing dosage form - the ethambutol tablets.

**Козлова Неллі Георгіївна.** Закінчила Харківський державний університет (1968). Канд. фарм. наук (1983). Зав. сектором супозиторних лікарських форм (ССЛФ) (1999).

**Носальська Тетяна Миколаївна.** Закінчила Харківський зооветеринарний інститут (1982). Канд. біол. наук (1997). Ст. наук. співробітник ЛБФ ДНЦЛЗ (1997).

**Замараєва Олена Євгенівна.** Закінчила Харківський державний університет (1983). Наук. співробітник ССЛФ ДНЦЛЗ (1993).

**Романова Яна Юріївна.** Закінчила Українську фармацевтичну академію (УкрФА) (1996), магістратуру УкрФА (1998). Мол. наук. співробітник ССЛФ ДНЦЛЗ (2002).

**Долейко Наталія Вікторівна.** Закінчила Харківський державний університет (1990). І. о. ст. наук. співробітника сектору ВЯЛЗ ДНЦЛЗ (1996).

**Горбач Тетяна Вікторівна.** Канд. біол. наук. Ст. наук. співроб. ЦНДЛ ХМУ.

УДК 615.281: 661.183.6.001.5

Зайцев О.І., Пашнєв П.Д., Гладух Є.В.  
Національний фармацевтичний університет

## Розробка складу та технології таблетованої форми на основі лікарської субстанції Цеоліт

Вивчені фізико-хімічні та технологічні властивості субстанції Цеоліт. Розроблено склад та технологію таблеток. Досліджено вплив допоміжних речовин на показники якості таблеток та вивчена кінетика вологопоглинання порошків при відносній вологості 100 %.

Явище адсорбції поширене у природі, і будь-який процес на поверхні поділу фаз включає, як одну із стадій, фізичну адсорбцію. У даний час адсорбційні процеси відіграють важливу роль у різноманітних технологіях. За допомогою адсорбентів здійснюється глибоке осушення і тонке очищення газів і рідин, уловлювання летких розчинників, поглинання шкідливих промислових викидів, що забруднюють атмосферу і водні басейни, виділення із сумішей газів і парів цінних складових для їх подальшої хімічної та біологічної переробки [2]. Адсорбенти широко застосовуються у хімічній, харчовій, фармацевтичній та інших галузях народного господарства [5-9]. Багато які з них є ефективними каталізаторами або носіями активних речовин. У захисті довкілля [3-12] від забруднень шкідливими відходами промисловості та транспорту саме адсорбенти останнім часом відіграють вирішальну роль, тому що у порівнянні з іншими засобами вони забезпечують більш глибоке очищення.

У медицині адсорбенти використовуються для поглинання отруйних речовин при шлункових та інших захворюваннях, очищення крові. У фармацевтичній промисловості за допомогою адсорбентів проводять очищення анестезуючих речовин, виділення й очищення вітамінів, антибіотиків, на їх основі створено ряд фармацевтичних препаратів [10-11].

До промислових адсорбентів, придатних до сорбції завдяки добре розвиненій системі пор, відносять активоване вугілля і глини, неорганічні гелі (силікагель, активний оксид алюмінію), а також кристалічні алюмосилікати - цеоліти.

Перспективність використання цеолітів у медицині та фармації пов'язана з тим, що вони мають більш високу вибірну здатність і адсорбційну ємність у порівнянні з такими широко застосовуваними адсорбентами як силікагель і активоване вугілля, що на відміну

від цеолітів не мають упорядкованої кристалічної структури і тому характеризуються неоднорідною пористістю. Розмір пор у них може бути як від 2 нм до 5 нм, так і від 5 нм до декількох сотень нм, а цеоліти мають майже однакові за розміром пори (від 0.3 нм до 1.0 нм), розмір пор цеоліту визначається будовою елементарної комірки і типом цеоліту.

Із метою створення лікарського препарату адсорбційної дії в якості субстанції був використаний синтетичний цеоліт типу NaA. Метою проведених досліджень була розробка оптимального складу та технології таблетованої лікарської форми.

### Матеріали та методи

Об'єктом досліджень стала субстанція Цеоліт. Кристалографічні характеристики субстанції та визначення лінійних розмірів часток здійснювали за допомогою мікроскопу МБІ – 15 при збільшенні у 200 разів.

Для вивчення вологопоглинання порошків їх розташували у замкнутому просторі, де при температурі 20 °С підтримували постійну 100 % вологість повітря, яка створювалася водою. Вміст вологи у порошках визначали експрес-воломіром ВТ – 500 кожної години протягом доби.

Як допоміжні речовини застосовували аеросил, крохмаль, кальцію стеарат. Для покращення технологічних властивостей порошки піддавали вологому гранулюванню. Були застосовані такі зволожувачі: вода очищена та розчини крохмалю 5 %, 10 %.

Змішування порошків здійснювали у такій послідовності: до просіяної крізь сито субстанції Цеоліт додавали просіяний аеросил та крохмаль, потім зволожували. Вологу масу гранулювали крізь сито з розміром отворів 1 мм. Сушення гранул здійснювали у сушильній шафі полицного типу при температурі  $(40 \pm 1)^\circ\text{C}$  до залишкової вологості  $(2 \pm 0.5) \%$ .

Висушені гранули знову піддавалися грануляції крізь те саме сито. Далі гранули опуд-



рювали кальцію стеаратом і таблетували на настільній таблетковій машині типу НТМ – 01 Е пуансонами діаметром 12 мм і одержували таблетки середньою масою 0.50 г.

Одержані таблетки контролювали за зовнішнім виглядом, стійкістю до роздавлювання, розпаданням, стираністю та середньою масою [1].

*Результати та їх обговорення*

Субстанція Цеоліт являє собою полідисперсний порошок із частками ізометричної форми. Середній розмір часток становить 4-15 мкм.

Таблиця 1

**Вологопоглинання субстанції Цеоліт при відносній вологості повітря 100 %**

Тривалість випробування, год.	1	2	3	4	5	7
Вологопоглинання субстанції, %	2.8	4.3	5.1	5.5	5.6	5.7

У Табл.1 наведені дані дослідження вологопоглинання субстанції у замкнутому просторі з 100 % вологістю повітря. Видно, що активне вологопоглинання проходить у перші чотири години, а потім досягає майже постійного значення 5.6-5.7 %.

Субстанцію Цеоліт, що має низьку плинність і високі показники пресуємості, піддавали вологій грануляції. Склади та властивості таблеткових мас наведені у Табл. 2.

Із усіх складів, що вивчалися, п'ять відповідають вимогам Державної Фармакопеї України за показниками плинність, розпадання, стійкість до роздавлювання та стираність [1]. Серед них склад № 8 має гранично допустиме значення стираності – 1 %, крім того, слід

враховувати, що зберігання таблеток може призвести до погіршення цього показника. Оптимальним є склад № 2, який має задовільні показники зі стійкості до роздавлювання, розпадання і найнижчий показник стираності.

Виходячи із результатів проведених досліджень, встановили, що таблетки зі складом: субстанція Цеоліт – 0.4 г; аеросил – 0.015 г; крохмаль – 0.08 г; кальцію стеарат – 0.005 г (у розрахунку на одну таблетку середньою масою 0.50 г) найкраще відповідають вимогам ДФУ за показниками розпадання, стійкість до роздавлювання, стираність [1].

Порівняні показники якості субстанції та грануляту на основі складу № 2 наведені в Табл. 3.

Таблиця 3

**Технологічні властивості субстанції Цеоліт та грануляту**

Показники якості	Одиниці вимірювання	Значення параметрів	
		субстанція Цеоліт	гранулят №2
Насипна густина	г/мл <sup>3</sup>	0.666±0.01	0.55±0.01
Плинність	г/с	1.7±0.08	3.81±0.15
Кут природного укосу	град	45±1	32±1
Пресуємість (за стійкістю до роздавлювання)	Н	20±1	62±2

При пресуванні грануляту на якість одержаних таблеток значно впливає вміст вологи в гранулах після сушення (Табл. 4).

Із проведених дослідів видно, що при вмісті вологи у грануляті вищому за оптимальний, спостерігається налипання таблеткової маси на прес - інструмент, а також

Таблиця 2

**Склади та показники якості таблеткових мас, виготовлених на основі субстанції Цеоліт**

	№ складу							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Субстанція Цеоліт, г	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Аеросил, г	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	0.015	0.010	0.02
Крохмаль, г	0.08	0.069	0.0567	0.0275	0.0716	0.0663	0.074	0.064
Вода очищена, мл	0.23	-	-	-	-	-	-	-
Розчин крохмалю 5 %, мл	-	0.251	-	-	0.188	0.294	0.251	0.251
Розчин крохмалю 10 %, мл	-	-	0.263	-	-	-	-	-
Кальцію стеарат, г	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
Плинність, г/с	3.9	3.4	2.3	2.0	3.2	2.1	3.8	2.6
Розпадання, хв	1.3	2.0	3.5	5.6	1.7	5.0	2.8	1.6
Стійкість до роздавлювання, Н	45	62	88	111	51	99	54	63
Стираність, %	5	0.2	0.3	0.3	4	0.4	4	1

Таблиця 4

## Вплив вмісту вологи у таблетковій масі на показники якості таблеток

Вміст вологи у гранулах, %	Плинність, г/с	Стійкість до роздавлювання, Н	Розпадання таблеток, хв.	Примітка
40	2.7	35	1.0	Залипання таблеток
25	2.9	42	1.5	Залипання таблеток
8.0	3.2	54	2.0	Незначне залипання таблеток
3.5	3.4	62	2.0	Зовнішній вигляд таблеток відповідає вимогам ДФУ, залипання немає
3.1	4.0	60	2.1	Зовнішній вигляд таблеток відповідає вимогам ДФУ, залипання немає

зменшення стійкості таблеток до роздавлювання.

**Висновки**

1. Вивчено фізико-хімічні та технологічні властивості субстанції Цеоліт, що дозволило провести цілеспрямований вибір допоміжних речовин для розробки таблетованої форми препарату.

2. Розроблені склад та технологія таблеток на основі субстанції Цеоліт.

3. Вивчені показники якості таблеток: стиранисть, стійкість таблеток до роздавлювання та розпадання.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
2. Мирский Я.В., Митрофанов М.Г., Дорогочинский А.З. Новые адсорбенты – молекулярные сита. – Грозный.: Чечено-ингушское книжное из-во, 1964. – 107 с.
3. Николаев В.Н. О возможности и перспективе использования цеолитов в экологически безопасных агротехнологиях // Природные цеолиты России. – Новосибирск, 1992. – С. 50-52.
4. Сендеров Э.Э., Хитаров Н.И. Цеолиты, их синтез и условия образования в природе. - М.: Из-во «Наука», 1970. - 283 с.
5. Теоретические и прикладные проблемы внедрения природных цеолитов в народном хозяйстве России // Тез. респ. конф. – Новосибирск: Из-во ВАСХНИЛ, 1992. – С. 57-59; 97-130; 90-91; 102; 103.
6. Хорунжина С.И. Пути использования цеолитов для водоподготовки в производстве напитков // Природные цеолиты России. – Новосибирск: Из-во ВАСХНИЛ, 1992. – С. 61- 62.
7. Хохлов В.А. Шеломенцев Ю.А. и др. Получение и исследование катионообменных полимеров с ионообменными антисептиками или антибиотиками // Ионный обмен и иониты. - Л.: Наука, 1970. – С. 289-292
8. Цеолиты в народном хозяйстве: Тез. Всесоюзного совещ. – Новосибирск: Из-во ВАСХНИЛ, 1992. – С. 120-121; 149; 186-203.
9. Цицишвили Г.В. Адсорбенты, их получение, свойства и применение. - Л.: Наука, 1971. – 101 с.
10. Чуешов В.И., Рыбачук Д.В., Крутских Т.В. и др. Перспективы использования цеолитов Украины в научной

фармации и медицине // Достижения современной фармации та перспективи її розвитку у новому тисячолітті: Матеріали V національного з'їзду фармацевтів України. – Харків: Видавництво УкрФА, 1999. – С. 231-232.

11. Чуешов В.И., Рыбачук Д.В. Природные минералы в фармации и медицине // Теория і практика створення лікарських препаратів: Матеріали конференції, присвяченої 75 річниці з дня народження ректора УкрФА Д.П. Сало. – Харків: Основа, 1998. - С. 126-130.

12. Шадрин А.М. О перспективе применения цеолитовых туфов при охране окружающей среды животноводческих комплексов // Природные цеолиты России. – Новосибирск: Из-во ВАСХНИЛ, 1992. – С 48-49.

**Резюме**

Зайцев А.И., Пашнев П.Д., Гладух Е.В.

**Разработка состава и технологии таблеточной формы на основе лекарственной субстанции Цеолит**

Изучены физико-химические и технологические свойства субстанции Цеолит. Разработан состав и технология таблеток. Исследовано влияние вспомогательных веществ на показатели качества таблеток и изучена кинетика влагопоглощения порошков при относительной влажности 100 %.

**Summary**

A.I. Zaitsev, P.D. Pashnev, E.V. Gladuh

**Development of composition and technology of the medicinal substance Zeolite tablet form**

The physicochemical and technological characteristics of the Zeolite substance were studied. The composition and technology of tablets was developed. The influence of excipients on tablet quality attributes was investigated and the kinetics of moisture absorption of powders upon the 100 % relative humidity was studied.

**Зайцев Олександр Іванович** (н. 1961). Закінчив Харківський політехнічний інститут (1983). Зав. каф. інженерних та інформаційних технологій Національного фармацевтичного університету (НФаУ) (1992). Канд. тех. наук (1987). Доцент (1991).

**Пашнев Петро Дмитрович**. Доктор фарм. наук. Професор кафедри "Заводська технологія ліків" НФаУ.

**Гладух Євген Володимирович**. Канд. фарм. наук. Доцент кафедри "Косметологія та аромологія" НФаУ.

## Аналіз

УДК 543.544:615.07

Куликов А.Ю., Верушкин А.Г.

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

### **Высокоэффективная жидкостная хроматография в фармацевтическом анализе. Сообщение 2. К вопросу о допустимых изменениях в хроматографической системе**

В статье рассмотрены вопросы допустимой корректировки условий хроматографирования при воспроизведении аналитической методики. Рассмотрены варианты, предлагаемые Европейской Фармакопеей, и даны обоснованные рекомендации о возможных изменениях в хроматографической системе.

Ранее [1] нами были рассмотрены вопросы взаимозаменяемости колонок и приведены соответствующие рекомендации.

В высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) наряду с вопросом взаимозаменяемости колонок важным является тест «Проверка пригодности хроматографической системы».

Нередко в том или ином пункте теста «Проверка пригодности хроматографической системы» отмечают, что для достижения указанной величины конкретного параметра пригодности хроматографической системы допускается корректировка состава подвижной фазы.

Данная формулировка достаточно неопределенная и требует более детального рассмотрения. Кроме того, в рамках этого вопроса следует рассмотреть еще один, который возникает при воспроизведении методики: в каких пределах возможны изменения в хроматографической системе при воспроизведении методики на аналогичной колонке. Не всегда аналитик имеет в своем распоряжении колонку, указанную в аналитической нормативной документации (АНД). В ведущих Фармакопеях, так же как и в Государственной Фармакопее Украины, вообще не приводятся названия колонок, и аналитику приходится использовать колонки, имеющие характеристики, схожие с характеристиками колонок, указанных в монографиях.

Поэтому вопрос о допустимых изменениях в хроматографической системе, наряду с вопросом о взаимозаменяемости колонок, является важным и требует детального рассмотрения.

Допускаемые изменения в хроматографической системе должны быть исследованы аналитиком при разработке методики. Об-

щие требования к изменениям в хроматографических условиях для уже разработанных методик даны в [2] в разделе 2.2.46 «Chromatographic separation techniques». Для наглядности приведем дословный перевод этих требований, так как при рассмотрении допустимых изменений будем на них опираться.

*Состав подвижной фазы:* количество минорного растворителя может быть отрегулировано на величину  $\pm 30\%$  (относительных) или  $\pm 2\%$  (абсолютных), в зависимости от того, какая из этих величин большая. Количество ни одного из компонентов подвижной фазы не может быть изменено более чем на  $10\%$  (абсолютных).

*pH водного компонента подвижной фазы:* показатель может быть изменен на  $\pm 0.2$ , если иная величина не указана в монографии, или на  $\pm 1.0$  при анализе нейтральных субстанций.

*Концентрация буферного компонента в подвижной фазе:* концентрация буферного компонента в подвижной фазе может изменяться в пределах  $\pm 10\%$  (относительных).

*Длина волны детектирования:* должна быть неизменной.

*Хроматографическая колонка:*

- длина колонки:  $\pm 70\%$

- внутренний диаметр колонки:  $\pm 25\%$

- размер частиц: максимальное уменьшение -  $50\%$ ; не допускается увеличение размера частиц.

*Скорость потока подвижной фазы:*  $\pm 50\%$ .

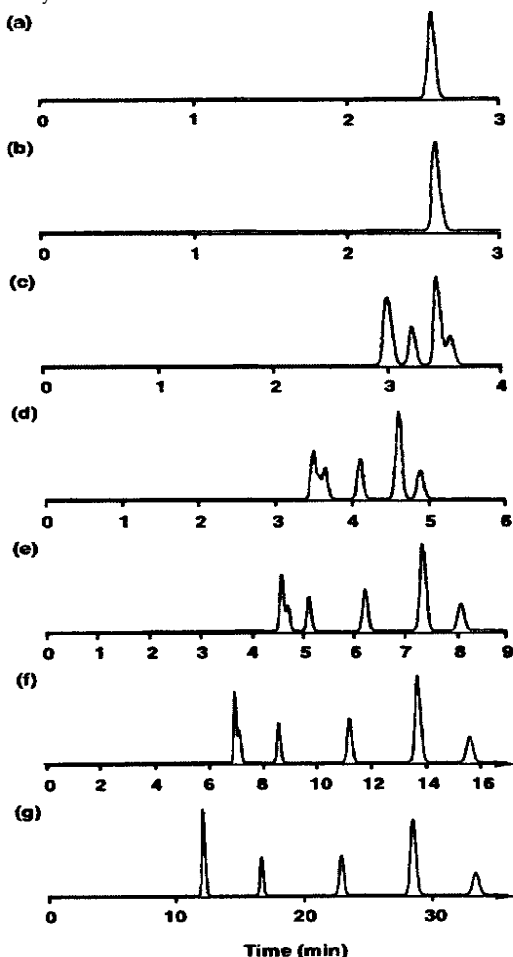
*Температура колонки:*  $\pm 10\%$ ; максимум - до температуры  $60^\circ\text{C}$ .

*Объем пробы:* объем пробы может быть уменьшен при условии, что чувствительность детектора и сходимость пиков при определении остается удовлетворительной.

*Программа градиентного элюирования:* конфигурация используемого хроматографического оборудования может приводить к некоторым различиям в разделении, времени удерживания и относительных временах удерживания по отношению к описанным в монографии. Если такие изменения происходят при хроматографировании, это может являться следствием изменения «мертвого» объема системы – объема между точкой смещения элюентов и началом хроматографической колонки.

Рассмотрим возможности применимости указанных изменений и влияние этих изменений на хроматографическое поведение анализируемых веществ.

Рисунок 1



Хроматограммы образца, содержащего нейтральные ароматические соединения, полученные при использовании подвижных фаз с различным содержанием ацетонитрила

колонка С18 размером (250\*4.6) мм; скорость подвижной фазы 1 мл/мин [3]

### Состав подвижной фазы

Согласно [3-6] изменение в составе подвижной фазы органического растворителя на 10 % приводит к изменению фактора удерживания приблизительно в 4 раза (Табл. 1, Рис. 1).

Рассмотрим предлагаемые Европейской Фармакопеей изменения. Непонятно, на какую величину следует изменять состав подвижной фазы: на два абсолютных процента или на большую из указанных величин. Так, например, при использовании подвижной фазы с содержанием органического растворителя 20 % (по объему) возможны следующие изменения:  $(20 \pm 6)$  % (30 % относительных) или  $(20 \pm 2)$  % (2 % абсолютных). При этом, согласно данным Табл. 1, изменение на 6 % может привести к изменению удерживания вещества примерно в два раза.

На Рис. 2 представлены хроматограммы, которые иллюстрируют изменения в хроматографической системе при изменении содержания тетрагидрофурана в подвижной фазе в пределах  $\pm 2$  % от номинального содержания 55 %: 53 % (А), 55 % (В) и 57 % (С). Как видно, изменение содержания тетрагидрофурана в подвижной фазе приводит к изменению времени удерживания, в результате компоненты 5 и 6 не разделяются (хроматограмма С). Какими же были бы изменения в системе при отклонениях  $\pm 16.5$  % по тетрагидрофурану или  $\pm 13.5$  % по воде (30 % относительных)? Получается большой разбег в концентрации органического модификатора – почти 30 %. И такие примеры не единичны.

Следовательно, однозначно давать такую рекомендацию по изменению в составе подвижной фазы не совсем корректно. При разработке методики необходимо проверять чувствительность системы к рекомендованным изменениям и, при необходимости, в

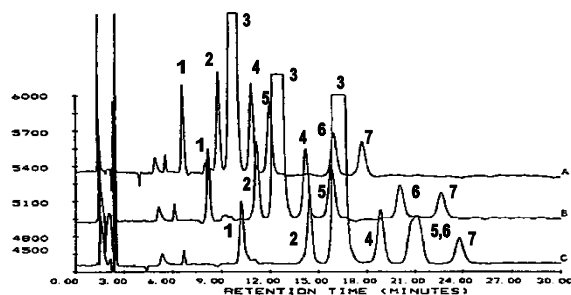
Таблица 1 к Рисунку 1

% CH <sub>3</sub> CN	k	Интервал времени удерживания, мин
90 (a)	0-0	2.5-2.5
70 (b)	0-0	2.6-2.6
50 (c)	0.2-0.4	3.0-3.5
45 (d)	0.4-0.9	4.5-4.9
40 (e)	0.8-2.2	4.6-8.0
35 (f)	1.7-5.1	6.9-15
30 (g)	3.7-12	12-33
25	8-28	23-75
20	17-67	46-147

примечаниях к методике давать рекомендации о возможности изменений в хроматографической системе.

Однако считаем возможным оставить пределы изменения содержания минорного компонента в подвижной фазе  $\pm 2\%$  от указанного в методике, но дополнительно оговаривать, что все эти изменения должны быть в рамках выполнения теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

Рисунок 2

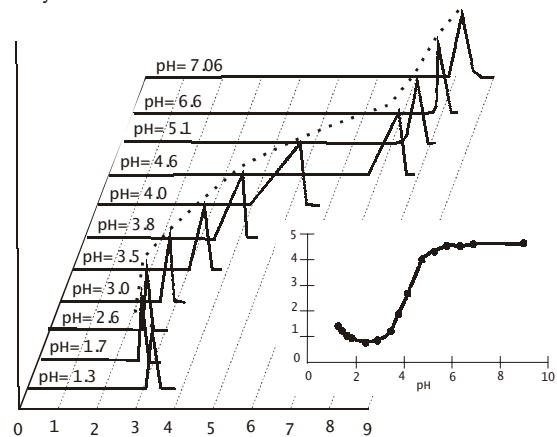


**Влияние изменения содержания тетрагидрофурана в подвижной фазе на разделение компонентов циклоспорина на колонке LiChrospher RP18.**

*pH водного компонента подвижной фазы*

Регламентация изменения pH водного компонента на  $\pm 0.2$  для ионизируемых соединений или  $\pm 1.0$  при анализе нейтральных соединений достаточно обоснованна.

Рисунок 3



**Влияние изменения pH подвижной фазы на удерживание анилина**

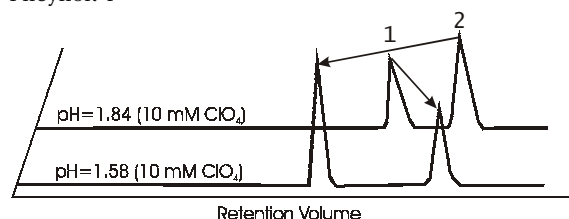
колонка Zorbax XDB-C18; подвижная фаза: ацетонитрил - 10 мМ раствор  $K_2HPO_4$ , доведенный до pH 1.3-8.6  $HClO_4$  (10:90); скорость подвижной фазы 1 мл/мин

На Рис. 3 представлена зависимость формы хроматографического пика и удерживания анилина от величины pH подвижной фазы [7]. Из рисунка видно, что изменение

pH приводит к усилению влияния вторичных равновесных эффектов (увеличение удерживания и асимметрии за счет возрастания активности остаточных силанольных групп). Поэтому большие изменения pH для ионогенных соединений ведут к значительным изменениям в хроматографическом поведении последних.

С другой стороны (Рис. 4), для пары о-хлоранилин - фенилэтиламин даже незначительные изменения pH могут привести к так называемому «хаотропному эффекту» (chaotropic effects) - изменению порядка выхода анализируемых соединений.

Рисунок 4



**Влияние изменения pH подвижной фазы на порядок выхода фенилэтиламина (1) и о-хлоранилина (2)**

колонка Zorbax XDB-C18; подвижная фаза: ацетонитрил - вода, доведенная до pH 1.58 и 1.84  $HClO_4$  (10:90); скорость подвижной фазы 1 мл/мин [7]

Поэтому, давая рекомендации о возможности изменения pH, необходимо, чтобы эти изменения были исследованы и представлены в валидационных отчетах. В случаях, когда может наблюдаться «хаотропный эффект», в примечаниях к методике необходимо или указывать точный интервал pH подвижной фазы, или вводить дополнительные пояснения.

*Концентрация буферного компонента в подвижной фазе*

Концентрация буферного компонента в подвижной фазе может изменяться в пределах  $\pm 10\%$  - тоже достаточно обоснованная величина, подтверждение которой необходимо предоставлять в валидационных отчетах. Влияние солевого буфера на удерживание различных компонентов приведено на Рис. 5. Видно, что небольшие изменения (в пределах  $\pm 10\%$ ) не вызывают значимого изменения в удерживании.

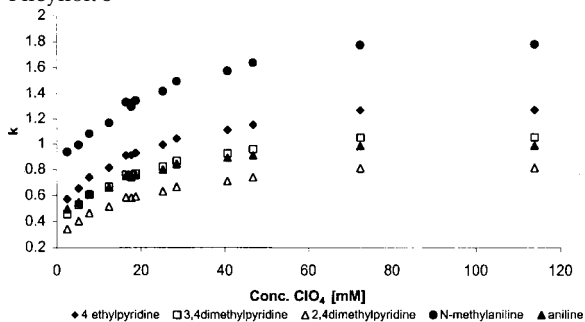
Однако следует отметить, что данная рекомендация не относится к ионообменной и эксклюзионной хроматографии, где даже небольшие изменения солевого фона могут

привести к кардинальным изменениям в хроматографической системе.

#### Длина волны детектирования

Длина волны детектирования должна быть неизменной, что не подвергается никакому сомнению. Никаких изменений в длине волны при анализе с использованием разработанной методики (описанной в Фармакопеях или АНД) не допускается. Однако при использовании диодно-матричного детектора изменение длины волны должны находиться в пределах погрешности установки длины волны ( $\pm (1.0-2.0)$  нм).

Рисунок 5



**Влияние изменения концентрации перхлорат-иона на удерживание различных соединений**  
колонка Zorbax XDB-C18;

подвижная фаза: ацетонитрил - перхлоратный буферный раствор с указанной концентрацией (10:90) [7]

#### Хроматографическая колонка

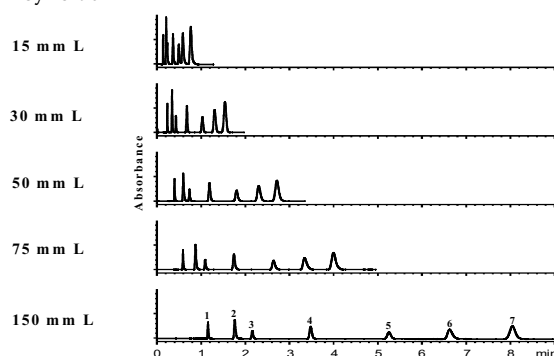
Простое изменение в геометрии колонки без соответствующего изменения в составе подвижной фазы, температуры колонки, скорости подвижной фазы невозможно. Все эти изменения могут происходить только в совокупности, и нельзя просто изменить геометрию колонки без дополнительных изменений в системе.

На Рис. 6 представлено изменение времени удерживания для ряда анальгетиков в зависимости от длины колонки. Рисунок представлен для колонок с внутренним диаметром 2 мм. Однако можно представить, что аналогичная картина, но в несколько большем масштабе, будет наблюдаться и для колонок диаметром 4 мм.

Изменение внутреннего диаметра колонки может привести не только к размыванию хроматографической полосы (зоны) вследствие увеличения слоя сорбента, но и к уменьшению интенсивности сигнала спектрофотометрического детектора [8]. Кроме того, простое изменение диаметра колонки без соответствующего ему изменения скоро-

сти подвижной фазы невозможно. В этом случае также необходимо уделить внимание объему вводимой в колонку пробы, так как при уменьшении внутреннего диаметра колонки возможен момент, когда объем вводимой пробы станет сопоставимым с внутренним объемом колонки. Это в конечном итоге приведет к уширению хроматографического пика, особенно для слабоудерживаемых соединений, а при сокращении объема пробы (для уменьшения этого эффекта) может ухудшиться чувствительность метода.

Рисунок 6

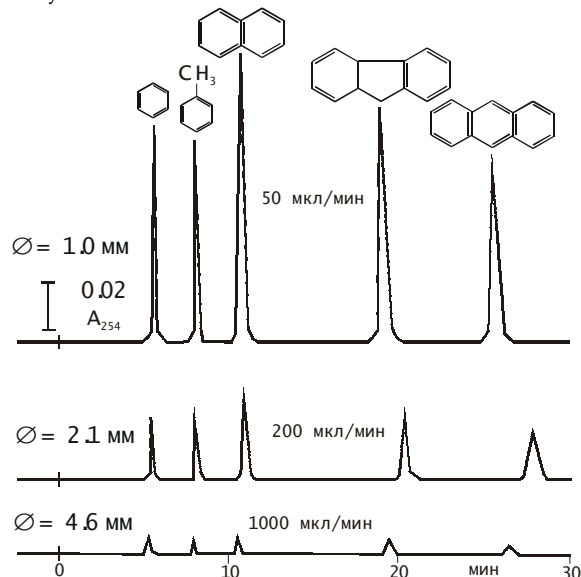


#### Зависимость времени удерживания от длины колонки

колонка - Zorbax SB-C18 размером L\*4.6 мм;

1 - 4-ацетиамидофенол, 2 - кофеин,  
3 - 2-ацетиамидофенол, 4 - ацетанилид,  
5 - аспирин, 6 - кислота салициловая,  
7 - ацетофенитидин

Рисунок 7



#### Влияние уменьшения внутреннего диаметра колонки на интенсивность сигнала УФ-детектора

Что касается размера частиц — это вопрос, на который однозначно ответить невозможно. Рассмотрим рисунки, на которых

приведены хроматограммы, полученные при определении примесей карбамазепина на нитрильной колонке (Рис. 8) и при анализе модельной смеси на колонке Nucleosil C18 размером (150\*4.6) мм (Рис. 9).

Как видно из приведенных рисунков, в одном случае (Рис. 8) наблюдается слияние пиков (3 и 4) при уменьшении размера частиц сорбента при переходе от колонки *a* к колонке *b*, а также увеличение времени удерживания и размывание пика иминодибензила, в другом (Рис. 9) - только изменение времени удерживания компонентов пробы. Если во втором случае изменение размера частиц сорбента не приводит к заметным изменениям в хроматографическом поведении разде-

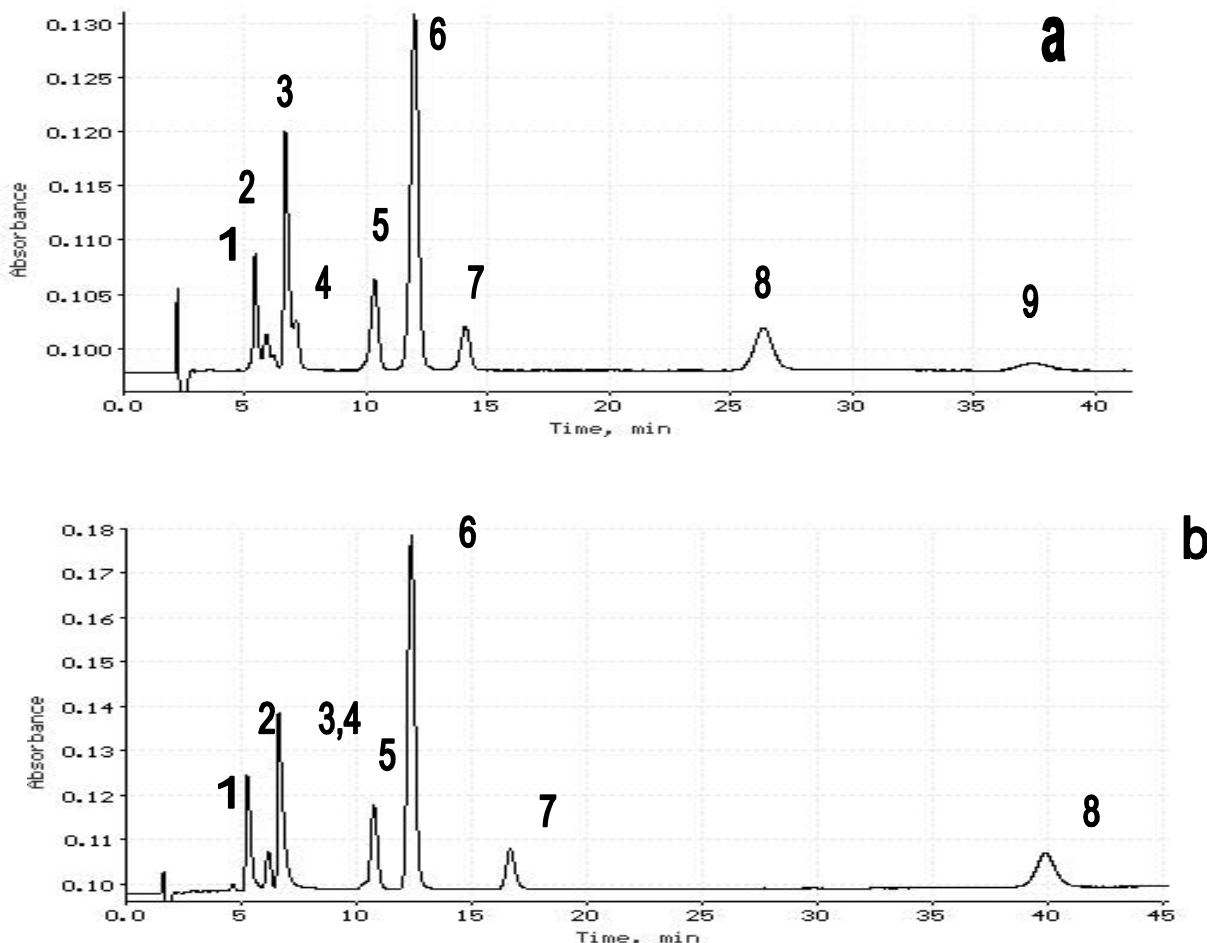
ляемых веществ, то в случае с карбамазепином возможно «сокрытие» примесей.

Поэтому к изменению размера частиц сорбента необходимо относиться крайне осторожно, и, по возможности, размер частиц сорбента должен оставаться таким, какой указан в монографии. Однако если разработчик провел исследования на различных колонках, в том числе и с различной величиной частиц сорбента, в методике можно сделать оговорку о возможности такого изменения.

*Скорость потока подвижной фазы*

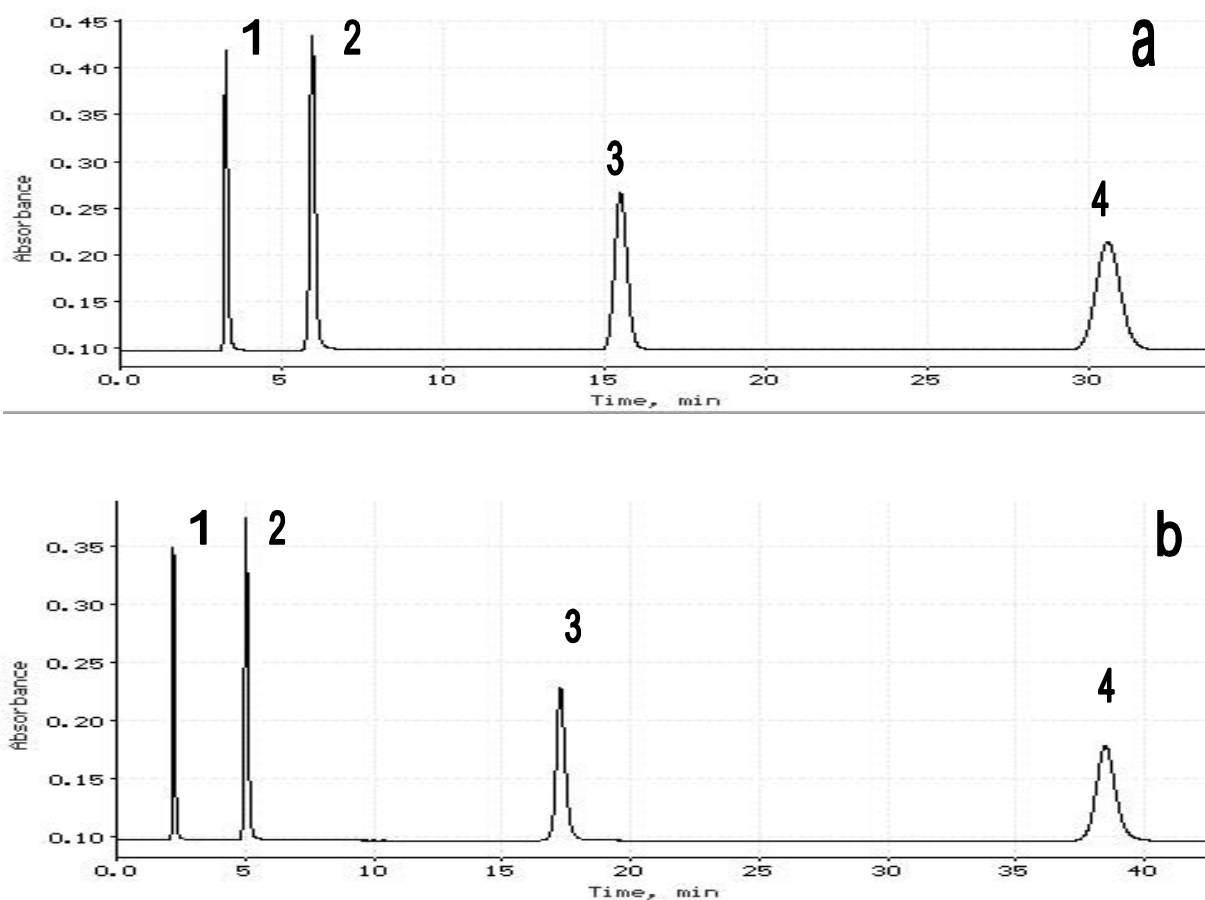
На Рис. 10 представлены хроматограммы тестовой смеси анальгетиков, полученные на микроколонке (30\*2 мм) при различных скоростях подвижной фазы. При этом для последнего компонента время удерживания

Рисунок 8



**Определение примесей в карбамазепине на нитрильной колонке с размером частиц 5 мкм (a) и 3 мкм (b)**  
 1 - акридин; 2 - 10,11-дигидрокарбамазепин; 3 - 9-метилакридин; 4 - карбамазепин оксид;  
 5 - 10, 11-дегидрокарбамазепин; 6 - карбамазепин; 7 - акридон; 8 - иминостильбен; 9 - иминодибензил;  
 подвижная фаза: ТГФ-МеОН-вода (3:12:85) с 4 мл/л муравьиной кислоты и 2 мл/л триэтиламина (pH = 3.2±0.1);  
 скорость подвижной фазы 1 мл/мин; температура колонки 30 °С.

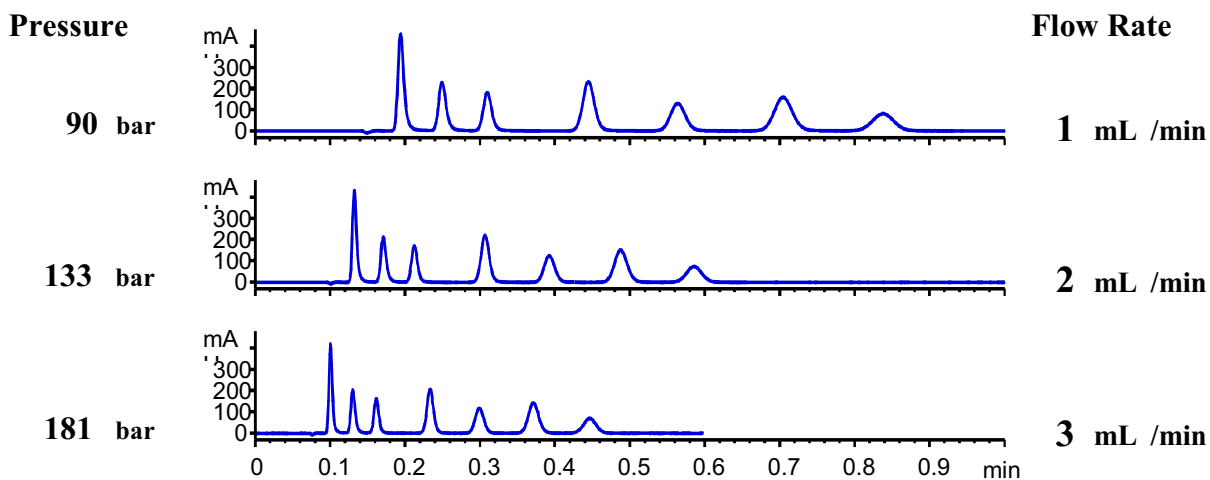
Рисунок 9



Хроматограмма модельной смеси на колонке Nucleosil C18 размером (150\*4,6) мм, заполненной сорбентом с размером частиц (а) 10 мкм и (b) 5 мкм

1 - урацил; 2 - 4-гидроксibenзойная кислота; 3 - метил-4-гидроксibenзоат; 4 - этил-4-гидроксibenзоат; подвижная фаза: ацетонитрил-0.01М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH 3.0 (2:8); скорость подвижной фазы 1 мл/мин; температура колонки 30 °С.

Рисунок 10



Зависимость времени удерживания от скорости подвижной фазы

колонка - Zorbax SB-C18 размером (150\*4,6) мм;  
1 - 4-ацетамидофенол, 2 - кофеин, 3 - 2-ацетамидофенол, 4 - ацетанилид, 5 - аспирин,  
6 - кислота салициловая, 7 - ацетофенитидин



уменьшается почти в 2 раза, но сохраняется селективность разделения. Следовательно, изменения скорости подвижной фазы возможно только при условии выполнения требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

Однако изменение на величину  $\pm 50\%$  считаем достаточно значительными. Так, при регламентируемой скорости подвижной фазы 2 мл/мин такое изменение будет составлять 1-3 мл/мин. Предлагаем изменения на величину  $\pm 25\%$ , то есть для нашего случая 1.5-2.5 мл/мин, что более приемлемо. Именно такими изменениями пользуемся мы при корректировке скорости подвижной фазы при воспроизведении методик.

**Температура колонки**

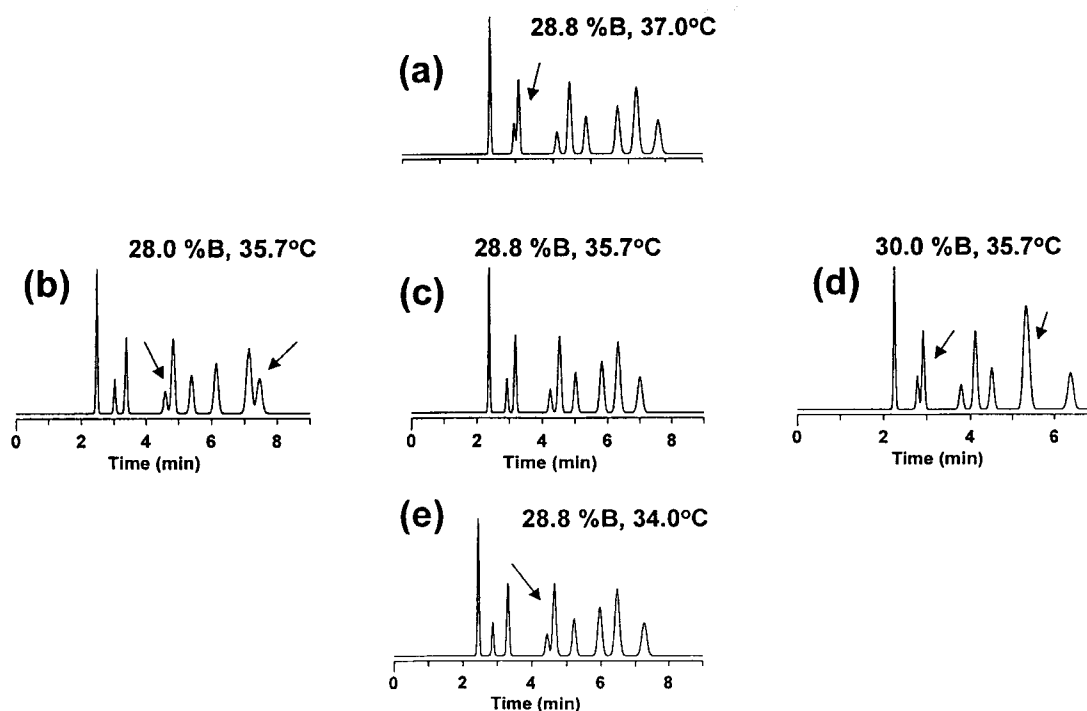
Повышение температуры колонки увеличивает кинетику массопередачи, что в конечном итоге приводит к уменьшению времени удерживания: изменение температуры колонки на 1 °C влечет за собой изменение времени удерживания в среднем на  $\pm 2\%$ .

На Рис. 11 показана зависимость разделения компонентов смеси от температуры колонки. Как видно из рисунка, не всегда повышение температуры может привести к улучшению хроматографического разделения [9] - степень разделения компонентов 2, 3 и 5, 6 при повышении температуры колонки ухудшилась.

На Рис. 12 представлены хроматограммы, полученные при разных температурах и составах подвижной фазы [10]. Как видно из приведенных хроматограмм, даже небольшие изменения температуры хроматографической колонки или состава подвижной фазы могут привести к значительным изменениям в получаемых хроматограммах. Поэтому однозначные выводы о влиянии температуры колонки и состава подвижной фазы на хроматографическое поведение веществ сделать затруднительно, тем более давать какие-либо рекомендации (особенно такие, которые дает Европейская Фармакопея).

Следовательно, изменение температуры колонки возможно только при выполнении

Рисунок 12



**Зависимость разделения смеси веществ от температуры колонки и содержания органического модификатора в подвижной фазе**

смесь: фенол, п-хлорфенол, 2,3-дигидрокси-нафталин, 1,3-дигидрокси-нафталин, ацетофенон, гидрокортизон, нортриптилин, 2-фенилпиридин, 3-нитробензойная кислота, 2,6-диметилбензойная кислота;  
 колонка Zorbax StableBond-100; подвижная фаза - (А) - 31.5 мМ фосфатный буфер рН 2.8; (В) - ацетонитрил.

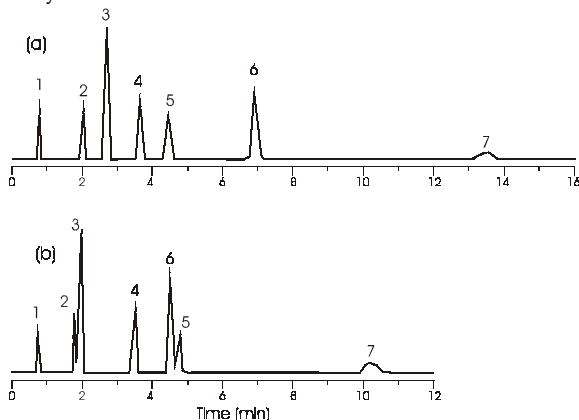
требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

### Объем пробы

Изменение объема пробы, предлагаемое Европейской Фармакопеей, применимо для однокомпонентной пробы при количественном определении, если основное вещество достаточно хорошо отделяется от вспомогательных компонентов пробы. При анализе многокомпонентной пробы или определении содержания примесей использование данного утверждения сомнительно. Аналитическая методика разрабатывается с таким расчетом, чтобы все параметры были оптимальны. При разработке методики экспериментальным путем устанавливаются оптимальные нагрузки на колонку, и хотя проверяется диапазон линейности методики, работать лучше в тех концентрациях и объемах, которые указаны в методике.

Кроме того, данная формулировка точно не оговаривает степень изменения объема пробы. Изменения методики «по желанию аналитика» недопустимы для утвержденной методики.

Рисунок 11



### Разделение, полученное при температуре 54 °C (a) и 75 °C (b)

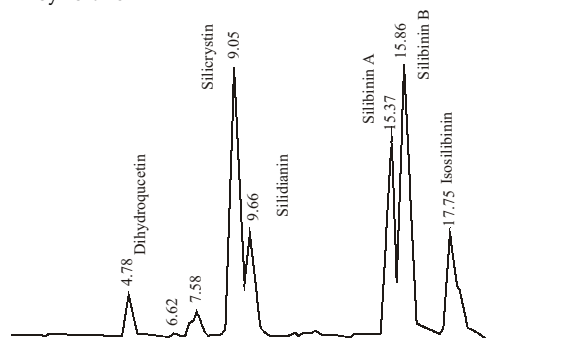
колонка C18 размером (150\*4.6) мм, заполненная сорбентом с размером частиц 5 мкм; подвижная фаза - ацетонитрил-вода (90:10); 1 - урацил, 2 - нитроэтан, 3 - фталевая кислота, 4 - 3,5-диметиланилин, 5 - 4-хлорбутан, 6 - 3-цианобензойная кислота, 7 - 1-нитробутан.

### Программа градиентного элюирования

Допустимые изменения программы — это самая «замечательная» регламентация изменений в хроматографической системе, предлагаемая Европейской Фармакопеей, из которой нельзя понять, возможны ли изменения в градиентной системе или нет. Известно, что при переходе от одного хроматогра-

фа к другому или даже на одном хроматографе от колонки к колонке возможны изменения в хроматографической системе. Более заметны эти изменения будут при градиентном элюировании, чем при изократическом.

Рисунок 13



Хроматограмма разделения компонентов экстракта плодов расторопши пятнистой (по данным АНД)

Рассмотрим один пример: количественное определение компонентов экстракта плодов расторопши пятнистой (*Silybi mariani*). Согласно АНД, разделение компонентов должно проводиться на колонке C8 размером (125\*4.6) мм, заполненной сорбентом с размером частиц 5 мкм, в системе градиентного элюирования по следующей программе:

Время, мин	Метанол, %	0.02 М раствор кислоты фосфорной, %
0	30	70
14	30	70
17	45	55
19.5	70	30
23	70	30
23.1	30	70
28	30	70

На Рис. 13 представлена хроматограмма, приведенная в АНД фирмы для указанной программы градиентного элюирования.

При воспроизведении данной методики была использована колонка Nova-Pak C8 размером (200\*4.6) мм, заполненная сорбентом с размером частиц 5 мкм, что соответствует регламентациям Европейской Фармакопеи, касающимся допустимых изменений в хроматографической системе. Кроме того, следует отметить, что в апробируемой методике отсутствовал тест «Проверка пригодности хроматографической системы», в котором должны быть оговорены возможные изменения в хроматографической системе.

После проведения исследований был предложен следующий режим градиентного элюирования, разработанный совместно с тестом «Проверка пригодности хроматографической системы» для колонки Nova-Пак С8:

Время, мин	Метанол – вода (90-10), %	0.02 М раствор кислоты фосфорной, %
0	33.5	65.5
10	33.5	65.5
30	50	50
38	44.5	55.5
40	33.5	65.5
45	33.5	65.5

В данных условиях (Рис. 14) заметно улучшилось разделение пиков силибина А и В - около 1.2, а также улучшилось разделение силикрстина и силидианина. Кроме того, на приведенной хроматограмме видна неоднородность пика изосилибинина - на заднем фронте пика выходит еще один компонент, который в нашем случае достаточно хорошо отделяется.

Таким образом, можно сделать вывод, что изменять градиентную программу можно, но при строгом соблюдении критериев теста «Проверка пригодности хроматографической системы», которые, в свою очередь, должны быть тщательно разработаны.

**Выводы**

По нашему мнению, изменения в хроматографической системе возможны, однако они должны быть оговорены в каждом конкретном случае. В общем случае, при выполнении требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы», это могут быть такие изменения:

*Состав подвижной фазы:* количество минорного растворителя может быть отрегулировано на величину  $\pm 2\%$  (абсолютных) от указанного в монографии (АНД).

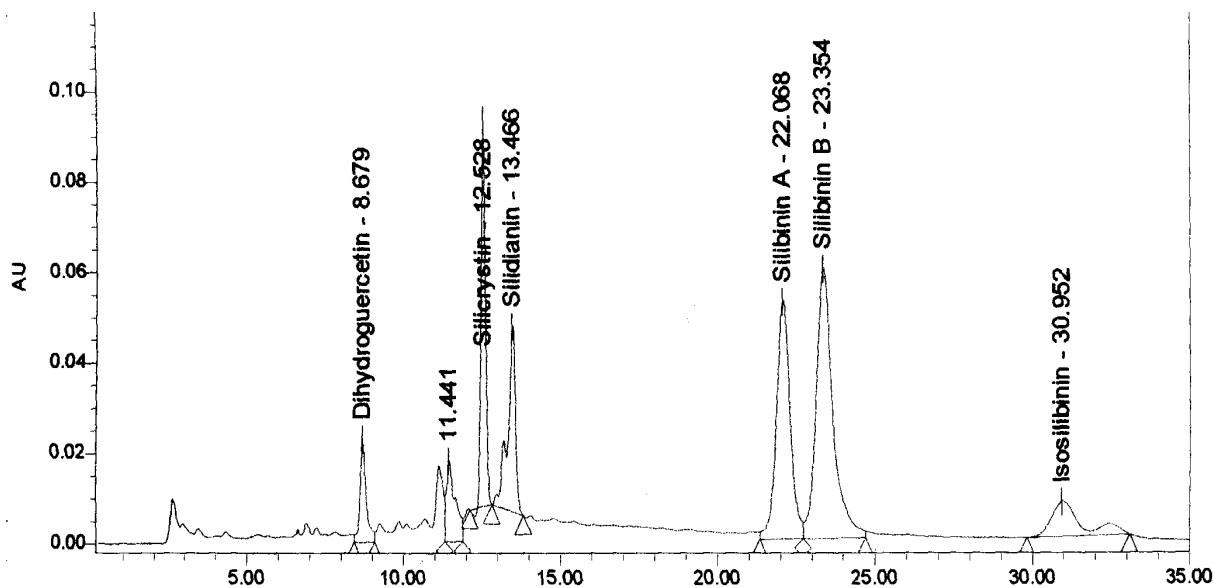
*pH водного компонента подвижной фазы:* показатель может быть изменен на  $\pm 0.2$ , если другая величина не указана в монографии, или на  $\pm 1.0$  при анализе нейтральных субстанций.

*Концентрация буферного компонента в подвижной фазе:* концентрация буферного компонента в подвижной фазе может изменяться в пределах  $\pm 10\%$  (относительных).

*Длина волны детектирования:* должна быть неизменной или для диодно-матричного детектора должна находиться в пределах погрешности установки длины волны ( $\pm (1.0-2.0)$  нм).

*Хроматографическая колонка:* должна быть неизменной или в монографии (АНД) должны быть указаны аналогичные колонки. В случае изменения геометрии колонки следует откорректировать остальные параметры хроматографической системы в соответствии

Рисунок 14



Хроматограмма разделения компонентов экстракта плодов расторопши пятнистой, полученная при воспроизведении методики

с требованиями теста «Проверка пригодности хроматографической системы». Не допускается изменение в размере частиц сорбента.

*Скорость потока подвижной фазы:*  $\pm 25\%$  при выполнении требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

*Температура колонки:*  $\pm 3^{\circ}\text{C}$  от указанного значения при выполнении требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

*Объем пробы:* объем пробы должен оставаться неизменным, но может быть изменен на величину  $\pm 20\%$  от указанного в монографии значения при выполнении требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

*Программа градиентного элюирования:* возможны изменения в программе градиентного элюирования при выполнении требований теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

Все изменения должны быть рассмотрены при разработке методики и представлены в валидационных отчетах.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Куликов А.Ю., Верушкин А.Г., Шкляев С.А. Высокоэффективная жидкостная хроматография в фармацевтическом анализе. Сообщение 1. Колонка L1 или силикагель с привитыми октадецильными группами. К вопросу о взаимозаменяемости колонок // Фармаком. — 2001. - № 1. - С. 47-55
- European Pharmacopoeia, 4<sup>th</sup> ed. - Strasbourg: Council of Europe, 2002. - 2416 p.
- J.W. Dolan // Liquid Chromatography - Gas Chromatography. - 1994. - Vol.7, No.6. - P. 332-334.
- J.W. Dolan // Liquid Chromatography - Gas Chromatography. - 1994. - Vol.7, No.7. - P. 376-379.
- J.W. Dolan // Liquid Chromatography - Gas Chromatography. - 1994. - Vol. 7, No. 9. - P. 500-505.
- J.W. Dolan // Liquid Chromatography - Gas Chromatography. - 1994. - Vol. 7, No. 10. - P. 550-552.
- R. LoBrutto, A. Jones, Y.V. Kazakevich, H.M. McNeir // J.Chromatogr. A. - 2001. - Vol. 913, No.1-2. -P. 173-187.
- А.Н. Есауленко. Сорбенты для высокоэффективной жидкостной хроматографии Zorbax. Руководство для пользователей. ALSI. - 2001. - 26 с.
- J.W. Dolan // Liquid Chromatography - Gas Chromatography. - 2002. - Vol. 6, No.20. - P. 524-530.
- J.W. Dolan, L.R. Snyder, T.H.Jupille, N.S. Wilson // J.Chromatogr. A. - 2002. - Vol. 960, No.1. - P. 51-67.

#### Резюме

Куликов А.Ю., Верушкин О.Г.

#### Високоєфективна рідинна хроматографія у фармацевтичному аналізі. Повідомлення 2. До питання про припустимі зміни у хроматографічній системі

В статті розглянуті питання припустимого коректування хроматографічних умов при відтворенні аналітичної методики. Розглянуто варіант, запропонований Європейською Фармакопеею та дані обґрунтовані рекомендації про можливі зміни у хроматографічній системі.

#### Summary

Kulikov A.YU., Verushkin A.G.

#### High performance liquid chromatography in pharmaceutical analysis. Report 2. To the matter of permissible changes in chromatographic system

The matters of permissible correction of chromatographic conditions when analytical procedure reproducing were viewed. The European Pharmacopoeia versions were considered and the valid recommendations about possible changes in chromatographic system were given.

**Куликов Артем Юрьевич** (р.1970). Окончил Харьковский государственный университет (1993). Старший научный сотрудник лаборатории фармакопейного анализа ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр» (1998). Канд. хим. наук (1997).

**Верушкин Алексей Геннадиевич** (р. 1971). Окончил Харьковский государственный университет. Мл. научный сотрудник лаборатории фармакопейного анализа ГП "Научно-экспертный фармакопейный центр" (1997).

УДК 615.454:616.5

Назарова О.С.  
Державний науковий центр лікарських засобів

## Розробка методів аналізу деяких протизапальних лікарських препаратів на гелевій основі

Представлені методики кількісного визначення діючих речовин в комбінованих лікарських препаратах на гелевій основі, які містять диклофенак натрію та інші біологічно активні сполуки, із використанням методів спектрофотометрії, високоефективної рідинної та газової хроматографії. Розроблені методики уведені до аналітичної нормативної документації на лікарські препарати.

Одним із найбільш ефективних і безпечних нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) є диклофенак натрію - натрію 2-[(2,6-дихлорфеніл)-аміно]феніл]ацетат (синоніми - вольтарен, ортофен), якому властиві протизапальні та анальгезивні ефекти. За силою протизапального ефекту диклофенак натрію значно перевищує кислоту ацетилсаліцилову, ібупрофен та індометацин, а за анальгезивною дією у 2-5 разів сильніше від цих лікарських засобів [1,2].

Однак, пероральний або парентеральний шлях уведення НПЗП має ряд побічних ефектів: улцерогенну дію - здатність викликати пошкодження слизової оболонки шлунка, алергічні реакції та ін. [3, 4].

Трансдермальний шлях уведення дає можливість уникнути високих концентрацій НПЗП у системі кровообігу за рахунок безпосереднього впливу на больову область і тим самим знизити побічну дію та створити необхідну концентрацію НПЗП в області запального процесу протягом певного часу [5].

Враховуючи переваги лікарських засобів, що мають трансдермальний шлях уведення, зокрема гелів, природу запальних процесів і специфіку терапії при місцевому застосуванні препаратів, у ДНЦЛЗ були розроблені гелі, що містять як активний компонент диклофенак натрію.

Це повідомлення присвячене проведенню досліджень із метою розробки методів кількісного визначення активних компонентів у препаратах із диклофенаком натрію для стандартизації якості цих препаратів та подальшого введення розроблених методик до аналітичної нормативної документації.

### Об'єкти та методи дослідження

Об'єктами дослідження були гелі, що містять як активний компонент диклофенак натрію - «Гель диклофенаку натрію 1 %» (гель № 1), та його комбінації з іншими діючими речовинами: диклофенак натрію та ментол -

«Диклофен-гель» (гель № 2); диклофенак натрію та L-лізину есцинат - «Диклоцин-КМП, гель» (гель № 3); диклофенак натрію та нікотинова кислота - «Диклосан, гель» (гель № 4).

Для одержання гелів використана розроблена нами гідрофільна основа, яка захищена патентом [6].

У літературі описані різні методи кількісного визначення диклофенаку натрію: на основі реакції з гексаціанофератом (III) калію із подальшою спектрофотометрією у видимій області спектру (для кількісного визначення його як в субстанції, так і в ін'єкційних розчинах) [7]; на основі хромогенної реакції з періодатом натрію фотоелектроколориметричним методом (для кількісного визначення в субстанції) [8]; спектрофотометричний метод (276 нм) (для кількісного визначення в очних краплях і в субстанції) [9, 10]; метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) або метод спектрофотометрії (284 нм) (для аналізу диклофенаку натрію у кремі) [11].

Для кількісного визначення диклофенаку натрію в досліджуваних препаратах нами були використані методи спектрофотометрії та ВЕРХ.

### Результати дослідження та їх обговорення

В основу кількісного визначення диклофенаку натрію в однокомпонентному гелі № 1 був покладений спектрофотометричний метод.

Із цією метою були проведені дослідження з вибору умов визначення, а також проведено вивчення спектрів поглинання диклофенаку натрію, виділеного з гелю, розчину препарату та гелевої основи ("плацебо") у порівнянні зі спектром стандартного розчину диклофенаку натрію у водно-лужному середовищі. Водно-лужне середовище було використане, щоб подавити гідроліз диклофенаку натрію.

Дослідження показали, що УФ-спектри диклофенаку натрію, виділеного з гелю та розчину препарату у водно-лужному середовищі (рН 10.8) ідентичні УФ-спектрові стандартного розчину та мають максимум поглинання за довжини хвилі 276 нм, а гелева основа у цій УФ-області не має смуг поглинання, що дає можливість проводити визначення диклофенаку натрію у препараті без попереднього виділення.

Проведені з використанням методу найменших квадратів дослідження з вибору робочих концентрацій виявили лінійну залежність величини оптичної густини розчину диклофенаку натрію від його концентрації в області від 4 мкг/мл до 40 мкг/мл. Одержана пряма описується рівнянням:

$$y = 0.02874x + 0.01852,$$

де:  $x$  - концентрація диклофенаку натрію в розчині, мкг/мл;

$y$  - оптична густина.

Розрахований коефіцієнт кореляції  $R$  становить 0.99997, що свідчить про «жорсткість» отриманого лінійного зв'язку між  $x$  і  $y$  [12].

Таким чином, на основі проведених досліджень розроблена методика визначення диклофенаку натрію у препараті.

Наважку гелю (близько 0.5 г) розчиняють у водно-лужному середовищі (50 мл), 5 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину свіжопрокип'яченою охолодженою водою до позначки і перемішують. Проводять визначення поглинання розчину на спектрофотометрі СФ-46 за довжини хвилі 276 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння водно-лужний розчин або воду. Оптична густина розчину препарату практично однакова при використанні обох розчинів порівняння.

Іншого підходу потребують бікомпонентні гелі.

Визначення вмісту діючих речовин у гелі № 2 проводили двома методами: методом спектрофотометрії (для диклофенаку натрію) та методом газової хроматографії (ГХ) (для ментолу).

Попередні дослідження показали, що ментол у даній концентрації в області довжин хвиль від 220 нм до 360 нм не поглинає, тим самим не заважає спектрофотометричному визначенню диклофенаку натрію.

Для кількісного визначення ментолу часто використовують спектрофотометричний метод, заснований на кольоровій реакції з ди-

метиламінобензальдегідом у присутності кислоти сірчаної [13].

Проведення цієї реакції з гелем № 2 призводило до одержання смоляної маси. Виділення же ментолу із гелевої основи утруднено через близьку ступінь розчинності ментолу та диклофенаку натрію.

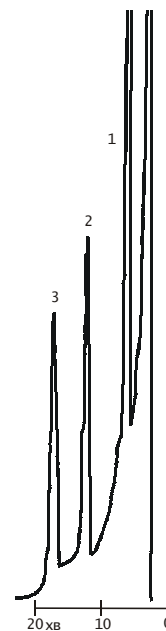
Тому для визначення ментолу було обрано метод ГХ. На основі проведених досліджень із вибору умов пробопідготовки та хроматографічного розділення розроблена методика кількісного визначення ментолу у гелі № 2.

До наважки гелю (близько 1.0 г) додають спирт метиловий (20 мл), потім центрифугують, додають розчин внутрішнього стандарту (1 мл) та проводять визначення ментолу в таких умовах:

- газовий хроматограф «Shimadzu» із полуменево-іонізаційним детектором;
- колонка скляна розміром (250 x 0.3) см;
- сорбент — 2.5 % апіезону N і 2.5 % НПГС на хроматоні N-AW(LACHEMA, Словаччина), розмір часток 0.20 — 0.25 мм;
- температура колонки - 120 °С;
- температура випарника і детектора - 190 °С;
- швидкість газу-носія (азот або гелій) - 40 мл/хв.

Одержані хроматограми наведені на Рис. 1.

Рисунок 1



Хроматограма розчину гелю № 2

96 % спирт — перший пік  
камфора - другий пік  
ментол — третій пік

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови:

- ефективність хроматографічної колонки по відношенню до ментолу має бути не менше 1000 теоретичних тарілок;
- ступень розділення піків внутрішнього стандарту (камфори) та ментолу має бути не менше 3;
- відносне стандартне відхилення, розраховане для відношень площ піків ментолу та камфори, має бути не більше 3 %;
- коефіцієнт асиметрії піка, розрахований за піком камфори, має бути не більше 2.4.

Для гелів № 3 та № 4, що є комбінованими препаратами, також були проведені дослідження з визначення діючих речовин спектрофотометричним методом.

Для гелю № 3 вміст диклофенаку натрію був визначений, як і для гелів № 1 і № 2, завдяки тому, що оптична густина розчину L-лізину есцинату у концентрації, закладений в препарат, за довжини хвилі 276 нм практично дорівнює нулю.

Вміст L-лізину есцинату, як показав літературний пошук, часто визначають за допомогою кольорової реакції, заснованої на здатності есцину утворювати забарвлену сполучку з кобальту хлоридом у кислоті сірчаній концентрованої із подальшим вимірюванням світлопоглинання даного комплексу за довжині хвилі 381 нм [14,15]. Однак, присутній у препараті диклофенак натрію після проведення кольорової реакції також поглинає, а спроби відділити L-лізину есцинат від диклофенаку натрію, через близьку їх розчинності, не призвели до позитивних результатів.

Аналогічно утруднене спектрофотометричне визначення діючих речовин для гелю № 4 через накладення спектрів поглинання диклофенаку натрію (max за довжини хвилі 276 нм) і кислоти ніотинової (max 265 нм) та труднощами розділення цих речовин у зв'язку з їх близькою розчинністю.

Тому із метою одночасного визначення діючих речовин у цих препаратах використали метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

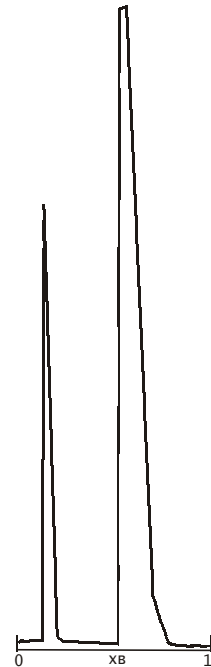
На основі проведених досліджень для гелю № 3, діючими речовинами якого є диклофенак натрію та L-лізину есцинат (водорозчинна сіль тритерпенового глікозиду есцину та амінокислоти L-лізину), вибрані умови хроматографування і розроблена методика кількісного визначення діючих речовин на рідинно-му хроматографі фірми «Waters».

Наважку гелю (близько 0.5 г) розчиняють у рухомій фазі (РФ) (25 мл) і проводять хроматографування за таких умов:

- колонка розміром (4.0 x 250) мм, заповнена сорбентом Hypersil ODS із розміром часток 5 мкм;
- РФ- ацетонітрил - вода (60:40);
- швидкість РФ - 1 мл/хв;
- детектування за довжини хвилі 267 нм.

Аналітична довжина хвилі вибрана на основі вивчення УФ-спектрів диклофенаку натрію та L-лізину есцинату у концентраціях, закладених у препарат, таким чином щоб різниця у поглинанні цих речовин була мінімальною. Одержані хроматограми наведені на Рис. 2.

Рисунок 2



**Хроматограма розчину гелю № 3**

L- лізину есцинат – перший пік  
диклофенак натрію - другий пік

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови:

- ефективність хроматографічної колонки по відношенню до L-лізину есцинату має бути не менше 2000 теоретичних тарілок;
- ступень розділення піків L-лізину есцинату та диклофенаку натрію має бути не менше 2;
- відносне стандартне відхилення, розраховане для піка L-лізину есцинату, має бути не більше 2.0 %;
- коефіцієнт асиметрії піка, розрахований за піком диклофенаку натрію, має бути не більше 1.8.

Із метою визначення діючих речовин у гелі № 4 були досліджені такі РФ: ацетонітрил-вода (60:40); ацетонітрил-вода (80:20); спирт метиловий-вода (60:40); спирт метиловий-вода (80:20).

На основі проведених досліджень було встановлено, що найбільшу селективність

відносно піка кислоти нікотинової має РФ – спирт метиловий – вода (80:20).

Визначення діючих речовин у гелі № 4: диклофенаку натрію та кислоти нікотинової проводили методом ВЕРХ на рідинному хроматографі типу «Міліхром».

Таблиця 1

**Результати кількісного визначення діючих речовин**

Препарат	Номер серії	Кількісний вміст речовини відповідно до АНД, г/г		Знайдено речовини, г/г	
Гель №1	031201 041201 051201 061201 071201	Диклофенак натрію		Диклофенак натрію	
		0.009-0.011		0.0097	
		0.009-0.011		0.0107	
		0.009-0.011		0.0090	
		0.009-0.011		0.0107	
		0.009-0.011		0.0094	
Гель №2	050201 060201 070201 080201 090201	Диклофенак натрію	Ментол	Диклофенак натрію	Ментол
		0.027-0.033	0.0045-0.0055	0.031	0.0051
		0.027-0.033	0.0045-0.0055	0.033	0.0053
		0.027-0.033	0.0045-0.0055	0.028	0.0047
		0.027-0.033	0.0045-0.0055	0.032	0.0047
		0.027-0.033	0.0045-0.0055	0.032	0.0052
Гель №3	080101 090101 100101 110101 120101	Диклофенак натрію	L-лізину есцинат	Диклофенак натрію	L-лізину есцинат
		0.009-0.011	0.009-0.011	0.0094	0.0090
		0.009-0.011	0.009-0.011	0.0106	0.0110
		0.009-0.011	0.009-0.011	0.0099	0.0099
		0.009-0.011	0.009-0.011	0.0100	0.0110
		0.009-0.011	0.009-0.011	0.0091	0.0091
Гель №4	160701 170701 180701 190701 200701	Диклофенак натрію	Кислота нікотинова	Диклофенак натрію	Кислота нікотинова
		0.009-0.011	0.009-0.011	0.0092	0.0095
		0.009-0.011	0.009-0.011	0.0098	0.0097
		0.009-0.011	0.009-0.011	0.0110	0.0098
		0.009-0.011	0.009-0.011	0.0091	0.0095
		0.009-0.011	0.009-0.011	0.0097	0.0096

Таблиця 2

**Метрологічні характеристики визначення кількісного вмісту діючих речовин**

Препарат, речовина	f	$X_{(cp)}$	$S^2$	$Sx$	P, %	t(p,f)	$\Delta X_{cp}$	$\epsilon, \%$
Гель №1 Диклофенак натрію	5	0.0100	$8.0 \times 10^{-9}$	$8.94 \times 10^{-5}$	95	2.57	0.000938	0.94
Гель № 2 Диклофенак натрію	5	0.0300	$6.7 \times 10^{-8}$	$2.59 \times 10^{-4}$	95	2.57	0.000272	0.90
Ментол	5	0.0054	$2.1 \times 10^{-6}$	$4.5 \times 10^{-4}$	95	2.57	0.00012	2.14
Гель № 3 Диклофенак натрію	5	0.0099	$5.6 \times 10^{-9}$	$7.5 \times 10^{-5}$	95	2.57	0.000079	0.8
L-лізину есцинат	5	0.0100	$8.1 \times 10^{-9}$	$8.9 \times 10^{-5}$	95	2.57	0.000094	0.9
Гель № 4 Диклофенак натрію	5	0.0096	$1.4 \times 10^{-8}$	$1.2 \times 10^{-4}$	95	2.57	0.00012	1.2
Кислота нікотинова	5	0.0101	$1.1 \times 10^{-3}$	$1.0 \times 10^{-4}$	95	2.57	0.00011	1.0



Наважку гелю (близько 0.5 г) розчиняють у суміші розчинників спирт метиловий – вода (5:1) (25 мл) і проводять хроматографування за таких умов:

- колонка розміром (2.0 x 80) мм, заповнена сорбентом Сіласорб С18 із розміром часток 7 мкм;
- РФ- спирт метиловий - вода (80:20);
- швидкість РФ - 60 мкл/хв;
- детектування за довжини хвилі 267 нм.

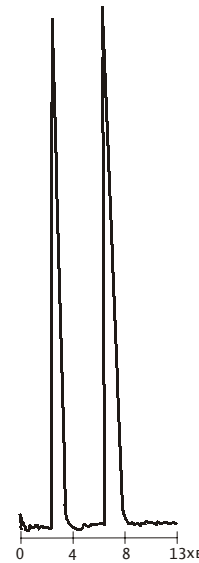
Розробці методики визначення передувало вивчення УФ-спектрів кислоти нікотинової та натрію диклофенаку. Дослідження показали, що при концентрації кожної діючої речовини  $2.4 \times 10^{-2}$  г/л, оптимальною є довжина хвилі 267 нм, за якої спостерігається мінімальна різниця в оптичній густини розчинів цих речовин (Рис. 3). Це дозволило під час хроматографування досягти виходу хроматографічних смуг із практично рівними величинами (висотою піків). Отримані хроматограми наведені на Рис. 4.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови:

- ефективність хроматографічної колонки по відношенню до кислоти нікотинової має бути не менше 800 теоретичних тарілок;
- ступень розділення піків кислоти нікотинової та натрію диклофенаку має бути не менше 1.5;
- відносне стандартне відхилення, розраховане для піка кислоти нікотинової, має бути не більше 2.0 %;

- коефіцієнт асиметрії піка, розрахований за піком кислоти нікотинової, має бути не більше 1.5.

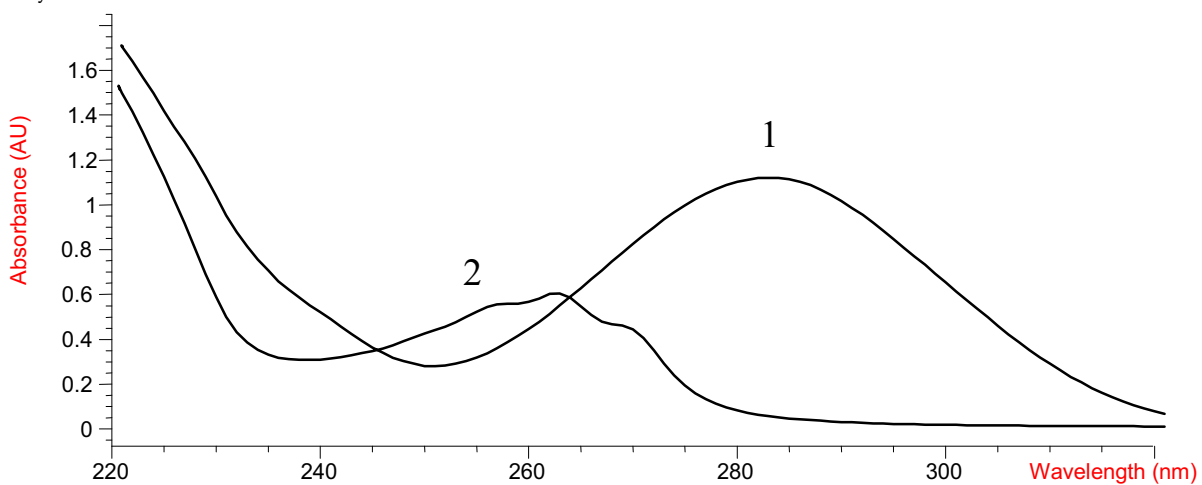
Рисунок 4



**Хроматограма розчину гелю № 4**  
кислота нікотинова – перший пік  
диклофенак натрію - другий пік

Таким чином, проведені дослідження показали, що для кількісного визначення діючих речовин у гелях спектрофотометричний метод може бути використаний лише в однокомпонентному гелі, а у бікомпонентних препаратах необхідні або його комбінація із методом ГХ, або використання методу ВЕРХ для одночасного визначення обох діючих речовин.

Рисунок 3



**УФ-спектри**

- 1- розчин диклофенаку натрію
- 2 - розчин кислоти нікотинової

Розроблені методики визначення діючих речовин у гелях №№ 1,2,3,4 були випробувані на різних серіях кожного препарату.

Одержані результати наведені в Табл. 1.

Одержані результати були оброблені методом математичної статистики. Метрологічні характеристики методик наведені в Табл. 2.

Розроблені методики були введені до аналітичної нормативної документації на нові препарати із метою стандартизації їх якості.

### Висновки

1. Обрані методи і розроблені методики кількісного визначення диклофенаку натрію у препаратах на гелевій основі, що містять як активний компонент диклофенак натрію та його комбінації з іншими діючими речовинами.

2. Обрані методи і розроблені методики кількісного визначення активних речовин: L-лізину есцинату, ментолу та нікотинової кислоти із суміші з диклофенаком натрію.

3. Розроблені методики введені до аналітичної нормативної документації: ТФС 42У-7/37-356-97 «Гель диклофенаку натрію 1%»; ТФС 42У-4/37-753-98 «Диклофен-гель»; ТФС 42У-3/37-542-97 «Диклоцин-КМП», гель; ТФС 42У-37/13-869-00 «Диклосан», гель.

### ЛІТЕРАТУРА

- Насонов Е.Л., Лебедева О.В. Нестероидные противовоспалительные препараты: механизм действия и клиническое применение в ревматологии // Новости фармации и медицины. — 1996. - № 1. — С. 3-8.
- Пат. 666621 Швейцария, МКИ А 61К 31/18. Topisch applizierbare pharmazeutische Zusammensetzungen mit systemischer Wirkung. Fankhauser Peter (Швейцария). — Заявл. 27.06.86; опубл. 15.08.88.
- Дроговоз С. М., Богуцька О. Е., Л. В. Яковлева та ін. Ускладнення фармакотерапії нестероїдних препаратів // Фармацевтичний журнал. — 1987. - № 6. — С. 19-21.
- Борисова Е. О. Побочные эффекты нестероидных противовоспалительных средств // В мире лекарств. — 1999. - № 3-4. — С. 56-61.
- Губина Т. Н., Назарова Е. С., Шитеева Т. А. и др. Трансдермальные лекарственные средства в Украине: итоги и перспективы разработок ГНЦЛС // Фармаком. — 1999. -№ 3-4. — С. 65-70.
- Пат. 23754 А Україна, МКИ А 61 К 9/10. Основа для гелів / Губіна Т.М., Данелянц В.А., Ковальов І.П., Георгієвська О.І., Шеїна О.М., Назарова О.С., Шитєєва Т.О., Вербова Ю.М. — Опубл. 31.08.98. — 4 с.

7. Жукова Т. В., Гайдукевич О. М., Леонова С. Г., Сокурченко І. А., Бардакова С. А. Спектрометричне визначення вольтарену в ін'єкційних розчинах // Вісник фармації. — 1995. - № 3-4. — С. 60-61.

8. Фартушний А. Ф., Мужановський Є. Б., Сєдов А. І. Ідентифікація та визначення вольтарену // Фармацевтичний журнал. — 1983. -№ 1. — С. 52-54.

9. Иноземцева Н. В., Кондратьева Т. С., Вергазова С. Ю., Денисова Т. В. Разработка технологии глазных капель ортофена (0.1 % и 0.2 % раствора) // Фармация. — 1997. - № 6. — С. 19- 22.

10. ВФС 42-2824-92. Ортофен.

11. Zhang Xiaole, Duan Jingli, Ye Guoqing // Zhongguo yaohue zazhi - Chin. Pharm. J. [Яоцзю тунбао]. - 1996. - № 3. - С. 159 - 161.

12. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — 556 с.

13. ФС 42-2071-89. Мазь «Гевкамон».

14. ВФС 42У-11/37-160-95. L-лизина есцинат.

15. Шовковий А. В., Лапкіна Ю. Й., Ковальов І. П. Кількісне визначення L-лізину есцинату у субстанції та в ін'єкційній лікарській формі // Фармацевтичний журнал. - 1999. - № 4. — С. 74 — 77.

Резюме

Назарова Е.С.

### Разработка методов анализа некоторых противовоспалительных лекарственных препаратов на гелевой основе

Представлены методики количественного определения действующих веществ в комбинированных лекарственных препаратах на гелевой основе, содержащих диклофенак натрия и другие биологически активные соединения, с использованием методов спектрофотометрии, высокоэффективной жидкостной и газовой хроматографии. Разработанные методики введены в аналитическую нормативную документацию на лекарственные препараты.

Summary

Nazarova L. S.

### Development of some anti-inflammatory medicinal preparations on a gel base analysis methods

The procedures of quantitative determination of active substances in the combined medicinal preparations on a gel base, containing sodium diclofenac and other biologically active compounds, are represented. When these procedures developing the methods of spectrophotometry, HPLC and GLC were used. The procedures developed are introduced in normative and analytic documentation on medicinal preparations.

**Назарова Олена Сергіївна.** Закінчила Харківський політехнічний інститут (1993). В. о. наук. співробітника сектору трансдермальних терапевтичних систем та гелів лабораторії фізико-хімічних процесів ДНЦЛЗ.

УДК 615.612.63/66-591

Топчиева Ш.А.

Институт зоологии Национальной академии наук Азербайджана

## Хроматографические и спектральные характеристики змеиного яда, белков и продуктов их метаболизма

Выделены и идентифицированы белки и продукты метаболизма яда закавказской гюрзы, экстрагированные из тканей белых мышей. Выявлено наиболее эффективное разделение белков и продуктов метаболизма яда в нейтральной: хлороформ - этанол - гексан - вода (10:10:10:10) и кислой, этилацетат - н-бутанол - кислота муравьиная (40:10:5) средах органических растворителей. Молекулярные массы белков зоотоксина и их метаболитов находятся в пределах 12589-114810 D и 12589-138038 D, соответственно. Методом ионообменной и гель-хроматографии с использованием Servacel-52 и сефадекса G-75 из яда гюрзы выделены 19 белков и продуктов их биотрансформации с молекулярными массами в пределах 20000-149000 D и 2500-153000 D. Исследованы спектры поглощения яда, белков и продуктов их метаболизма.

В настоящее время достигнуты значительные успехи в изучении змеиных ядов [1], главным образом, вопроса их химической природы [6-15]. Однако метаболизм зоотоксинов – наименее изученная область медицинской зоотоксинологии [2, 3, 9, 12]. Выделение индивидуальных химических соединений из смеси, полученной экстрагированием из органов и тканей экспериментальных животных, в том числе продуктов биотрансформации яда гюрзы, является одной из основных задач проводимых нами исследований [9-15].

Цель настоящей работы - выделение и идентификация белков и продуктов метаболизма яда закавказской гюрзы.

### Объекты и методы исследования

Выделение белков из тканей экспериментальных животных проводили после их гомогенизации экстрагированием в системе жидкость-жидкость [1]. Для этого 20 мышей спустя 30 мин после интоксикации 5 мг яда гюрзы декапитировали и извлекали печень, почки, сердце, легкие, селезенку, мышечную ткань, а также забирали кровь. Ткани гомогенизировали с 0.9 % раствором натрия хлорида в соотношении 1:6 в ручном стеклянном гомогенизаторе при охлаждении льдом. Полученный экстракт центрифугировали при 18000 об/мин в течении 30 мин при температуре 4 °С. Надосадочную жидкость отделяли, помещали в диализный мешочек и, с целью концентрирования выделенных продуктов биологической трансформации, подвергали обратному диализу. При этом диализный мешочек с экстрактом помещали в закрытый сосуд с полиэтиленгликолем.

Предварительно гомогенат для очистки от балластных веществ пропускали через колонку с силикагелем L<sub>40/100</sub> M [5].

Далее проводили осаждение балластных веществ высушенным натрием сульфатом. При этом менее устойчивые балластные вещества и белки выпадали в осадок. Вновь центрифугировали при 18000 об/мин в течение 30 мин, отделяли осадок и надосадочную жидкость пропускали через стеклянный фильтр.

Для получения чистых образцов экстракт подвергали разделению методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Силуфол R. С этой целью с помощью капилляра на пластинку наносили часть полученного раствора в качестве контрольной пробы, рядом, на расстоянии 2 см, наносили белки-маркеры и затем с таким же интервалом наносили остальное количество испытуемого раствора. Пластинку помещали в хроматографическую камеру. Когда фронт растворителей проходил до конца пластинки, ее вынимали из камеры, сушили в горизонтальном положении до полного испарения остатков растворителей. Часть пластинки с контрольной пробой и стандартными растворами белков обрабатывали 1 %-ным ацетоновым раствором нингидрина с последующим нагреванием в сушильном шкафу в течение 15 мин при температуре 100° С.

Зоны на хроматограмме испытуемого раствора, находящиеся на уровне проявленных пятен контрольного раствора, соскабливали с пластинки. Адсорбированное вещество элюировали 0.9 % раствором натрия хлорида в течение 15 мин, извлечения центрифугировали для отделения твердой фазы.

Продукты биотрансформации змеиного яда были разделены также гель-хроматографией на колонке с сефадексом G-75.

Гомогенаты из биоматериала экспериментальных животных до и после внутрибрюшинного введения яда гюрзы, обработанные,

как было указано выше, подвергали обратному диализу для концентрирования с целью уменьшения объема вводимой пробы. Пробу объемом 1.5 мл вводили пипеткой по стенке колонки, следя за тем, чтобы при этом не повреждалась поверхность геля, и проба равномерно проникала внутрь адсорбента. После того, как вся проба впиталась в гель, стенки и верхнюю часть колонки промывали небольшим количеством элюента, которому также давали возможность впитаться в слой геля. Далее пространство колонки над гелем тщательно заполняли элюентом - 0.04 M Na-фосфатным буферным раствором и проводили хроматографирование.

Затем собирали фракции по 2.0 мл и проводили спектрофотометрическое измерение оптической плотности каждой фракции при длине волны 280 нм.

Спектры поглощения продуктов метаболизма змеиного яда, разделенных методом тонкослойной хроматографии, сняты на спектрофотометре Hitachi-557 (Япония).

#### Результаты и их обсуждения

Для разделения и выделения продуктов метаболизма яда гюрзы методом ТСХ были применены нейтральные, щелочная и кислая системы органических растворителей (Табл.1).

Из Табл. 1 видно, что продукты метаболизма змеиного яда, выделенные из организма экспериментальных животных, в нейтраль-

ной системе растворителей этилацетат - н-бутанол - ксилол (40:10:10) разделяются на 6 полипептидов с указанными значениями молекулярных масс (М. м.) в Дальтонах (D).

Можно предположить, что метаболиты с М.м. 32359 D и 39811 D возможно относятся к токсическим и являются продуктами биотрансформации белков яда с М.м. 30200 D и 36318 D.

Более эффективное разделение продуктов метаболизма яда было отмечено в нейтральной системе растворителей хлороформ – этанол – гексан - вода (10:10:10:10). В данной системе метаболиты змеиного яда разделены на 10 компонентов с указанными в Табл. 1 значениями М.м. Вероятно, полипептиды с М.м. 12589 D, 15136 D, 18681 D и 22387 D являются продуктами метаболизма яда гюрзы, синтезированными в организме мышей под воздействием внутренней среды организма из белков токсинов с М.м. 12589 D и 21380D. Не исключено, что эти метаболиты также токсичны.

С использованием щелочной системы удалось разделить и выделить сравнительно в чистом виде 9 продуктов метаболизма змеиного яда с указанными значениями М.м. (Табл. 1). Низкомолекулярный белок с М.м. 39811 D может быть продуктом метаболизма токсического белка яда с М.м. -30200-36308 D.

Эффективное разделение продуктов метаболизма яда гюрзы отмечено в кислой систе-

Таблица 1

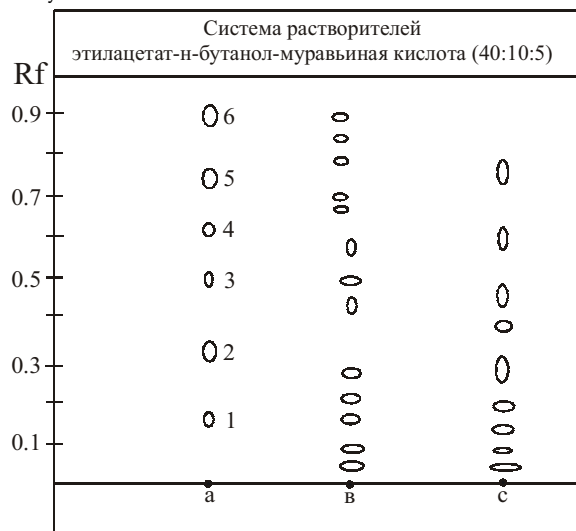
#### Результаты разделения продуктов метаболизма яда гюрзы методом ТСХ

Системы органических растворителей								
нейтральные			щелочная			кислая		
этилацетат - н -бутанол - ксилол (40:10:10)			хлороформ – этанол – гексан -вода (10:10:10:10)			этилацетат - н-бутанол – вода - аммиак (40:10:10:5)		
этилацетат - н-бутанол – кислота муравьиная (40:10:5)								
№	R <sub>f</sub>	М.м. белка, D	R <sub>f</sub>	М.м. белка, D	R <sub>f</sub>	М.м. белка, D	R <sub>f</sub>	М.м. белка, D
1	0.05	109648	0.09	109648	0.04	138038	0.03	107162
2	0.26	63096	0.15	93325	0.06	131826	0.08	95499
3	0,32	53703	0.20	81283	0.08	125893	0.13	75858
4	0.46	39811	0.27	63096	0.13	109648	0.20	64565
5	0.52	32359	0.37	52481	0.18	97723	0.28	53703
6	0.65	23988	0.49	40738	0.25	83176	0.39	39811
7			0.72	22387	0.36	63096	0.45	35481
8			0.75	18621	0.45	50119	0.60	24547
9			0.85	15136	0.54	39811	0.76	16596
10			0.90	12589				

ме растворителей (Табл. 1, Рис.1). Продукты метаболизма зоотоксина, выделенные из организма интоксцированных ядом гюрзы животных, в кислой системе были разделены на 9 полипептидов с соответствующими значениями М.м. При этом не исключается вероятность отнесения метаболитов с М.м. 35481 D, 24547 D к токсическим метаболитам змеиного яда. Низкомолекулярный же полипептид с М.м.-16596 D предположительно является продуктом метаболизма фосфолипазы А<sub>2</sub>.

Из полученных данных следует, что приведенные системы растворителей применимы при изучении метаболизма змеиного яда. В результате использования нейтральных, щелочной и кислой систем растворителей выделены 27 продуктов метаболизма яда гюрзы.

Рисунок 1



**ТСХ яда гюрзы и продуктов его биотрансформации в кислой системе растворителей**

- а - белки-маркеры; 1 - фосфорилаза В;
- 2 - бычий сывороточный альбумин;
- 3 - овалбумин; 4 - карбоангидраза;
- 5 - ингибитор трипсина; 6 - лактальбумин
- в - яд гюрзы;
- с - продукты биотрансформации яда

Разработанный нами метод тонкослойной хроматографии обладает рядом преимуществ, к числу которых следует отнести высокую разрешающую способность, быстрое разделение, простое обнаружение пятен и легкое выделение веществ из хроматограмм. Методика качественного анализа яда гюрзы тонкослойной хроматографией с применением тщательно подобранных систем, специфичных и чувствительных реагентов дает возможность определения змеиного яда и

продуктов его биотрансформации в биологических объектах. Разработанная нами методика достаточно чувствительна и достоверна для исследования метаболизма зоотоксинов.

Разделение белков тканей и крови контрольных мышей на колонке с сефадексом G-75 приведены в Табл. 2 и на Рис. 2. Как видно, гель-фильтрацией из гомогенатов биоматериала внутренних органов и крови контрольных животных выделены 9 белковых компонентов.

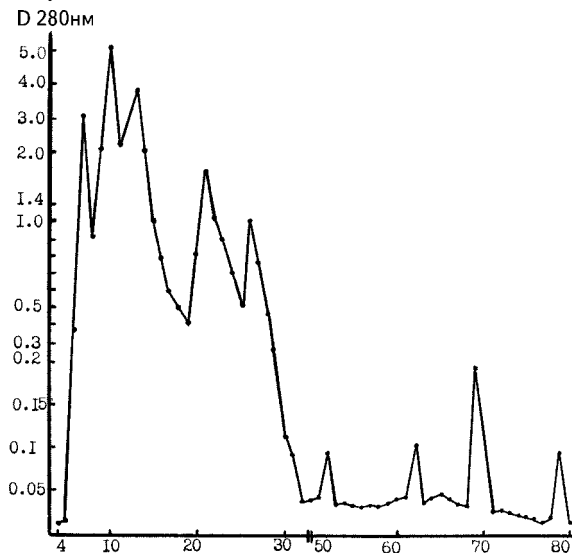
Препаративное разделение змеиного яда и продуктов его метаболизма гель-фильтрацией на колонке с сефадексом G-75 представлены в Табл. 3 и на Рис. 3.

Таблица 2

**Результаты разделения белков органов и тканей контрольных мышей гель-фильтрацией на колонке сефадекса G-75**

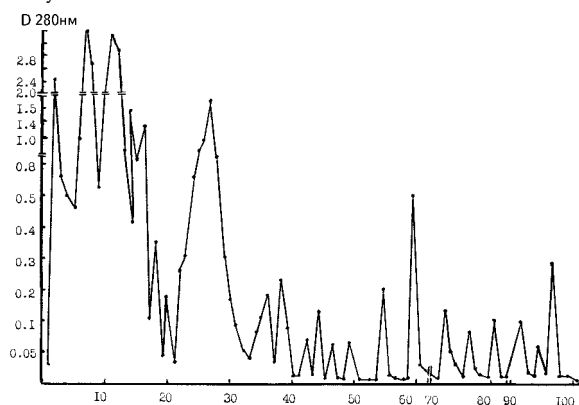
Номер фракции	V <sub>R</sub> , мл	М.м., kD	Оптическая плотность
1	14.0	152.0	0.280
2	20.0	147.0	0.490
3	26.0	143.5	1.579
4	42.0	133.5	2.380
5	52.0	129.0	0.932
6	104.0	98.0	0.305
7	124.0	85.0	0.256
8	138.0	77.5	1.170
9	156.0	67.0	0.354

Рисунок 2



**Препаративное разделение белков тканей и крови контрольных мышей на колонке с сефадексом G-75**

Рисунок 3



Препаративное разделение продуктов метаболизма яда гюрзы гель-фильтрацией на колонке с сефадексом G-75

Таблица 3

Результаты разделения продуктов биотрансформации змеиного яда гель-фильтрацией на колонке сефадекса G-75

Номер фракции	V <sub>R</sub> , мл	М.м., kD	Оптическая плотность
1	4.0	153.0	0.396
2	12.0	150.0	0.455
3	16.0	146.0	0.220
4	22.0	142.0	0.468
5	28.0	139.0	1.441
6	32.0	136.0	0.429
7	36.0	132.0	0.307
8	40.0	129.0	0.428
9	54.0	113.0	1.861
10	72.0	102.0	0.772
11	76.0	98.0	0.537
12	84.0	92.0	3.328
13	88.0	89.0	1.102
14	92.0	85.0	0.479
15	98.0	80.0	2.810
16	108.0	69.0	0.718
17	118.0	63.0	3.852
18	144.0	43.0	1.296
19	152.0	35.0	0.227
20	160.0	29.0	0.419
21	182.0	11.0	0.546
22	192.0	2.5	0.595

Из полученных результатов следует, что при фракционировании гомогенатов из биоматериала экспериментальных животных, отравленных змеиным ядом, выделены 22 фракции белков.

В результате экспериментальных исследований из тканей и крови животных методом

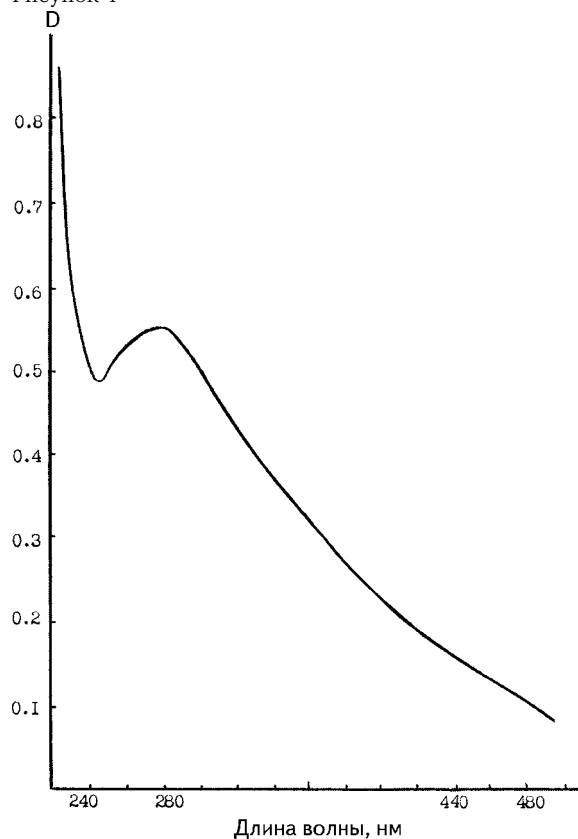
гель-фильтрации на колонке с сефадексом G 75 выделены 19 продуктов биотрансформации яда закавказской гюрзы с М.м. в пределах от 4 до 192 килодальтонов (kD = 1000D).

Для изучения и идентификации структуры продуктов биотрансформации змеиного яда были исследованы спектры поглощения зоотоксина, белков яда и их метаболитов.

Яд закавказской гюрзы, белки зоотоксина и продукты их биотрансформации содержат ковалентно ненасыщенные группы (хромофоры)-COOH, > C = N-, C ≡ N-, которые обуславливают электронное поглощение энергии при λ<sub>max</sub> 280 нм.

Спектр поглощения яда гюрзы представлен на Рис. 4, а спектр белков и продуктов их биотрансформации на Рис. 5-9.

Рисунок 4



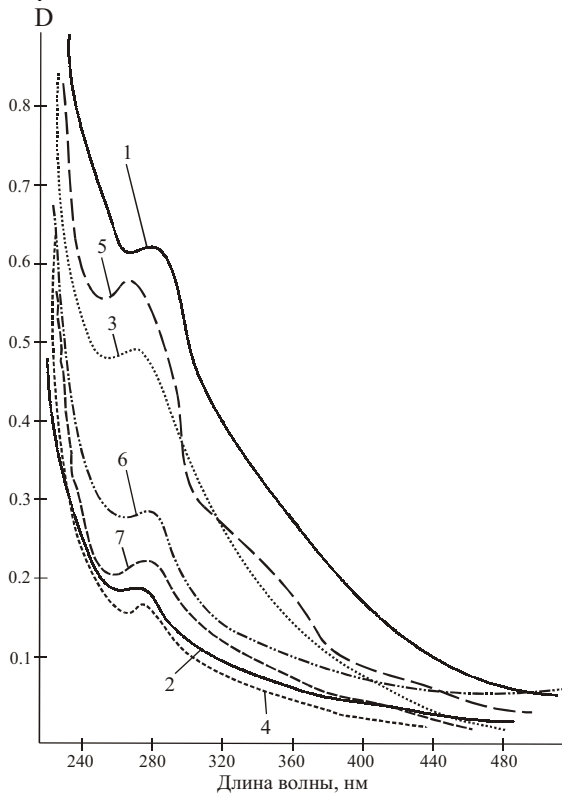
Спектр поглощения яда гюрзы

Как следует из рисунков, в спектрах поглощения белков яда гюрзы и продуктов их метаболизма наблюдается максимальное поглощение энергии при длине волны 280 нм, а для продуктов метаболизма характерно также наличие плеча в области 300-350 нм.

Подводя итоги, следует отметить, что при введении яда в организм экспериментальных животных токсины под действием реакций биотрансформации метаболизируются. В ре-

зультате биологической трансформации зоотоксина образуются несколько десятков производных, концентрации которых соизмеримы с концентрациями продуктов естественного обмена веществ. Поэтому наиболее трудными задачами, которые возникают при исследовании метаболизма животных ядов, является поиск продуктов биотрансформации среди других веществ, содержащихся в данной биологической жидкости, разделение этой сложной смеси на индивидуальные компоненты и выделение метаболитов в спектрально чистом виде.

Рисунок 5



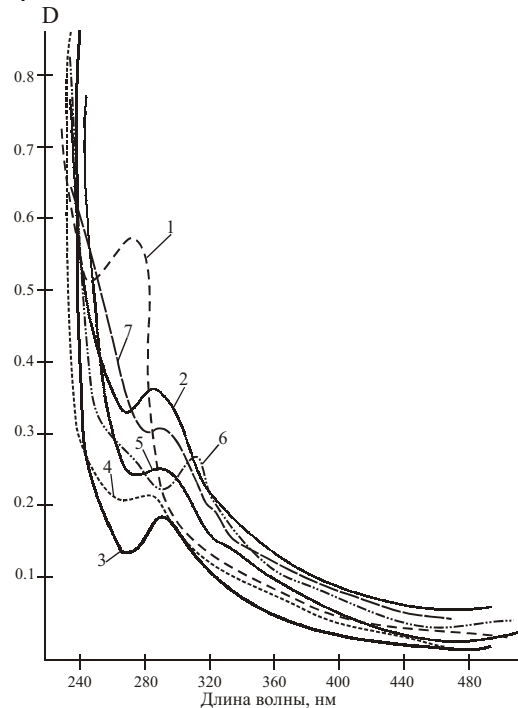
**Спектры поглощения белков яда гюрзы с молекулярными массами:**  
 1 - 32 kD, 2 - 35 kD, 3 - 51.5 kD, 4 - 56.5 kD,  
 6 - 76 kD, 7 - 92.5 kD

Судя по полученным данным, следует отметить, что наибольший эффект при поиске метаболитов змеиного яда дало применение методов тонкослойной хроматографии и гель-хроматографии.

**Выводы**

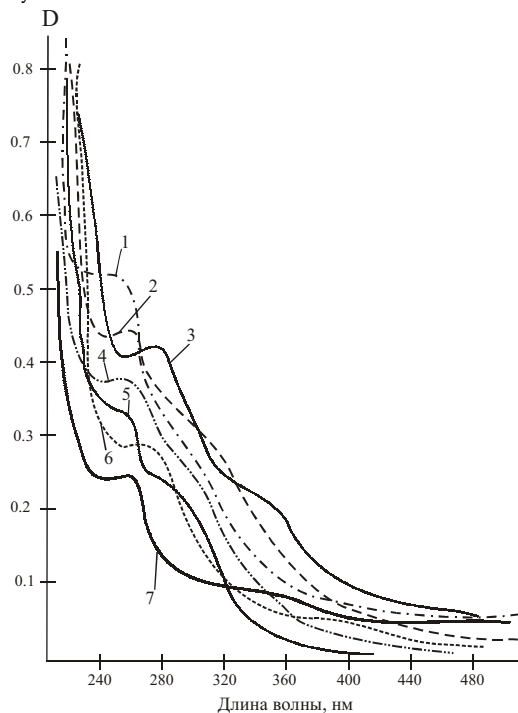
1. Исследованы различные системы растворителей для разделения яда закавказской гюрзы и его метаболитов.

Рисунок 6



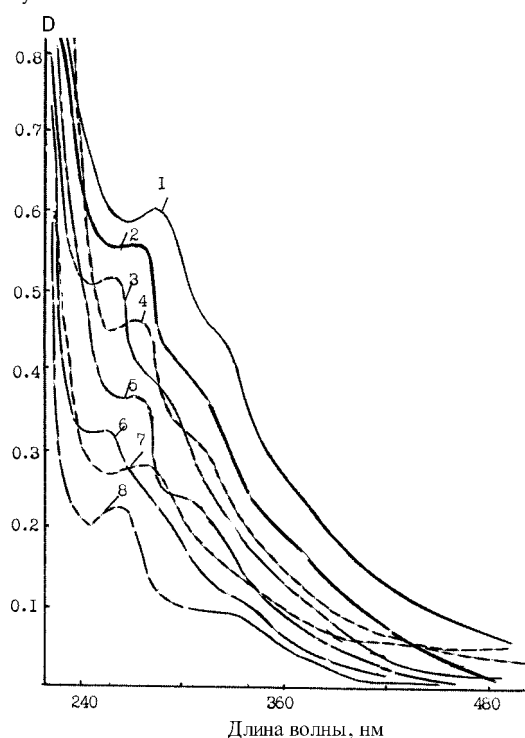
**Спектры поглощения белков яда гюрзы с молекулярными массами:**  
 1 - 20 kD, 2 - 45 kD, 3 - 99 kD, 4 - 101 kD,  
 5 - 132.5 kD 6 - 146.5 kD, 7 - 149 kD

Рисунок 7



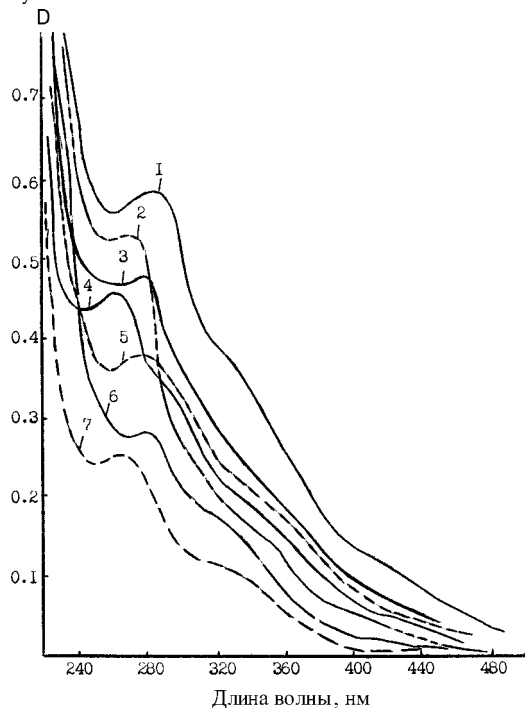
**Спектры поглощения продуктов метаболизма яда гюрзы с молекулярными массами 2.5 - 69 kD**  
 1 - 2.5 kD, 2 - 11 kD, 3 - 29 kD, 4 - 35 kD, 5 - 43 kD,  
 6 - 63 kD, 7 - 69 kD

Рисунок 8



**Спектры поглощения продуктов метаболизма яда гюрзы с молекулярными массами 80-129 kD**  
 1 - 80 kD, 2 - 85 kD, 3 - 89 kD, 4 - 92 kD, 5 - 98 kD,  
 6 - 102 kD, 7 - 113 kD, 8 - 129 kD

Рисунок 9



**Спектры поглощения продуктов метаболизма яда гюрзы с молекулярными массами 132-153 kD**  
 1 - 132 kD, 2 - 136 kD, 3 - 139 kD, 4 - 142 kD,  
 5 - 146 kD, 6 - 150 kD, 7 - 153 kD

Установлено, что методом тонкослойной хроматографии белки и метаболиты яда гюрзы лучше разделяются в нейтральной системе органических растворителей: хлороформ – этанол – гексан - вода (10:10:10:10) (11 белков) и в кислой системе: этилацетат - н-бутанол – кислота муравьиная (40:10:5) (13 и 9 белков).

М.м. белков зоотоксина и продуктов их метаболизма, разделенных в данных системах находятся в пределах 12-138 kD.

2. Методом гель-хроматографии с использованием сефадекса G-75 из яда гюрзы выделены 19 белков и продуктов их биотрансформации с М.м. в пределах 20-153 kD.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Топчиева Ш.А., Елчиев Я.Я. Динамика общего белка в крови белых мышей при интоксикации ядом закавказской гюрзы - *Vipera lebetina obtusa*. - Сб. материалов науч. конф. по проблеме «Изучение и охрана животного мира», посвященной 75-летию со дня рождения деят. науки, акад. Мусаева М.А. - Баку, 1997. - С. 169-171.
2. Топчиева Ш.А. Воздействие глутаминовой кислоты и хлорида аммония на выживаемость животных, отравленных ядом гюрзы // Доклады АН Азербайджана. - Баку, 1998. - № 5-6. - С. 164-168.
3. Топчиева Ш.А. Влияние органических нитратов на продолжительность жизни животных, интоксигированных змеиным ядом // Там же. - Баку, 1999. - № 1-2. - С. 209-212.
4. Sh.A.Topciyeva, Teymur Agridag. Yilan zehirinin degisik organlarin protein terkbine etkisinin incelenmesi // XIII Ulusal Biyoloji kongresi. - Istanbul. -1997. - P. 250-260.
5. Ахунов А. Некоторые физико-химические и биологические свойства протеиназы яда среднеазиатской гюрзы // Узбекский биологический журнал. - 1974. - № 2. - С. 75-76.
6. Барабанщикова Н.А., Икрамова С.И., Садыков Э.С., Юкельсон Л.Я. Фракционирование в гелях декстрина // Химия природных соединений. - М., 1980. - № 2 - С. 265-266.
7. Бердыева А.Т., Назарова Г.А. Физико-химические свойства яда среднеазиатских змей // Тез. докл. I Всесоюз. токсикологической конф. - Ашхабад: Ылым, 1991. - С. 14.
8. Илометс Т., Сиигур Э., Вооро Х. Фракционирование некоторых змеиных ядов методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле // Ученые записки Тартуского университета. - 1971. - Вып. 289. - С. 146-151.
9. Топчиева Ш.А. Биотрансформация яда закавказской гюрзы в органах и тканях белых мышей // Здоровье. - Баку, 1996. - № 3. - С. 38-39.
10. Топчиева Ш.А. Хроматографические методы изучения зоотоксинов // Там же. - № 6. - С. 37-40.
11. Топчиева Ш.А., Тагиев Б.Г., Джаббаров Г.Б., Тагиев О.Б., Мамедов О.Г., Алиев В.А. Лазерная спектроскопия в исследовании хим. состава яда закавказской гюрзы (V. l. o.) в зависимости от экологических факторов // Физика. - Баку, 1999. - № 2. - С. 38-40.
12. Топчиева Ш.А. Оптимизация фармакотерапии при интоксикации змеиным ядом методом флуоресцентных зондов // Материалы конф., посвященной 60-летию высшего фармацевтического образования в Азербайджане. - Баку, 1998. - С. 209 - 211.



13. Топчиева Ш.А. Метод тонкослойной хроматографии в исследовании продуктов метаболизма змеиного яда // Там же. - С. 114-118.

14. Топчиева Ш.А. Laser spectroscopy in the investigations on spectral-luminescent properties of viper lebetina venom metabolites // Физика. — Баку, 1999. - № 4. - С. 15-17.

15. Топчиева Ш.А. Исследование особенности структуры яда закавказской гюрзы методами инфракрасной, ультрафиолетовой спектроскопии // Билги. — Баку, 2000. - № 2. - С. 13-20.

#### Резюме

Топчієва Ш.А.

#### Хроматографічні та спектральні характеристики зміїної отрути, білків та продуктів їх метаболізму

Виділені та ідентифіковані білки та продукти метаболізму отрути закавказької гюрзи, екстраговані з тканин білих мишей. Виявлено найбільш ефективно розділення білків і продуктів метаболізму отрути в нейтральному: хлороформ - етанол - гексан - вода (10:10:10:10) і кислому: етилацетат - н-бутанол — кислота мурашина (40:50:5) середовищах органічних розчинників. Молекулярні маси білків зоотоксину та їх метаболітів знаходяться у межах 12589-114810 D та 12589-138038 D, відповідно. Методом іонообмінної та гель-хроматографії з використанням Servacel-52 та сефадексу G-75 із отрути гюрзи виділено 19 білків і продуктів їх біотрансформації з молекулярними масами в межах 20000-149000 D і 2500-

153000 D. Досліджені спектри поглинання отрути, білків і продуктів їх метаболізму.

#### Summary

Topchiyeva Sh.A.

#### Chromatographic and spectral characteristics of snake venom, proteins and products of metabolism of ones

The proteins and metabolism products of *Vipera lebetina* L. venom extracted from white mouse tissues were isolated and identified. The most effective separation of venom proteins and metabolism products in neutral chloroform: ethanol-hexane-water (10:10:10:10) and acid ethyl acetate - n-butanol - formic acid (40:10:5) mediums of organic solvents was revealed. The molecular masses of zootoxine proteins and metabolites of ones are within the limits of 12589 -114810 D and 12589 - 138038 D, respectively. By the method of ion-exchanging and gel chromatography with Servacel-52 and Sephadex G-75 the 19 proteins and products of biotransformation of ones with molecular masses within the limits 20000 -149000 D and 2500-153000 D were isolated from *Vipera lebetina* L. venom. The absorption spectra of venom, proteins and products of metabolism of ones were investigated.

**Топчиева Шафига Аниваровна.** Окончила Бакинский медицинский университет (1975). Ст. науч. сотрудник лаборатории герпелогии Института зоологии Национальной академии наук Азербайджана (1993). Канд. фарм. наук (1988).

## Маркетингові дослідження

УДК. 659.1:661.12

Пивень Е.П., Рудык З.С., Нестеренко Л.Л., Тихомирова Е.В.

Государственный научный центр лекарственных средств

Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр»

### Блокаторы ангиотензиновых рецепторов: состояние и перспективы расширения украинского рынка

Проведенный анализ состояния мирового рынка блокаторов ангиотензиновых рецепторов показал, что препараты этой группы в течение последнего десятилетия сохраняют тенденции высокого роста объемов продаж, как в натуральном, так и в стоимостном выражении. Ассортимент присутствующих на отечественном фармацевтическом рынке монопрепаратов этой группы и их комбинированных лекарственных форм относительно малочислен и не представляется оптимальным с терапевтической точки зрения. Делается вывод о необходимости коррекции стратегии в области закупки лекарственных препаратов из группы блокаторов ангиотензиновых рецепторов с учетом особенностей проявления их антигипертензивных свойств и современных тенденций на мировом рынке.

В структуре распространенности заболеваний среди жителей Украины значительная доля приходится на болезни системы кровообращения — 24,5%. Наибольший удельный вес в данном классе болезней имеет гипертоническая болезнь — 42,4% [1]. В связи с этим особенно актуальной является проблема повышения качества терапии данной патологии и обеспечения населения современными эффективными антигипертензивными средствами.

В лечении гипертонической болезни в качестве средств патогенетической терапии широко применяются препараты, тормозящие активность ренин-ангиотензиновой системы [2, 3, 4]. Особое значение среди них, наряду с ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента, имеют блокаторы ангиотензиновых рецепторов, как альтернативные антигипертензивные средства первой линии [5,6].

В настоящее время в кардиологической практике находят широкое применение сле-

дующие лекарственные препараты из группы блокаторов ангиотензиновых рецепторов: валзартан (Diovan), ирбезартан (Avarpro/ Aprovel/Karvea), кандезартан (Atacand), лозартан (Cozaar), эпрозартан (Teveten), телмизартан (Micardis) и тазозартан (Verdia).

Все эти препараты, по данным Сидоренко Б.А. и Преображенского Д.В., обладают высокой биодоступностью и другими благоприятными фармакокинетическими параметрами (Табл. 1) [7]. Блокаторы АТ<sub>1</sub>-рецепторов оказывают равномерное антигипертензивное действие, сохраняющееся в течение суток. Это позволяет применять их 1 раз в сутки. По активности суточной дозы данные препараты располагаются в следующей последовательности: кандезартан > лозартан > валзартан > ирбезартан > эпрозартан (Табл. 2) [7]. Важным достоинством действия блокаторов ангиотензиновых рецепторов является также возможность их использования для терапии сердечной недостаточности. Это связано с тем, что указанная патология часто выступает в качестве осложнения у больных гипертонической болезнью и в значительной мере отягощает ее течение [7].

Таблица 2

**Суточная доза блокаторов рецепторов ангиотензина II**

Препарат	Суточная доза (мг)	Кратность приема в сутки
Валзартан	80 - 160	1
Ирбезартан	75 - 300	1
Кандезартан	8 - 16	1
Лозартан	50 - 100	1
Эпрозартан	600 - 800	1

Терапевтический эффект блокаторов ангиотензиновых рецепторов значительно усиливается в комбинации с диуретиками. Так, на мировом рынке присутствуют комбинированные препараты блокаторов ангиотензиновых рецепторов на основе субстанций лозартан,

валзартан, ирбезартан, которые содержат в своем составе диуретик гидрохлортиазид (это такие препараты: Нузаар, в состав которого входит лозартан, Diovan НСТ, включающий валзартан, Avalide и Co-Aprovel, созданные на основе ирбезартана). Особенности фармакокинетики препаратов на основе валзартана и ирбезартана (Табл. 1), позволяют судить об их определенных преимуществах в лечении гипертонической болезни по сравнению с лекарственными средствами, содержащими лозартан.

Обладая высокой антигипертензивной активностью и не имея существенных побочных эффектов, характерных для ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента, препараты группы блокаторов ангиотензиновых рецепторов имеют ряд преимуществ в качестве средств первой линии в лечении артериальных гипертензий по сравнению с фармакотерапевтическими средствами других групп. На это указывает их широкое промышленное производство ведущими фармацевтическими концернами мира, высокий уровень продаж и постоянная тенденция к росту данного показателя на мировом фармацевтическом рынке.

По данным компании «IMS Pharma Strategy Group», блокаторы ангиотензина II через три года после появления на рынке антигипертензивных лекарственных средств займут также соответствующее место среди препаратов для лечения застойной сердечной недостаточности, причем первым препаратом, который будет использоваться при таких терапевтических показаниях, будет Cozaar (лозартан) компании «Merck & Co». К 2005 году блокаторы ангиотензина II составят 27 % рынка препаратов для лечения застойной сердечной недостаточности. По прогнозу «IMS Pharma Strategy Group», доля ингибиторов АПФ на рынке уменьшится с 31 % в

Таблица 1

**Общие сведения о фармакокинетике блокаторов рецепторов ангиотензина II**

МНН* (торговое название)	Время достижения пика концентрации (ч)	Биодоступность (%)	Период полувыведения (ч)
Лозартан (Cozaar)	1 ч для лозартана, 3-4 ч для его активного метаболита	33	2 ч для лозартана, 6-9 ч для его активного метаболита
Валзартан (Diovan)	2 - 4	25	6
Ирбезартан (Avarpro)	1,5 - 2	60 - 80	11 - 15
Кандезартан (Atacand)	3 - 4	15	9
Телмизартан (Micardis)	0,5 - 1	42 - 58	24

\*МНН- международное непатентованное название

1995 году до 27 % в 2005 году. Доля блокаторов рецепторов ангиотензина в стоимостном выражении составит 220 млн. долларов США, 25 % придется на долю препарата Cozaar [8].

В Табл. 3 представлены данные о стоимости лечения блокаторами ангиотензиновых рецепторов. Приведенные данные основываются на показателях минимальной или усредненной стоимости и минимальных суточных дозах препаратов. При этом предполагается, что стоимость лечения может варьировать в зависимости от стоимости выписывания рецепта, места проведения лечения (в стационаре или в амбулаторных условиях), а также от разницы оптовых цен на одни и те же препараты в различных регионах [9].

Большинство препаратов группы блокаторов рецепторов ангиотензина II являются сопоставимыми между собой по показателям стоимости лечения. Исключение составляет только препарат Atacand (кандезартан), для которого этот показатель значительно ниже. Анализ данных по группе препаратов - блокаторов рецепторов ангиотензина II позволяет отметить более низкую стоимость лечения комбинированными препаратами на их основе, содержащими диуретик.

Следует также отметить, что увеличение объема продаж препаратов группы блокаторов рецепторов ангиотензина II, очевидно, будет компенсировать общее уменьшение продаж антигипертензивных средств в стоимостном выражении (что связано с истечением срока патентной защиты ряда препаратов - лидеров данной группы) на современном фармацевтическом рынке.

Блокаторы ангиотензиновых рецепторов не производятся в Украине, а присутствующие на фармацевтическом рынке монопрепараты

и комбинированные лекарственные формы малочисленны (Табл. 4). В настоящее время на рынке Украины представлено 4 блокатора ангиотензиновых рецепторов. На основании проведенного анализа можно сделать вывод, что основной ассортимент препаратов данной группы в настоящее время формируется, в основном, за счет препаратов, произведенных в Великобритании, Франции и США. (Табл. 4.). Из них 3 монопрепарата, которые разработаны на основе ирбезартана, лозартана и эпрозартана, и один комбинированный препарат, включающий лозартан и гидрохлортиазид. На рынке отсутствуют средства на основе валзартана, кандезартана, тазозартана и телмизартана.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что на отечественном рынке не представлены препараты группы блокаторов ангиотензиновых рецепторов последнего поколения, для которых характерна большая терапевтическая эффективность, мягкость действия на организм больного и зачастую меньшая стоимость курсового лечения. Так, стоимость месячного курса лечения препаратами валзартан и кандезартан за рубежом ниже, чем препаратами лозартан и ирбезартан, присутствующими на рынке Украины. Комбинированные средства на отечественном фармацевтическом рынке представлены всего лишь единственным препаратом. Его выбор не является оптимальным с терапевтической точки зрения.

Уровень оптовых цен на блокаторы ангиотензиновых рецепторов, сложившийся в настоящее время на украинском рынке, находится в широком диапазоне: от 54.49 грн. (апровель, табл., 0.15, № 14) до 175.32 грн (козаар, табл., 0.05, № 28) за упаковку. Он опре-

Таблица 3

**Стоимость лечения блокаторами ангиотензиновых рецепторов**

Препарат		Суточная доза, мг	Лекарственная форма	Кратность приема в сутки	Стоимость лечения в месяц, долл. США
Действующее вещество	Торговое название				
Лозартан	Cozaar	50	таблетки	1	35.34
Лозартан + гидрохлортиазид	Huzaar	50/12.5	таблетки	1	30.00
Валзартан	Diovan	80	капсулы	1	34.41
Валзартан + гидрохлортиазид	Diovan НСТ	80 /12.5	капсулы	1	30.00
Ирбезартан	Avapro	75	таблетки	1	35.96
Кандезартан	Atacand	4	таблетки	1	17.98
Телмизартан	Micardis	40	таблетки	1	35.00

деляется количеством таблеток в упаковке и содержанием лекарственной субстанции в лекарственной форме, а также стратегией фирмы-производителя, проводимой в области ценообразования.

Таким образом, можно сделать вывод, что блокаторы ангиотензиновых рецепторов являются эффективными антигипертензивными средствами. Они обладают значительно менее выраженными побочными эффектами, чем ингибиторы АПФ, и лучше переносятся больными, чем другие антигипертензивные препараты. Стоимость курса лечения ими близка к стоимости курса лечения представителями современного поколения ингибиторов АПФ (от \$19 беназеприлом до \$ 35 комбинированным лекарственным средством на основе эналаприла). Вместе с тем, из-за того, что препараты – блокаторы ангиотензиновых рецепторов в настоящее время находятся под патентной защитой (Табл. 5), их дженерики не производятся в Украине. Представленные же на отечественном фармацевтическом рынке монопрепараты и комбинированные лекарственные формы немногочисленны и не являются оптимальными с терапевтической точки зрения. Учитывая это, оптово-розничным предприятиям необходимо

рекомендовать пересмотреть политику в области планирования закупки импортных препаратов данной группы с учетом особенностей проявления их антигипертензивных свойств и современных тенденций к расширению мирового рынка блокаторов ангиотензиновых рецепторов.

В то же время воспроизводство отечественными предприятиями блокаторов ангиотензиновых рецепторов по мере их выхода из-под патентной защиты позволит существенно снизить уровень цен на них и повысить доступность для населения. Первым может быть воспроизведен лозартан, срок патентной защиты которого истекает раньше других препаратов. Однако поскольку лозартан является одним из первых препаратов данной фармакотерапевтической группы, он имеет ряд недостатков по сравнению с блокаторами ангиотензиновых рецепторов последнего поколения. В этой связи особую актуальность приобретает разработка принципиально новых комбинированных лекарственных форм на его основе. При этом представляется перспективным создание комбинаций лозартана с современными мощными и безопасными синтетическими мочегонными средствами, а также диуретическими пре-

Таблица 4

**Фирменная структура украинского рынка блокаторов ангиотензиновых рецепторов на Украинском рынке**

№	Страна-экспортер	Международное непатентованное название	Фирма-изготовитель	Название зарегистрированного в Украине препарата
1.	Великобритания	Эпрозартан	Smith Kline Beecham Pharm	Геветен, табл. п/о, 200 мг, в блистере, № 28, № 56, № 98, № 280; во фл. № 100; табл. п/о, 300 мг, в блистере № 28, № 50, № 56, № 98, № 280; во фл. № 100; табл. п/о 400 мг в блистере № 28, № 50, № 56, №98, №280; во фл. № 100
			Solvay Pharmaceuticals	Геветен, табл. п/о, 400 мг, в блистере, № 28, № 50, № 56, № 98, № 280; во фл. № 100
2.	США	Лозартан+ гидрохлортиазид	MSD	Гизаар, табл. л - 50 мг г – 12.5 мг, № 28
		Лозартан	MSD	Козаар, табл., 12.5 мг, № 28; 50 мг, № 28
3.	Франция	Ирберартан	Sanofi-Synthelabo	Апровель табл., 0.075 г, № 14, № 28; 0.15 г, № 14, № 28; 0.3 г № 14, № 28

паратами растительного происхождения. Следует также учитывать, что разработка таких препаратов требует проведения специальных исследований в области фармакологии и фармакоэкономики.

**Выводы**

1. Блокаторы ангиотензиновых рецепторов являются перспективными антигипертензивными средствами первой линии. Они обладают высокой антигипертензивной активностью, хорошо переносятся больными, имеют незначительное количество побочных эффектов, удобны для клинического применения. Препараты этой группы в течение последнего десятилетия сохраняют тенденции высокого роста объемов продаж, как в натуральном, так и в стоимостном выражении.

2. В ведущих странах мира используется достаточно широкий спектр лекарственных средств из группы блокаторов рецепторов ангиотензина II. Это определяет значительный ассортимент препаратов данной группы.

3. Блокаторы ангиотензиновых рецепторов находятся под патентной защитой и не производятся фармацевтической промышленностью Украины. Ассортимент представленных на отечественном фармацевтическом рынке монопрепаратов и комбинированных лекарственных форм относительно малочисленен и не представляется оптимальным с терапевтической точки зрения. Оптово-розничным предприятиям необходимо рекомендовать провести коррекцию стратегии в области закупки импортных препаратов с учетом особенностей проявления их антигипертензивных свойств и современных тенден-

ций на мировом рынке блокаторов ангиотензиновых рецепторов.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Васильев А. Артериальная гипертензия. Национальная проблема и национальная программа // Провизор. - 2000. - № 12. - С. 32.
2. Комиссаров И.В. Долженко А.П. Клиническая фармакология ингибиторов ренин - ангиотензиновой системы // Лікування та діагностика. - 1997. - № 4. - С. 29-46.
3. Girerd Xavier. ACE inhibitors using for arterial hypertension therapy// Med. Ther.- 1998.- Vol. 4, No. 10.- P. 775 - 781.
4. Моисеев В.С. Сравнительная эффективность ингибиторов АПФ при артериальной гипертензии // Провизор. - 1998. - С. 25-37.
5. Dzau V.J., Mukoyama M., Pratt R.E. Molecular biology of angiotensin receptors: Target for drug research // J.Hypertens. - 1994. - Vol. 12. - Supp.12. - S.1-S.5.
6. Johnston CI, Risvanis J. Preclinical pharmacology of angiotensin II receptor antagonists // Amer. J. Hypertens. - 1997. - No.10.- 310 s.
7. Сидоренко Б.А., Преображенский Д.В. Краткий справочник по лечению гипертонической болезни. - М: Медицина, 1997. - 295 с.
8. Березняков И.Г. О врачебных предпочтениях в лечении артериальной гипертензии // Провизор. - 2000. - № 13. - С.44-47.
9. Physician Desk Reference.- Washington: Medical Economics Corporation, 1997. - 3223 p.

**Резюме**

Півень О.П., Рудик З.С.,  
Нестеренко Л.Л., Тихомирова О.В.

**Препарати блокаторів ангиотензинових рецепторів: стан та перспективи розширення українського ринку**

Проведений аналіз стану світового ринку блокаторів ангиотензинових рецепторів показав, що препарати цієї групи протягом останнього десятиріччя зберігають тенденції високого росту обсягів продажу, як в натуральному, так і в вартісному вираженні. Ассортимент присутніх на вітчизняному фармацевтичному ринку монопрепаратів цієї групи та їх комбінованих лікарських форм відносно нечисленний і не є оптимальним із терапевтичної точки зору. Робиться висновок про не-

Таблица 5

**Данные о сроках истечения действия патентов на препараты – блокаторы рецепторов ангиотензина II**

Препарат		Патентодержатель	Время истечения срока действия патента
Торговое название	Активный ингредиент		
COZAAR	Лозартан калий	Merck & Co., Inc.	до 2010 года
HYZAAR	Лозартан калий + гидрохлортиазид	Merck & Co., Inc.	до 2010 года
ATACAND	Кандезартана цилексетил	AstraZeneca	после 2010 года
TEVETEN	Эпрозартана мезилат	Unimed Pharmaceuticals, Inc.	после 2010 года
AVAPRO	Ирбезартан	Sanofi-Synthelabo	после 2010 года
AVALIDE	Ирбезартан + гидрохлортиазид	Sanofi-Synthelabo	после 2010 года
DIOVAN	Валзартан	Novartis Pharmaceuticals Corp	после 2010 года
DIOVAN HCT	Валзартан + гидрохлортиазид	Novartis Pharmaceuticals Corp	после 2010 года
MICARDIS	Телмизартан	Boehringer Ingelheim	после 2010 года

обхідність коректування стратегії в області закупівлі лікарських препаратів групи блокаторів ангіотензинових рецепторів із урахуванням особливостей виявлення їх антигіпертензивних властивостей і сучасних тенденцій на світовому ринку.

#### Summary

Piven E.P., Rudyk Z.S., Nesterenko L.L., Tikhomirova E.V.

#### Angiotensin receptor blocking agents: the status and prospects of Ukrainian market expansion

The analysis of angiotensin receptor blocking agents world market status showed that the medicinal products of this group during the last decade retain the trends of high growth of sales volume both in natural and in value terms. The assortment of monoproducts of this group and the combined forms of ones presented at the domestic pharmaceutical market is relatively small and is not considered as optimal from a therapeutical standpoint. The conclusion is drawn regarding the necessity of correction of strategy in the field of purchasing of angiotensin receptor blocking agents group medicinal products taking into account the

features of their antihypertensive properties and the current trends at the world market.

**Пивень Елена Петровна.** Окончила Харьковский инженерно-экономический институт (1977). Работает в ГНЦЛС. Зав. лаб. маркетинговых и технико-экономических исследований (1999). Канд. фарм. наук (1988).

**Рудык Зухра Саламовна.** Окончила экономический факультет Таджикского сельскохозяйственного института (1980). Зам. директора ГП «Научно-экспертный фармакопейный центр» по финансовым вопросам.

**Нестеренко Людмила Леонидовна.** Окончила Харьковский политехнический институт (1971). Работает в ГНЦЛС. Ведущий инженер.

**Тихомирова Елена Викторовна.** Окончила Харьковский автомобильно-дорожный институт (1986). Работает в ГНЦЛС. Ведущий инженер.

## Організація діяльності фармацевтичних підприємств

УДК 330.322.014.6.

Посилкіна О. В.

Національний фармацевтичний університет

### Методика комплексної оцінки інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств

В статті розглянута методика комплексної оцінки інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств, в основу якої покладено визначення інтегральних показників їх інноваційно-інвестиційного розвитку і фінансового стану. Наведені економетричні моделі для розрахунку цих показників на рівні окремого підприємства. Побудована матриця інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств.

Інвестиційна привабливість об'єкта господарювання визначається ступенем відповідності результатів його діяльності цілям інвестора, які полягають у забезпеченні прибутковості, безпеки та ліквідності інвестицій.

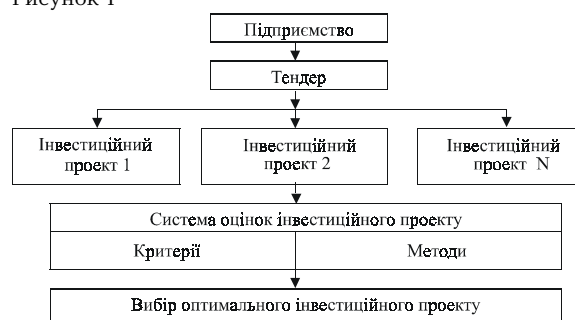
У світовій практиці використовується два принципових підходи щодо прийняття інвестиційних рішень: перший, коли пропозиції інвестицій і попит на них співпадають або пропозиції перевищують попит (Рис. 1) і другий підхід, коли попит на інвестиційні ресурси значно вищий, ніж пропозиції (Рис. 2) [3, 6, 8, 9].

Сьогодні в економіці України в цілому і у фармацевтичному секторі зокрема попит на інвестиції значно перевищує їх пропозицію, тому методи оцінки інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств набувають особливої актуальності.

У практиці діяльності зарубіжних компаній, а в останні роки і країн СНД, тради-

ційним підходом до оцінки інвестиційної привабливості підприємств є використання рейтингового підходу [1, 2, 10].

Рисунок 1

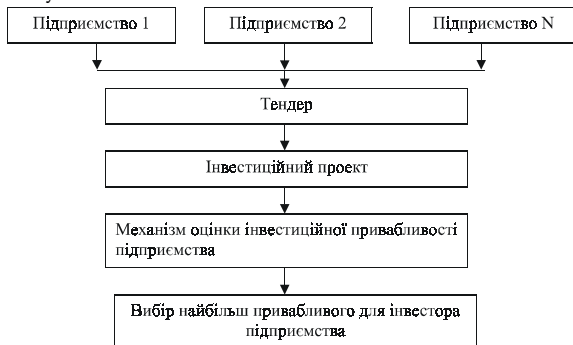


**Алгоритм прийняття управлінського рішення щодо вибору інвестиційного проекту за умов, коли пропозиції інвестицій перевищують попит на них**

Головними методологічними проблемами при використанні цього підходу є:

- по-перше, обґрунтування системи показників для всебічної характеристики інвестиційної привабливості підприємства;
- по-друге, вибір адекватного методу розрахунку рейтингу.

Рисунок 2



**Прийняття управлінського рішення з оцінки інвестиційної привабливості підприємства за умов, коли попит на інвестиційні ресурси перевищує їх пропозицію**

Щодо системи показників, то проведені дослідження показали, що вона має одночасно включати показники, що характеризують інноваційно-інвестиційний розвиток фармацевтичних підприємств, і показники, що характеризують їх фінансовий стан.

Під інноваційно-інвестиційним розвитком фармацевтичного підприємства слід розуміти такий його розвиток, який досягається шляхом тісної взаємодії науки і виробництва, і не тільки забезпечує якісні перетворення у виробничій сфері, що проявляються у випуску нових лікарських засобів (ЛЗ), впровадженні нової техніки, прогресивної технології, підвищенні інтелектуального потенціалу, використанні нових організаційних форм виробництва, але і сприяє підвищенню рівня і глибини використання ресурсів підприємства, зростанню конкурентоспроможності виробництва (що знаходить відображення у позитивній динаміці темпів його економічного розвитку) і рентабельності виробничої й інвестиційної діяльності.

Таким чином, основними складовими оцінки рівня інноваційно-інвестиційного розвитку фармацевтичних підприємств є:

- рівень інноваційно-інвестиційного потенціалу підприємства;
- рівень використання ресурсів підприємства;
- динаміка економічного зростання;
- рівень рентабельності виробничої й інвестиційної діяльності.

Оцінку фінансового стану підприємств доцільно проводити за такими напрямками [4, 5, 7]:

- рівень ліквідності активів підприємства;
- рівень фінансової стійкості підприємства;
- рівень ділової активності підприємства;
- рівень ефективності (рентабельності) використання капіталу.

Щодо вибору методу розрахунку рейтингу інвестиційної привабливості підприємств, то проведений пошук виявив високу ефективність використання для цих цілей методів факторного і таксономічного аналізу.

Слід також відмітити, що оцінка інвестиційної привабливості підприємств не може обмежуватися лише апіорним аналізом, який висвітлює той стан, який мав місце у попередньому періоді. Обов'язковим етапом цієї оцінки має також бути етап прогнозування відібраних показників, який дозволить врахувати не тільки їх рівень, що склався на даний момент, а також очікувані тенденції змін.

Блок-схема алгоритму оцінки інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств наведена на Рис. 3.

Як видно з рисунка, цей алгоритм включає такі етапи:

1. Формування системи показників для оцінки ступеня привабливості об'єктів інвестування.
2. Оцінка інвестиційної привабливості підприємств у відповідності з цілями інвестора на підставі: обчислення інтегральних показників інноваційно-інвестиційного розвитку і фінансового стану; визначення рейтингу підприємства за цими показниками; аналізу збігу розрахованих рейтингів за підприємствами.
3. Прогнозування основних складових інвестиційної привабливості попередньо відібраних об'єктів.
4. Прийняття рішення щодо вибору об'єкта інвестування.

Результати розрахунку інтегральних таксономічних показників інноваційно-інвестиційного розвитку ( $I_{ІР}$ ) і фінансового стану підприємств ( $I_{ФСР}$ ) за даними аналізу діяльності 21 фармацевтичного підприємства наведені у Табл. 1.

Як видно з даних таблиці, не всі підприємства, що характеризуються високим рівнем інноваційно-інвестиційного розвитку, мають, відповідно, добрий фінансовий стан. Так, од-

ночасно і високим рівнем інноваційно-інвестиційного розвитку, і добрим фінансовим станом характеризуються ЗАТ ФФ «Дарниця», ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ». Такі підприємства як, наприклад, ВАТ «Київмедпрепарат», ДЗ ДНЦЛЗ, хоча і мали на період проведення досліджень нижчий у порівнянні із ТОВ «ФК «Здоров'я» і ВАТ «Фармак» рейтинг за рівнем інноваційно-інвестиційного розвитку, характеризувалися більш стійким фінансовим станом і за  $I_{\text{ФСП}}$  одержали, відповідно, 3 і 4 рейтинги. Практично співпадають за рівнем рейтинги  $I_{\text{ІР}}$  і  $I_{\text{ФСП}}$  у ЗАТ «Біолік», ВАТ «Луганський ХФЗ», ХДФП «Здоров'я народу», ВАТ «Дніпрофарм», ОВХФО «Біостимулятор», ВАТ ХФЗ «Червона Зірка», завод бакпрепаратів «Біофарма», підприємство «Львівлікпрепарати». Значно нижчий у порівнянні з рівнем інноваційно-інвестиційного розвитку інтегральний показник фінансового стану мають ВАТ «Вітаміни» і АТ «Київський вітамінний завод». Одеський завод бакпрепаратів і Межиріцький вітамінний завод характеризуються найнижчими в галузі як  $I_{\text{ІР}}$  так і  $I_{\text{ФСП}}$ .

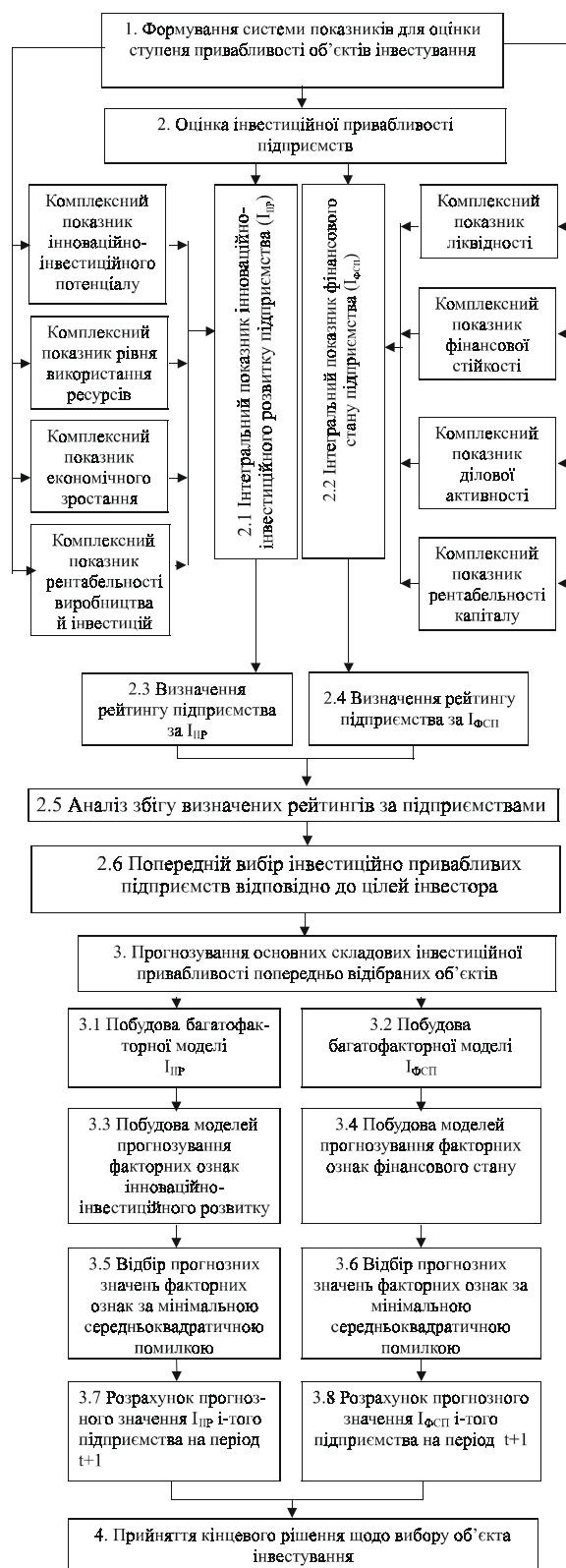
Практичне застосування, із точки зору узагальненої оцінки інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств, має матриця інвестиційної привабливості. Вона побудована на підставі попередньо розрахованих гранично допустимих значень інтегральних показників ІР і ФСП за визначеними зонами якісної оцінки (Табл. 2).

Як видно із наведеної матриці, потенційно імовірні 16 рівнів інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств. У реальній практиці їх виділено 7, оскільки проведені дослідження підтверджують існування достатньо високого зв'язку між фінансовим станом підприємства і рівнем його інноваційно-інвестиційного розвитку.

Найбільшою інвестиційною привабливістю характеризуються квадранти 1, 2, 5. За результатами дослідження в них розташовані такі підприємства: ЗАТ ФФ «Дарниця»; ВАТ «Фармак»; ТОВ «ФК «Здоров'я»; ЗАТ «Борщагівський ХФЗ»; ВАТ «Київмедпрепарат»; ДЗ ДНЦЛЗ. Нижчу, але достатньо високу інвестиційну привабливість, мають ВАТ «Галичфарм»; ВАТ «Луганський ХФЗ»; ЗАТ «Біолік», що займають квадрант 6.

Квадранти матриці за номерами 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 не відповідають критеріям інвестиційної привабливості, тому підприємствам, що в них розташовані, потрібне

Рисунок 3



Блок-схема алгоритму оцінки інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств



коригування інвестиційної та фінансової стратегії та активне впровадження сучасних інструментів фінансового та інвестиційного менеджменту у практику їх діяльності.

Визначені за зонами якісної оцінки критичні значення інтегральних показників ІР і ФСП мають розглядатися як орієнтири у процесі розробки цієї стратегії.

Для цілей розрахунку інтегрального показника інноваційно-інвестиційного розвитку ( $I_{IP}$ ) на фармацевтичних підприємствах, у залежності від рівня локальних показників, побудована така економетрична модель:

$$I_{IP} = -0.09402 + 0.0039X_4 + 0.5064X_5 + 0.2382X_{10} + 0.0079X_{12} + 0.0014X_{14} + 0.1438X_{17} + 0.0108X_{18} + 0.1224X_{19} + 0.0028X_{20} + 0.0943X_{21}.$$

Коефіцієнт регресії для моделі дорівнює  $-0.9898$ ; коефіцієнт детермінації  $-0.9798$ . За F-критерієм Фішера і t-критерієм Ст'юдента наведена модель адекватна і значуща.

Як видно із наведеної моделі, провідне значення для підвищення інноваційно-інвестиційного розвитку фармацевтичних підприємств відіграють такі фактори: показник фондоозброєності праці ( $X_4$ ); коефіцієнт

оновлення асортименту продукції, що виробляється ( $X_5$ ); коефіцієнт реінвестування прибутку ( $X_{10}$ ); показник фондівіддачі ( $X_{12}$ ); показник продуктивності праці ( $X_{14}$ ); темпи зростання обсягів виробництва ( $X_{17}$ ); темпи зростання обсягів збуту ( $X_{18}$ ); ринкова частка підприємства ( $X_{19}$ ); рентабельність операційної (виробничої) діяльності ( $X_{20}$ ); рентабельність інвестиційної діяльності ( $X_{21}$ ).

Економетрична модель, що може бути рекомендована для обчислювання інтегрального показника фінансового стану фармацевтичних підприємств ( $I_{ФСП}$ ), має такий вигляд:

$$I_{ФСП} = -0.0498 + 0.0852Y_1 + 0.3495Y_4 + 0.2756Y_{10}.$$

Коефіцієнт регресії для моделі дорівнює  $0.9606$ ; коефіцієнт детермінації  $-0.9226$ ; F-критерій Фішера  $-67.55$ . За t-критерієм Ст'юдента всі показники, що увійшли до моделі - значущі.

Побудована модель показує, що на інтегральний показник фінансового стану фармацевтичних підприємств найбільший вплив справляють: коефіцієнт покриття ( $Y_1$ ); коефіцієнт забезпеченості запасів власним обо-

Таблиця 1

Результати порівняння рейтингів фармацевтичних підприємств за  $I_{IP}$  і  $I_{ФСП}$

№	Підприємство	$I_{IP}$	$I_{ФСП}$	Рейтинг	
				За $I_{IP}$	За $I_{ФСП}$
1.	ЗАТ ФФ "Дарниця"	0.6331	0.7089	1	1
2.	ВАТ "Фармак"	0.5086	0.4688	4	5
3.	ТОВ "ФК "Здоров'я"	0.5297	0.4442	3	6
4.	ЗАТ НВЦ "Борщагівський ХФЗ"	0.5911	0.5649	2	2
5.	ВАТ "Київмедпрепарат"	0.5073	0.5442	5	3
6.	ВАТ "Галичфарм"	0.3935	0.3808	7	10
7.	ДЗ ДНЦЛЗ	0.5033	0.5297	6	4
8.	ЗАТ "Біолік"	0.3898	0.4049	8	7
9.	ВАТ "Луганський ХФЗ"	0.3881	0.4027	9	8
10.	ВАТ "Лубнифарм"	0.1798	0.1980	19	13
11.	ОВХФО "Біостимулятор"	0.1995	0.1608	18	17
12.	ВАТ "Дніпрофарм"	0.2532	0.3011	12	11
13.	ВАТ "Вітаміни"	0.2483	0.0705	13	19
14.	ВАТ ХФЗ "Червона Зірка"	0.2418	0.1705	15	14
15.	ВАТ "Монфарм"	0.2442	0.2056	14	12
16.	Завод бакпрепаратів "Біофарма"	0.2056	0.1692	16	15
17.	Підприємство "Львівлікпрепарати"	0.2028	0.1509	17	18
18.	АТ "Київський вітамінний завод"	0.2556	0.1668	11	16
19.	ХДФП "Здоров'я народу"	0.3095	0.3980	10	9
20.	Межиріцький вітамінний завод	0.0671	0.0518	20	20
21.	Одеський завод бакпрепаратів	0.0502	0.0027	21	21

ротним капіталом ( $Y_4$ ); показник рентабельності активів ( $Y_{10}$ ).

Одержані моделі можуть використовуватися для прогнозування інтегральних показників інноваційно-інвестиційного розвитку і фінансового стану фармацевтичних підприємств та оцінки перспектив зміни їх інвестиційної привабливості за умов побудови трендів за відповідними локальними показниками.

#### Висновки

1. Комплексна характеристика інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств передбачає використання системи показників, що всебічно характеризують не тільки їх фінансовий стан, але і рівень інноваційно-інвестиційного розвитку.

2. Проведені дослідження показали, що найбільш адекватним методом рейтингової оцінки інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств є багатомірний таксономічний аналіз.

3. Серед факторів, що в найбільшій мірі впливають на інвестиційну привабливість фармацевтичних підприємств, визначені такі: показник фондоозброєності праці; коефіцієнт оновлення асортименту продукції, що виробляється; коефіцієнт реінвестування

прибутку; показник фондівдачі; показник продуктивності праці; темпи зростання обсягів виробництва; темпи зростання обсягів збуту; ринкова частка підприємства; рентабельність операційної діяльності; рентабельність інвестиційної діяльності; коефіцієнт покриття; коефіцієнт забезпеченості запасів власним оборотним капіталом; рентабельність активів.

4. Вітчизняні фармацевтичні підприємства, які намагаються привернути увагу стратегічних і фінансових інвесторів, мають бути зацікавлені і сприяти об'єктивному висвітлюванню основних показників, що характеризують їх фінансово-господарську діяльність, як це звичайно заведено у західних фармацевтичних фірмах.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бакаєв Л.О. Кількісні методи в управлінні інвестиціями : Навч. посібник. — К.: КНЕУ, 2000. — 151 с.
2. Бирман Г. Шмидт С. Экономический анализ инвестиционных проектов / Пер. с англ. под ред. Л.П. Белых. - М.: Банки и биржи, ЮНИТИ, 1997. — 631 с.
3. Бланк И.А. Инвестиционный менеджмент. — Киев, МП "ИТЕМ ХТД", "Юнайтед Лондон Трейд Лимитед", 1995. — 448 с.
4. Забродский В.А., Кизим Н.А. Диагностика финансовой устойчивости функционирования производственно-экономических систем. — Харьков: Бизнес Информ, 2000. — 108 с.

Таблиця 2

Матриця інвестиційної привабливості фармацевтичних підприємств

Якісна оцінка ПР / Якісна оцінка ФСП	Високий	Задовільний	Нижчий за середній	Стагнація
Добрий	$0,50 \leq I_{\text{ПР}} < 1$ $0,50 \leq I_{\text{ФСП}} < 1$ 1 ↑ <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">1; 4; 5; 7</span>	$0,31 \leq I_{\text{ПР}} < 0,5$ $0,50 \leq I_{\text{ФСП}} < 1$ 2 ↑	$0,15 \leq I_{\text{ПР}} < 0,31$ $0,50 \leq I_{\text{ФСП}} < 1$ 3 ↓	$0 \leq I_{\text{ПР}} < 0,15$ $0,50 \leq I_{\text{ФСП}} < 1$ 4 ↓
Задовільний	$0,50 \leq I_{\text{ПР}} < 1$ $0,25 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,5$ 5 ↑ <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">3; 4</span>	$0,31 \leq I_{\text{ПР}} < 0,5$ $0,25 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,5$ 6 → <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">6; 8; 9</span>	$0,15 \leq I_{\text{ПР}} < 0,31$ $0,25 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,5$ 7 ↓ <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">12; 19</span>	$0 \leq I_{\text{ПР}} < 0,15$ $0,25 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,5$ 8 ↓
Незадовільний	$0,50 \leq I_{\text{ПР}} < 1$ $0,10 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,25$ 9 ↓	$0,31 \leq I_{\text{ПР}} < 0,5$ $0,10 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,25$ 10 ↓	$0,15 \leq I_{\text{ПР}} < 0,31$ $0,10 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,25$ 11 ↓ <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">10; 11; 14; 15; 16;</span>	$0 \leq I_{\text{ПР}} < 0,15$ $0,10 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,25$ 12 ↓
Кризовий	$0,50 \leq I_{\text{ПР}} < 1$ $0 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,10$ 13 ↓	$0,31 \leq I_{\text{ПР}} < 0,5$ $0 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,10$ 14 ↓	$0,15 \leq I_{\text{ПР}} < 0,31$ $0 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,10$ 15 ↓ <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">13</span>	$0 \leq I_{\text{ПР}} < 0,15$ $0 \leq I_{\text{ФСП}} < 0,10$ 16 ↓ <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">20; 21</span>

↑ - найбільш інвестиційно привабливі підприємства;

⇒ - підприємства із середнім рівнем інвестиційної привабливості;

↓ - інвестиційно не привабливі підприємства.

5. Забродский В.А., Кизим Н.А. Оценка финансовой устойчивости производственно-экономических систем. — Харьков: Бизнес Информ, 2000. - 82 с.
6. Игошин Н.В. Инвестиции. Организация управления и финансирование: Учебник для вузов. — М.: Финансы, ЮНИТИ, 2000. — 413 с.
7. Посилкіна О.В., Толочко В.М. Фінансова діяльність хіміко-фармацевтичних підприємств: Підручник для студентів вищ. фармац. навч. закладів / За ред. В.М. Толочко — Х.: Вид-во НФАУ; Вид-во ТОВ "Золоті сторінки" — 2001. - 536 с.
8. Шарп У., Александер Г., Бэйли Дж. Инвестиции: Пер. с англ. — М.: ИНФРА — М., 1999. — 1028с.
9. Mayo I. Investments: On Introduction. — N.J.: The Dryden Press, 1991. — 453 p.
10. Poterfield D. Investment Decision and Capital Costs. — N. J., 1996. — 298 p.

Резюме

Посылкина О.В.

**Методика комплексной оценки инвестиционной привлекательности фармацевтических предприятий**

В статье рассмотрена методика комплексной оценки инвестиционной привлекательности фармацевтических предприятий, в основу которой положено опреде-

ление интегральных показателей их инновационно-инвестиционного развития и финансового состояния. Приведены эконометрические модели для расчета этих показателей на уровне отдельного предприятия. Построена матрица инвестиционной привлекательности фармацевтических предприятий.

Summary

Posilkina O.V.

**The procedure of complex evaluation of pharmaceutical enterprises investment attraction**

In this article the procedure of complex evaluation of pharmaceutical enterprises investment attraction, based on the determination of integral indices of their innovation — investment development and financial state is considered. The econometrics models for these indices calculation for the individual enterprise are given. The matrix of pharmaceutical enterprises investment attraction was built.

**Посилкіна Ольга Вікторівна.** Закінчила Харківський інженерно-економічний інститут (1978). Канд. економ. наук (1983). Доцент (1989). Зав. кафедрою економіки підприємства Національного фармацевтичного університету.

## Аналітичний огляд

УДК 615.233 (477)

Андрюкова Л.Н., Кузнецова Е.Н., Фетисова Е.Г, Сиденко Л.Н.  
Государственный научный центр лекарственных средств

### Назальные препараты: состояние и перспективы

Приведен сравнительный анализ рынка лекарственных средств в Украине, свидетельствующий о значительном дефиците отечественных назальных препаратов. Намечены перспективы создания новых препаратов различных фармакотерапевтических групп для лечения заболеваний полости носа и околоносовых пазух на основе растительных экстрактов и синтетических субстанций.

В патологии верхних дыхательных путей человека значительное место занимают острые респираторные инфекции и острые аллергические заболевания, частота которых составляет 50-87 % всех случаев заболеваний органов дыхания и в последнее время возрастает [1, 2]. Этому способствуют как ухудшающаяся экологическая обстановка, так и разнообразные факторы, в целом вызывающие снижение резистентности организма. В настоящее время актуальным является создание и выпуск препаратов для лечения заболеваний полости носа (ринитов) и околоносовых пазух (синуситов).

Ринит - наиболее частая из острых инфекций верхних дыхательных путей. Для нее характерны: отек слизистой оболочки носа и расширение ее сосудов, выделения из носа, его заложенность и чихание. Назальные лекарственные средства, применяемые местно

для лечения ринитов и синуситов, — это жидкие, мягкие или твердые лекарственные препараты, предназначенные для введения в носовую полость с целью оказания местного или системного эффекта. Как правило, они содержат одно или несколько действующих веществ [3].

Согласно Государственной Фармакопее Украины (ГФУ), назальные лекарственные средства в зависимости от формы классифицируются как:

- назальные капли и жидкие аэрозоли;
- назальные порошки;
- назальные мягкие лекарственные средства;
- назальные промывки;
- назальные палочки.

К назальным каплям и жидким аэрозолям относят растворы, эмульсии или суспензии, предназначенные для инстилляций или

впрыскивания в носовую полость. Данная лекарственная форма представляет наиболее обширную группу препаратов.

Назальные порошки — твердая лекарственная форма, состоящая из сыпучих лекарственных средств, вводимых в носовую полость посредством подходящего приспособления. Размер частиц порошков не должен превышать 20 мкм, так как они должны оставаться в носовой полости и всасываться слизистой, не попадая в легкие.

Из мягких назальных лекарственных средств особенно распространены мази. Назальные мази должны соответствовать общим требованиям, предъявляемым к мазям. Чистые гидрофобные мази чаще всего применяются для приготовления мазевых тампонов.

Назальные промывки — это водные изотонические растворы, предназначенные для очистки носовой полости.

Препараты для ринологии не должны нарушать защитную функцию слизистой носа, так как на регенерацию эпителия требуется неделя, а на восстановление отмерших ресничек мерцательного эпителия — три месяца. Гидрофильные назальные формы наиболее физиологичны и практически не нарушают двигательную функцию ресничек эпителия. Масляные препараты, смешиваясь со слизью, не достигают полного контакта со слизистой оболочкой носа, что сказывается на их терапевтическом эффекте. Также важное значение для функционирования реснитчатого эпителия имеют изотоничность назальных растворов и значения pH.

Недостатком водных растворов является непродолжительный период их терапевтического действия, так как при местном лечении воспалительного процесса носовой полости и околоносовых пазух важно создание и поддержание в них постоянной концентрации лекарственных веществ. Для увеличения времени контакта водных растворов со слизистой носа в их состав вводят пролонгаторы, в основном, это синтетические гидрофильные ВМС: поливиниловый спирт и водорастворимые производные целлюлозы (метилцеллюлоза, оксипропилметилцеллюлоза, натрий-карбоксиметилцеллюлоза) [4]. Производные целлюлозы, адсорбируясь, способны поглощать секреторные и экскреторные продукты, что немаловажно при образовании гноя и воспалении [5, 6]. Для пролонгации распыляемых водных препаратов (спреев,

аэрозолей) предлагаются композиции водорастворимых полимеров, состоящие из поливинилпирролидона с молекулярной массой 10000-30000 и полиэтиленгликоля, а также увлажняющих веществ (пропиленгликоль, глицерин и др.). Композиции полимеров, входящие в состав спреев, позволяют удерживать действующие вещества в полости носа в течение 20-25 мин [7].

Эффективность назальных препаратов во многом зависит от формы выпуска. Назальные капли сейчас вытесняются с рынка назальными спреями и аэрозолями. В отличие от капель в нос, которые быстро стекают в нижний носовой ход, распыляемый раствор препарата равномерно распределяется по всей поверхности слизистой оболочки носа, а также в местах, куда открываются соустья околоносовых пазух.

Наиболее обширную группу зарегистрированных в Украине препаратов для комплексного лечения ринитов и синуситов составляют противоотечные препараты для местного применения, за исключением кортикостероидов (Рис. 1). При выраженной заложенности носа возникает необходимость местного применения сосудосуживающих средств — стимуляторов альфа-адренорецепторов. Это препараты на основе производных имидазолина: оксиметизолина, ксилометазолина и нафазолина. Из 24 препаратов этой группы, зарегистрированных в Украине, только три препарата выпускаются предприятиями Украины: назальные капли Фармазоллин, Нафтизин («Фармак», г. Киев) и назальный спрей Нокспрей (СП «Сперко Украина», г. Винница) [8].

Однако помимо основного терапевтического действия, альфа-адреномиметики могут вызывать сухость слизистой носа, головную боль, артериальную гипертензию и ряд других побочных эффектов. Для уменьшения проявления нежелательного действия в состав таких препаратов вводят различные вещества, так, например, в состав назальных спреев Нокспрей и Др. Тайс введены эфирные масла, которые предохраняют слизистую оболочку носа от раздражения и высушивания.

Из новых препаратов представляет интерес разработанный в Германии назальный спрей, который обладает противоотечным эффектом и одновременно способствует регенерации слизистой полости носа, а также очищает верхние дыхательные пути. В каче-

стве активных ингредиентов препарат содержит натрия хлорид и эфирные масла - лимонное, эвкалиптовое, мелисовое, камфорное, анисовое и др. Растворителем является вода из минеральных источников, содержащая минеральные вещества [9].

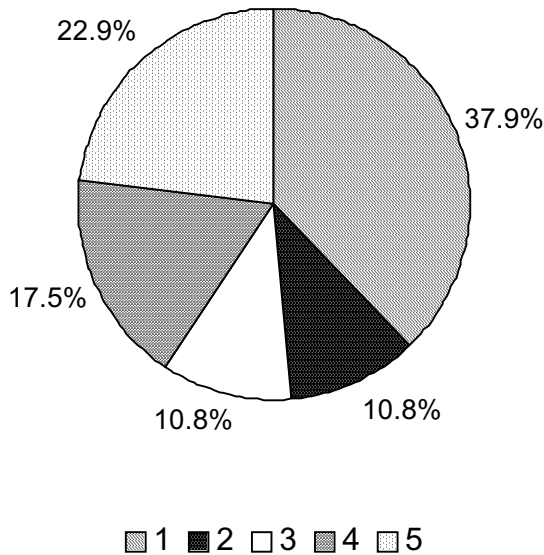


Рисунок  
**Распределение зарегистрированных в Украине препаратов для лечения синуситов и ринитов по фармакотерапевтическим группам**  
 1 – противоотечные и другие препараты для местного применения;  
 2 – противоаллергические средства, за исключением кортикостероидов;  
 3 – кортикостероиды;  
 4 – прочие средства для лечения заболеваний полости носа;  
 5 – противоотечные средства для системного применения.

За последние 10-15 лет частота аллергического ринита (сезонного и круглогодичного) в европейских странах возросла и, по данным последних лет, достигает 20 %. Среди аллергозов детей 40.4 % составляет респираторная аллергия, а 23.4 % - полинозы [10]. По данным профессора Б.М. Пухлика, проводившего эпидемиологические исследования в Винницкой области, за период, прошедший после аварии на Чернобыльской АЭС, количество больных с аллергическим ринитом увеличилось вдвое [11]. В настоящее время общепризнанной является возможность трансформации аллергического ринита в бронхиальную астму. Таким образом, на сегодняшний день трудно переоценить актуальность поиска новых эффективных средств для его лечения.

Препараты, применяемые для местной специфической фармакотерапии аллергических ринитов, можно разделить на следующие группы:

- назальные препараты кромогликата натрия;
- антигистаминные препараты;
- антихолинергические препараты;
- комбинированные препараты (сочетание антигистаминных средств и деконгестантов);
- глюкокортикоиды.

Рынок препаратов для лечения аллергических ринитов, в основном, представлен препаратами кромогликата натрия: Ифирал 2 % (Unique Pharmaceutical Laboratories), Кромосал (ISN Polfa Rzeszow), Стадаглицин (Stada), Ломузол (Fisons), Кромоглин (Merckle) и др. Кромогликат натрия является безопасным и эффективным при лечении аллергического ринита. Препараты кромогликата натрия действуют на ранней и поздней фазах заболевания, при их применении уменьшается интенсивность таких симптомов как зуд в носу, чихание, гиперсекреция и назальная блокада. Благодаря большому интервалу безопасности, их часто назначают пожилым людям, детям и беременным женщинам, страдающим сезонной или круглогодичной аллергией.

Антигистаминные препараты местного применения (Аллергодил, Гистимет) могут тормозить развитие индуцированных аллергенами назальных симптомов, включая чихание и ринорею. К нежелательным проявлениям спрея Аллергодил относится жжение в носу и изменение вкуса, что не отмечается при применении Гистимета [11]. Длительное применение спрея Гистимет не вызывает повреждения слизистой оболочки носа и потери тонуса ее сосудов, в отличие от сосудосуживающих капель [12].

Антихолинергическое соединение ипратропий бромид, действующее вещество дозированного спрея Атровент (Boehringer Ingelheim), приводит к ослаблению ринореи. Ринорею обычно удается уменьшить через 30 мин; действие препарата продолжается в течение 8-12 ч. В то же время данный препарат не устраняет заложенность носовых ходов, чихание и зуд.

Из комбинированных препаратов представляет интерес Виброцил (Novartis), выпускаемый в виде геля, капель в нос и спрея. Активные вещества препарата: диметиндена ма-

леат и фенилэфрин. Благодаря селективному действию на альфа-рецепторы слизистой носа, фенилэфрин действует как мягкий вазоконстриктор, приводя к быстрому и эффективному снижению отечности носовых ямок. Диметиндена малеат, действующий на адренорецепторы, является антиаллергическим ингредиентом, эффективен в малых дозах и хорошо воспринимается. Данный препарат предназначен для локального применения при простудах, синуситах, хронических и сезонных ринитах.

Топические назальные кортикостероиды местного применения в настоящее время признаются как наиболее эффективные фармакологические препараты для лечения ринитов как аллергических, так и не аллергических. Насобек (Norton Healthcare) и Беконазе (Glaxo Wellcome), действующим веществом которых является беклометазон, а также Фликсоназе (флутиказона пропионат, Glaxo Wellcome) оказывают выраженное противовоспалительное и противоаллергическое действие. По данным Львовской кафедры оториноларингологии, на фоне общей антигистаминной терапии эти препараты предупреждают образование полипов и даже уменьшают их количество [13].

Назакорт AQ (Rhone-Poulenc Rorer) - первый назальный спрей, содержащий триамцинолон, представляет собой водный распыляемый состав с тиксотропными свойствами [14]. Это означает, что вязкость формы уменьшается при встряхивании и восстанавливается, когда продукт приходит в соприкосновение со слизистой носа, что позволяет удерживать активное вещество в месте воспаления.

В 1997 году на фармацевтический рынок Великобритании поступил водный назальный спрей Назонекс (Schering Plough), в виде 0.05 % суспензии мометазона фууроата. Согласно проведенным фармакологическим и клиническим испытаниям, препарат показал высокую эффективность при лечении сезонного и круглогодичного аллергического ринита, которая зависит от концентрации кортикостерона и дисперсности его частиц [15].

Воспалительные заболевания придаточных пазух носа (гаймориты, этмоидиты, фронтиты, сфеноидиты) связаны с вирусными, бактериальными и грибковыми инфекциями или аллергическими реакциями. Для воздействия на этот процесс используют различные пути введения лекарственных средств.

Однако местное применение антибактериальных средств имеет ряд преимуществ перед их системным применением: возможность снизить дозу препарата, отсутствие или незначительное общее влияние на организм больного, более быстрое действие на инфекционный агент и др. Арсенал средств терапии синуситов представлен как монопрепаратами (Биопарокс, Бактробан, Изофра, Мирамистин), так и комбинированными (Полидекса с фенилэфрином), действующие на различных этапах жизнедеятельности и метаболизма возбудителей.

Биопарокс – ингаляционный препарат, активной субстанцией которого является антибиотик фузафунжин, обладающий местным антибактериальным и противовоспалительным действием. Препарат разработан и выпускается компанией Servier в виде спрея с дозирующим клапаном. Доказана выраженная бактериальная активность фузафунжина в отношении большинства грамположительных кокков, особенно пневмококков и стафилококков [16, 17]. В то же время Биопарокс проявляет активность и по отношению к ряду атипичных возбудителей, таких как микоплазма, лиотерелла и даже легионелла [18]. В литературе есть данные о противовирусной активности препарата [19]. Благодаря отсутствию резорбтивного действия назальный спрей Биопарокс может быть применен при лечении беременных и детей [20].

Фирма "Smithkline Beecham Pharmaceuticals" производит назальную мазь в тубах Бактробан. Мупирицин, активное вещество мази, является антибиотиком широкого спектра действия. Мазь применяют при стафилококковом носительстве в полостях носа (в том числе штаммы *Staphylococcus aureus*, полирезистентные и устойчивые к метицилину).

На основе антибиотика фрамицетина сульфата из группы аминогликозидов для местного применения в оториноларингологии выпускается спрей для интраназального применения Изофра (Doct. E. Bouchara). Концентрация фрамицетина, достигаемая при местном применении, обеспечивает его бактерицидную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, вызывающих развитие инфекционных процессов в верхних отделах дыхательных путей. Низкая системная абсорбция фрамицетина сульфата полностью исключает ототоксическое действие. Применяют препарат в составе комбинированной терапии

при ринитах, ринофарингитах, синуситах при отсутствии повреждений перегородок и для профилактики и лечения воспалительных процессов после оперативных вмешательств.

Антисептический препарат на основе мирамистина оказывает антибактериальное действие на грамположительную и грамотрицательную, аэробную и анаэробную, спорообразующую и аспорогенную микрофлору в виде монокультур и микробных ассоциаций. Применяемые для лечения больных синуситами различной этиологии водные растворы мирамистина в концентрации 0.01 % и 0.05 % не вызывают угнетения мукоцилиарного транспорта. Поверхностно-активный антисептик мирамистин, наряду с высокой антимикробной активностью, обладает иммуномодулирующим действием, что дает возможность эффективно применять препарат в отоларингологической практике [21].

Спрей для интраназального применения Полидекса с фенилэфрином (Laboratoires du Doct. E. Bouchara) предназначен для лечения воспалительных и инфекционных заболеваний носовой полости, глотки и придаточных пазух носа. Терапевтический эффект препарата обусловлен противовоспалительным действием дексаметазона на слизистую оболочку носа, противомикробным действием антибиотиков неомицина и полимиксина В и сосудосуживающим действием фенилэфрина. Клинические испытания спреев Изофра и Полидекса с фенилэфрином в Киевском НИИ отоларингологии им. проф. А.И. Коломийченко показали их эффективность в лечении бактериальной инфекции полости носа, околоносовых пазух и носоглотки [22].

Одно из направлений в лечении и профилактике риносинуситов представляют препараты, содержащие лизаты бактерий. ИРС-19 - вакцина для интраназального применения, в состав которой входят лизаты 8 различных бактерий, увеличивает содержание лизоцима, стимулирует фагоцитоз. При применении ИРС-19 для лечения гайморитов у детей отмечено выраженное терапевтическое действие препарата, проявляющееся в ускорении выздоровления (отсутствие патологического отделяемого при пункции, клиническое выздоровление), отсутствии развития осложнений заболеваний, а также подтвержденный катamnестическими данными профилактический эффект [21].

Анализ лекарственных средств, используемых в ринологии, показал широкий выбор

препаратов для лечения болезней носа и его придаточных пазух. Однако, несмотря на то, что фармацевтические предприятия Украины оснащены соответствующим оборудованием, позволяющим наладить выпуск назальных капель и спреев, они выпускают всего несколько наименований назальных лекарственных средств. Основная же часть препаратов, поступающих на фармацевтический рынок Украины, - препараты импортного производства. Поэтому актуальной задачей, стоящей перед отечественной наукой и производителями лекарственных средств, является создание и внедрение в производство широкого ассортимента назальных препаратов различных фармакотерапевтических групп. Следует также уделить внимание разработкам препаратов, полученных на основе растительных экстрактов, в связи с их высокой эффективностью и безопасностью в отличие от препаратов, полученных на основе синтетических субстанций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Солдатов И.Б. Лекции по оториноларингологии. - Изд. 2. - М.: Медицина, 1994. - 287 с.
2. Заболевания органов дыхания у детей. - К.: Здоров'я, 1980. - 472 с.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. - Харків: РІРЕГ, 2001. - с. 511.
4. Пискунов С.З., Ерофеева Л.Н., Панкрушева Т.А. Лечение ринитов лекарствами на полимерной основе: Метод. рекомендации (утв. Минздравом РСФСР). - Курск, 1984. - 15 с.
5. Панкрушева Т.А. Экспериментально-теоретическое обоснование создания мягких лекарственных форм на полимерных основах — производных целлюлозы: Автореф. дис. ... д-ра фарм. наук. — М., 1995. — 38 с.
6. Полимеры в фармации / Под ред. А.И. Тенцовой, М.Т. Алюшина. - М.: Медицина, 1985. - 256 с.
7. Пат. № 5897858. США, МКИ<sup>6</sup> А 61 К 9/08. Назальные спреи с повышенным удержанием в полости носа / Hasewanter Joseph A., Rencher William F. (США). — 2 с.
8. Компендиум. Лекарственные препараты 2001/2002 / Под редакцией проф. В.Н. Коваленко и проф. А.П. Викторова. - Киев: Морион, 2002.
9. Заявка № 19731472. Германия, МКИ<sup>6</sup> А 61 К 33/14. Жидкость для спрея для распыления в носу / Zellner Gerhard (Германия) — 4 с.
10. Андрух В.С. Силлард П в лечении аллергических заболеваний у детей // Провизор. - 2000. - № 24. - с. 30.
11. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. — Одесса, 1999. - 470 с.
12. III Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство». Москва, 16-20 апреля 1996: Тез. докл. - М., 1996. - С.184.
13. Дев'яносто років кафедрі оториноларингології у Львові // Аптека галицька. - 1999. - № 14. - с. 16-17.
14. Pharmaceutical Journal. - 1997. - Vol. 258, No. 6934.
15. Пат. № 5889015. США, МКИ<sup>6</sup> А 61 К 31/58. Использование мометазонфуроата для лечения заболеваний нижних дыхательных путей и легких / Sequera Joel A., Cuss Francis M., Nolor Keith B. (США) — 3 с.
16. German — Fattal M. // Drugs and Diseases/ Ed. J.Tibbey. -1988.- Vol.4, No. 1.- P. 83-87.

17. Reinert Rh. // Drugs and Diseases. Ed. J. Libbey.- 1989.- V.5 — P. 113-123.  
 18. Pocardalo I.I. Assons M.// Rhinology.- 1988.- Suppl. - No. 5.- P. 45-53.  
 19. Nolibe D., Delace G., Ming Ngny Thang // Rhinology.- 1989, Suppl. — P. 27-43.  
 20. Haler D.// La vie Medicale.- 1980.- Mars. - 2p.  
 21. VI Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство». Москва, 10-14 апреля 2000: Тез. докл. - М., 2000.  
 22. Новые препараты для лечения отитов и риносинуситов // Провизор. - 2000. - № 21. - С. 42-43.

*Резюме*

Андрюкова Л.М., Кузнєцова К.М.,  
 Фетисова О.Г., Сіденко Л.М.

**Назальні препарати: стан і перспективи**

Наведений порівняльний аналіз ринку лікарських засобів в Україні, який свідчить про значний дефіцит вітчизняних назальних препаратів. Намічені перспективи створення нових препаратів різних фармакотерапевтичних груп для лікування захворювань порожнини носа та навколососових пазух на основі рослинних екстрактів і синтетичних субстанцій.

*Summary*

Andryukova L.M., Kuznetsova K.M.,  
 Fetisova O.G., Sidenko L.N.

**Nasal drugs: status and prospects**

The comparative analysis of pharmaceutical market in Ukraine argumentative of significant deficiency of domestic nasal drugs is given. The prospects of creation of new drugs of various pharmacotherapeutic groups for the treatment of nasal cavity and accessory nasal sinuses diseases on basis of plant extracts and synthetic substances are outlined.

**Андрюкова Лариса Николаевна.** Окончила Харьковский политехнический институт. Работает в ГНЦЛС (с 1982). Канд. фарм. наук (1994). Зав. лабораторией глазных, ушных и назальных лекарственных форм (ЛГУНЛФ) (1995).

**Кузнєцова Екатерина Ивановна.** Окончила Украинскую фармацевтическую академию (1996). Работает в ГНЦЛС (с 1991). Мл. науч. сотр. ЛГУНЛФ (1997).

**Фетисова Елена Геннадиевна.** Окончила Харьковский государственный университет (1995). Мл. науч. сотр. ЛГУНЛФ.

**Сіденко Лариса Николаевна.** Окончила Украинскую фармацевтическую академию (1998). Мл. науч. сотр. ЛГУНЛФ.

УДК 615.28:617.7-089.243

Андрюкова Л.М., Сіденко Л.М., Фетисова О.Г., Кузнєцова К.М., Красічкова О.А.  
 Державний науковий центр лікарських засобів

**Контактні лінзи та засоби догляду за ними**

Стаття базується на аналізі літературних даних із сучасних видів контактних лінз (КЛ) і засобів догляду за ними. Наведена класифікація КЛ, описані переваги та недоліки їх застосування, у тому числі при використанні як засобів доставки лікарських засобів. Наведені вимоги, що пред'являються до розчинів для догляду за контактними лінзами.

Контактні лінзи (КЛ) — це один зі шляхів вирішення проблеми корекції зору. В усьому світі в офтальмологічній практиці методу контактної корекції, зокрема при короткозорості, надається велике значення. У розвинутих країнах до 20 % населення, що потребує оптичної корекції, використовує контактні лінзи (наприклад, у США - близько 24 млн. людей) [14]. Більше 75 % усіх патентів із методів корекції та лікування короткозорості у розвинутих країнах світу стосуються контактної корекції, що, безперечно, відбиває її безсумнівну перспективність у найближчі десятиріччя [9]. У цьому зв'язку варто особливо підкреслити важливість всебічного науково-технічного доопрацювання питань використання контактних лінз, а також засобів догляду за ними.

Контактні лінзи належать до класу нерозчинних офтальмологічних вставок ("inserts"). Причому, вони є єдиною групою з цього класу, здатною корегувати рефракційні недоліки ока, і таким чином забезпечувати поліпшення гостроти зору.

Традиційно для корекції зору використовуються окуляри. Однак, вони не завжди забезпечують комфортність і повну видимість навколишнього світу: оправа окулярів обмежує бічний зір, форма і розміри предметів можуть здаватися перекоханими; лінзи окулярів запотівають при зміні температури або вологості навколишнього середовища. Цих недоліків позбавлені контактні лінзи. У порівнянні з окулярами, вони мають такі переваги: підвищення гостроти зору; поліпшення темної адаптації; відновлення бінокулярного зору; збільшення акомодційних резервів



ока; КЛ можуть бути єдиним засобом при необхідності корекції зору, який відрізняється за своїми параметрами для кожного ока та ін. [3].

Відомо, що контактні лінзи, виготовлені з тонкого видувного скла і такі, що закривають очі майже цілком, з'явилися ще у XIX ст. Проте, до початку п'ятидесятих років XX ст. вони застосовувалися дуже рідко. Перші пластмасові КЛ були великими, опуклими, покривали рогівку і склеру. Винахід тонких невеликих лінз, що вдягаються на рогівку й утримуються капілярним притяганням, став дійсним проривом, який дав можливість використовувати КЛ набагато більшому числу людей [15].

Контактні лінзи класифікують за 5 групами [18, 13]: жорсткі; напівжорсткі; еластичні; м'які гідрофільні; біополімерні.

Першими з'явилися жорсткі контактні лінзи (ЖКЛ), які виготовлені з поліметакрилату і не пропускають повітря (кисню). Слід відзначити, що киснева проникність є важливим чинником для КЛ. Їх конструкція має забезпечувати пацієнту як комфортність при носінні, так і відсутність негативного впливу на рогівку, яка у багатьох відносинах - структура унікальна. Вона прозора, по-різному реагує на розчинники, не має прямого кровопостачання, і більшість живильних речовин і кисень одержує з повітря і слізної рідини. Якщо щось перешкоджає надходженню кисню чи порушує слізну плівку, відбувається порушення метаболізму рогівки та її прозорості, і це відразу відчуває людина. Ось чому такою важливою для КЛ є властивість пропускати кисень. Киснева проникність є також визначальним показником припустимої товщини КЛ і тривалості їх носіння.

Прогрес полімерної хімії призвів до зміни ЖКЛ на жорсткі газопроникні лінзи (ЖГКЛ), виготовлені із суміші різних полімерів, які допускають повітрообмін. Однак більшість із них змочується гірше, ніж ЖКЛ, що веде до проблеми їх правильного підбору та установки.

Зараз перевага надається м'яким контактним лінзам (МКЛ), виготовленим із полігидроксіетилметакрилату [30].

М'які контактні лінзи — це лінзи, що мають здатність вбирати воду. На відміну від жорстких лінз, які не виходять за межі рогівки, крайка м'яких лінз заходить за склеру ока. Така лінза вбирає сльозу, при цьому кількість вологи, що поглинається, у залежності від матеріалу лінзи знаходиться в межах від

20 % до 80 %. Кількість кисню і вуглецю двоокису, які проникають крізь м'яку лінзу, залежить від вмісту в ній води, а також від товщини лінзи [15].

Галузь застосування КЛ не обмежується тільки контактною корекцією. Перші згадки про застосування КЛ у лікувальних цілях відносяться до середини 60-х років XX ст. Їх використовували при опіках очей, для профілактики післяопікового симблефарону. Особливого поширення набуло застосування КЛ для корекції зору після екстракції катаракти і терапевтичного лікування різних захворювань ока [7,1]. Є повідомлення про успішне застосування лінз не тільки у дітей старшого віку, але й у немовлят [2]. На рубежі 80-х років XX ст. вчені задумалися над можливістю використання контактних лінз як системи доставки офтальмологічних ліків. Такий спосіб дозволяє домогтися стабільної лікувальної концентрації лікарських речовин у тканинах ока без багаторазового їх уведення протягом доби [10]. У цьому напрямку проведена велика кількість досліджень, так, наприклад, вивчене застосування КЛ при лікуванні герпетичних кератитів із виразками шляхом просочування їх розчином полудану протягом однієї години [8]; при опіках і повертневих ушкодженнях рогівки для попередження інфекційних ускладнень застосовували МКЛ, просочені гараміцином, фурациліном, преднізолоном [5] та ін. Однак, не всі лікарські речовини можуть бути використані для насичення контактних лінз. Так, анестетиками лінзи не насичують, оскільки відомо, що уведені інстиляційним шляхом вони в тому чи іншому ступені мають токсичну дію на епітелій рогівки, затримують процес регенерації клітин [10]. Крім цього, КЛ не завжди забезпечують доставку лікарської речовини тієї концентрації, яку забезпечують інші офтальмологічні системи. Це пов'язано з технологічними особливостями одержання КЛ, що призводить до помітної розбіжності у вивільненні ліків. Роботи останніх років спрямовані саме на вирішення цієї проблеми [24,4].

Поряд із перевагами існують і недоліки використання КЛ. Це виникнення бактеріальних корнеальних виразок [20]; загострення увеального процесу при застосуванні терапевтичних КЛ [4]; гіпоксія рогівки [29]. Але самим головним недоліком є нездатність КЛ пригнічувати інфекцію [21].

Оцінюючи стан питання контактної корекції зору в Україні, слід відзначити очевидний прогрес у даному напрямку за останні роки. Функціонує ряд організацій, які спеціалізуються на контактній корекції зору, розроблені та серійно випускаються стандартні набори вітчизняних лінз, призначених для корекції короткозорості у широких межах її значень. У Росії до останнього часу близько 60 % використовуваних контактних лінз - імпорتنі. Із огляду на подібні тенденції розвитку, можна припустити, що аналогічна картина спостерігається і в Україні.

Сьогоднішній ринок пропонує широкий вибір лінз. Провідне місце в Україні займають такі компанії як: Baush Lomb, Optic Plus, Cooper Vision, Ocular Sci, Ocular Instrument, Wesley Jessen (США); Polycontact (Фінляндія); CL-Tinters (Італія), Sauflon (Англія) та ін. Американська фірма Wesley Jessen – лідер ринку м'яких спеціальних контактних лінз. Вона випускає різні косметичні лінзи, торичні лінзи, лінзи денного носіння, лінзи планової заміни. Лінзи фірми "Sauflon" із 55 % вологовмістом оснащені блоком захисту від ультрафіолетових променів. Фірма "Ocular Instrument" випускає контактні лінзи для виконання хірургічних маніпуляцій у периферичних відділах порожнини склоподібного тіла. Вони виявляють найбільшу призматичну дію з усіх відомих КЛ для вітректомії [6]. Зараз великою популярністю користуються МКЛ "SofLens 66" виробництва компанії "Baush Lomb", випущені ще в 1971 році. На українському ринку ці лінзи вперше з'явилися в 1996 році. Високий вологовміст і проникність кисню лінз "SofLens 66" - їх безперечна перевага, оскільки пацієнт одержує можливість тривалого (до 15-20 год) і максимально комфортного носіння.

Однак прогрес розвитку КЛ не був би таким успішним, якби паралельно не розвивався такий важливий напрямок, як створення засобів догляду за КЛ. Безперечні переваги КЛ при неправильному догляді за ними можуть бути зведені до мінімуму, і при цьому може бути нанесена шкода очам. Контактні лінзи вимагають ретельного догляду. Неправильний догляд за лінзами призводить до таких ускладнень:

- імунні реакції (папілярний кон'юнктивіт, викликаний носінням контактних лінз) [16];
- ушкодження епітелію рогівки, поверхневі інфільтрати рогівки і гіперемія кон'юнктиви [33];

- взаємодія засобів догляду із матеріалом КЛ [22];

- адгезія бактерій до біоплівки контактної лінзи [32].

Найбільш частим ускладненням, пов'язаним із використанням КЛ, є виразковий кератит. Встановлено, що рогова оболонка ока пацієнтів, які користуються КЛ, піддається впливу цілого ряду несприятливих факторів. Серед них виділяються такі: вплив матеріалу КЛ на рогівку; дія мікрофлори, що ушкоджує і забруднює КЛ у процесі маніпуляцій; несприятливий вплив засобів догляду за КЛ. Постійний контакт КЛ із роговою оболонкою впливає на клітини епітелію як стороннє тіло, тому істотно змінює фізіологію органа зору [28]. Таким чином, засоби догляду за КЛ мають бути нешкідливими для очей, хімічно нейтральними, не вступати в реакцію з іншими розчинами, які одночасно застосовуються при користуванні КЛ, не впливати на матеріал, із якого виготовлені КЛ, відповідати фізіологічним показникам слізної рідини. Розчини для догляду за КЛ випускаються стерильними, у полімерних флаконах різної місткості. Тобто, як видно із перерахованих вище властивостей, засоби догляду за контактними лінзами характеризуються тими ж критеріями якості, що й очні лікарські засоби у формі розчинів.

Основними методами догляду за КЛ є очищення і стерилізація. Ці дві процедури мають проводитися регулярно, причому одна не має замінити іншу. Для стерилізації застосовують два методи – тепловий і хімічний. На початку 70-х років ХХ ст. як основний метод знезаражування КЛ використовували термічну обробку. Однак цей метод не забезпечував необхідної надійності стерилізації. Термічна стерилізація погано очищених лінз також призводить до денатурації протеїнових відкладень, що викликають розвиток алергійних реакцій [17]. У зв'язку із широким впровадженням у медичну практику газопроникних м'яких КЛ термічна стерилізація стала малоприматною, оскільки вона негативно впливала на оптичні та механічні властивості полімерів із високим вмістом води [31]. Пошуки ефективних методів хімічної стерилізації КЛ продовжуються до цього часу, не зважаючи на створення великої кількості захищених патентами композицій дезінфікуючих розчинів і речовин, що очищають. Такі розчини, як правило, містять речовини, що видаляють залишкові неорганічні та органічні відкладен-

ня на лінзах, і консерванти з бактерицидними і фунгіцидними властивостями.

У процесі створення засобів догляду за КЛ дослідники враховують низьку чутливість мікрофлори до антисептиків і високу чутливість епітелію рогівки до хімічних впливів. Тому підбір досить ефективних композицій - надзвичайно складне завдання. Найчастіше використовують синергізм антимікробної дії катіонних детергентів і солей важких металів. У сполуках для нагляду за КЛ раніше широко використовували хлоргексидину біглюконат, бензалконію хлорид, алкілтриетанол амонію хлорид, водню перекис, мертіолят, імідазолідинілсечовину, триметоприм, хлорбутанол, борну, сорбінову та аскорбінову кислоти. Однак, останнім часом з'явилося багато повідомлень про неможливість використання як розчинів для догляду за КЛ і офтальмологічними препаратами речовин, які містять хлоргексидину біглюконат, бензалконію хлорид та тіомерсал через їх взаємодію із матеріалом (полігідроксіетилметакрилатом) КЛ [30]. Основним консервантом, який зараз застосовується у розчинах для догляду за контактними лінзами, є Polyquad®.

Цілий ряд антисептичних розчинів для КЛ містить ферменти, і знезаражування такими розчинами поєднується з очищенням КЛ від органічних відкладень. Незважаючи на високі очищуючі властивості багатьох розчинів, у процесі носіння КЛ молекули денатуrowаного білка за допомогою іонів кальцію прикріплюються до поверхні лінзи, а далі один до одного. У такий спосіб відбувається утворення відкладень, для видалення яких необхідне додаткове очищення за допомогою ферментного очисника. Найбільш ефективні склади, які включають папаїн, панкреатин та протеази мікробного походження [27, 26]. Перспективним вважається введення до знезаражуючих розчинів сілової кислоти і нейрамінідази, які знижують адгезію бактерій по відношенню до КЛ і епітелію рогівки [25, 26].

Слід підкреслити, що застосування хімічних методів знезаражування дозволило знизити ризик інфекційних офтальмологічних захворювань, але воно ж висунуло ряд проблем, пов'язаних із їх несприятливим впливом на матеріал КЛ і оболонки ока. У клінічній практиці 10-15 % пацієнтів не переносять хімічних систем догляду за КЛ. Встановлено, що 8-10 % населення мають підвищену чутливість до мертіоляту, що, мабуть, зумовлено широким використанням цієї сполуки як кон-

серванта у косметичних засобах і вакцинних препаратах [19]. Консерванти хлорбутанол, спирт бензиловий і срібла фенілнітрат взаємодіють із матеріалом контактних лінз. Є повідомлення про алергійні реакції на засоби догляду за КЛ, які містять ензими [23].

Зараз кілька американських фірм-виробників засобів догляду за КЛ випускають розчини «усе в одному флаконі». Ці розчини, як правило, містять хімічні дезінфектанти у поєднанні з додатковими інгредієнтами для зм'якшення, зволоження та очищення КЛ. Основними компонентами таких розчинів є бігуанід (полігексанід) і полоксамін-полоксамер. Полігексанід – мембраноспецифічна молекула із численними активними ділянками, які забезпечують ефективну антимікробну дію при низькій концентрації, залишаючись при цьому нетоксичними для плазматичних мембран кліток людини. Полоксамін – неіонний поверхнево-активний очисник, який видаляє протеїн і ліпідні відкладення завдяки молекулярній структурі, гідрофільні та гідрофобні частини якої обволікають відкладення, що змиваються із поверхні лінзи [14]. ReNu MultiPlus (виробництва фірми «Bausch & Lomb») - препарат із серії розчинів «усе в одному флаконі» - найпопулярніший. Їм користуються близько 120 млн людей у 80 країнах світу. Ті ж самі ключові інгредієнти в ньому доповнюються гідронатом – поліфункціональною молекулою із чотирма негативно зарядженими ділянками. Молекули протеїну присдуються одна до другої і до поверхні лінзи за допомогою кальцію, який у даному випадку служить місточком. Гідронат взаємодіє із кальцієм і розриває місточки за допомогою секвестрації, після того відбувається розсіювання протеїнів у розчині.

Однак фірми, що займаються виробництвом багатофункціональних розчинів, не зупиняються на досягнутому. У розробку нових розчинів вкладаються великі кошти, щорічно в науковій літературі з'являється значна кількість патентів, присвячених даному питанню. В останні роки об'єктом пильної уваги є традиційний водню перекис. Цей метод дезінфекції не пов'язаний із дією консерванта. Однак, пероксидні системи вимагають нейтралізації і непридатні до тривалого зберігання. Питаннями стабілізації і швидкого руйнування водню перекису присвячений ряд досліджень [11, 12].

Таким чином, із наведених матеріалів видно, що контактні лінзи і засоби нагляду за

ними перетворилися у швидко зростаючий і вигідний бізнес у глобальному масштабі із вражаючим потенціалом росту. Ринку продажу перспективний для компаній, які виробляють розчини для нагляду за контактними лінзами, і у даний час становить близько 900 млн доларів на рік. На жаль, до цього часу фармацевтичною промисловістю України не освоєний випуск достатнього обсягу КЛ і зовсім відсутнє виробництво засобів нагляду за ними.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Аветисов С.Э. Экспериментальная оценка влияния на глаз мягких контактных линз с различным влагосодержанием // Офтальмологический журнал. — 1991. - № 4. - С. 236-239.
2. Азнабаев М.Г., Нафикова Ф.К. Эффективность коррекции афакии МКЛ у детей // Офтальмологический журнал. — 1991. - № 3. — С. 140-141.
3. Александрова Л.А. Проблемы профилактики и реабилитации в авиационной и косметической медицине. - СПб: «Питер Пресс», 1994. - С. 1.
4. Бабич Г.В., Киваев А.А. // Офтальмологический журнал. — 1983. — № 4. — С. 193.
5. Стародубцев С.Г., Рябина В.Р., Демяшкевич А.С. и др. Диффузия фурацилина, преднизолона и модельных органических ионов в гидрогелях для мягких контактных линз // Хим.-фармац. журн. — 1985. - № 12. — С. 1468-1472.
6. Дмитриев С.К., Родин С.С. Новые контактные линзы для витректомии // Офтальмологический журнал. — 1999. - № 2. — С. 114-117.
7. Зеленская М.В., Бару Е.Ф., Бабич Г.А. // Вестник офтальмологии. — 1986. - № 3. — С. 14-17.
8. Кореньяк Г.В., Чередииченко Л.П. Биологические покрытия в лечении язвенных поражений роговицы // Офтальмологический журнал. - 1997. — № 3. - С. 205-209.
9. Овечкин И.Г., Росляков В.А., Александрова Л.А. Офтальмофизиологические особенности применения мягких контактных линз в целях коррекции органа зрения летного состава с явлениями близорукости // Вестник офтальмологии. — 1997. - № 3. — С. 20-23.
10. Ушаков Н.А., Гудаковский Ю.П., Гладких А.Ф. и др. О применении мягких контактных линз при повреждениях и заболеваниях глаз // Военно-медицинский журнал. — 1992. - № 8. — С. 54-55.
11. Пат. 4906467 США., МКИ<sup>4</sup> А 61 L 9/00; А 61 К 33/40. Способ дезинфекции мягких контактных линз раствором перекиси водорода, стабилизированным диэтилен-триаминпентаметилефосфоновой кислотой / Tsao Fupao; Ciba-Geigy Corp. (США) — 2 с.
12. Пат. № 5703024. США, МКИ С 11 D 7/ 18. Составы и методы для дезинфекции контактных линз и определение присутствия окисляющего дезинфицирующего средства / Park J.Y., Peng L., Dziabo A. J. (США) — 3 с.
13. Роземблюм Ю.З. Основные тенденции развития оптической коррекции зрения // Российский медицинский журнал. — 2000. - № 1. — С. 40-44.
14. III Симпозиум по контактной коррекции зрения. Плановая замена. Здоровые пациенты — здоровая практика // Глаз. - 1998. - № 2. — С. 5.
15. Цинн У., Соломон Г. Зрение, очки и контактные линзы. - СПб: «Питер Пресс», 1997. - 137 с.
16. Allansmith M. R., Kord D. R., Greiner J. V., et. al. Giant papillary conjunctivitis in contact lens wearers // Am. J. Ophthalmol.- 1977.- Vol. 83.- P. 697 — 708.
17. Christensen B., Lebow K., White E., et. al. The clinical benefits of specially formulated contact lens cleaners and multipurpose solutions // Optometry Today. - 1997. — Vol. 37. — P. 1333-37.
18. Curtler F., Gurny R. Patent literature review of ophthalmic inserts // Drug Development and Industrial Pharmacy. — 1995. — Vol. 21, No.1 — P. 1-18.
19. Edwards K. Lens care with frequent replacement lenses. / Optician. — 1998. — Vol.215, No.5641. — P. 32-34.
20. Efron N., Wohl H., Toma N.G., et al. Pseudomonas corneal ulcers associated with daily wear of disposable hydrogel contact lenses // Int. Contact Lens Clinic. - 1991. - P. 6 -10.
21. Guillon M., Allary J.C., Guillon J.P., Orsborn G. Clinical management of regular replacement part I Selection of replacement frequency // Int. Contact Lens Clinic. - 1992. - No. 19. - P. 104-120.
22. Kaspar H. Binding characteristics and microbiological effectiveness of preservatives // Aust. J. Optometry. - 1976. - Vol. 53. — P. 594- 599.
23. Leahy C.D., Mandell R.B., Lin S.T. Initial in-vivo tear protein deposition on individual hydrogen contact lenses / Optom. Vis. Sci. - 1990. — Vol. 67. - P. 504-511.
24. McMonnies C. Surface deposit theory and practice. // J. Brit. Contact Lens. - 1991. - Vol. 14. - P. 4179-4182.
25. Nason R.J., Vogel H., Tarbell B.J., Yi F.P., Merts G.W. A clinical evaluation of frequent replacement contact lenses on patients currently wearing premium daily wear soft contact lenses // J. Am. Optom. Assoc. - 1993. — Vol. 64. — P. 188-195.
26. Nilsson S.E., Andersson L. Contact lens wear in dry environments // Acta Ophthalmol. Copenh. — 1988. — Vol. 64. — P. 221-225.
27. Nilsson S.F., Lindh H. Hydrogel contact lens cleaning with or without multi-enzymes. A protective study // Acta Ophthalmol. Copenh. — 1988. — Vol. 66. — P. 15-18.
28. Pritchard N., Fonn D., Weed K. Ocular and subjective responses to frequent replacement of daily wear soft contact lenses // Clao J. — 1996. - Vol. 22. — P. 53- 59.
29. Robinson J.R., Eriksen S.P. // Soft Contact Lenses / Ed. T. Bailliere. - London, 1978. - P. - 265.
30. Rudolf Voigt. Pharmazeutische Technologie.- Berlin; Wiesbaden: Ullstein Mosby, 1995.- P. 510.
31. Schlanger J.L. A study of contact lens failures // J. Am. Optom. Assn. - 1993. - Vol. 64. — P. 220- 224.
32. Stern G.A. and Zam Z.S. The pathogenesis of contact lens associated Pseudomonas corneal ulceration: 1. The effect of contact lens coatings on adherence of Pseudomonas aeruginosa to soft contact lenses // Cornea. - 1986. - P. 41-45.
33. Tripathi R.C., Tripathi B.J., Ruben M. The pathology of soft contact lens spoilage // Ophthalmol.- 1980.- Vol. 87, № 5.- P. 365-380.

## Резюме

Андрюкова Л.Н., Сиденко Л.Н., Фетисова Е.Г., Кузнецова Е.Н., Красичкова Е.А.

## Контактные линзы и средства ухода за ними

Статья основана на анализе литературных данных по современным видам контактных линз (КЛ) и средств ухода за ними. Приведена классификация КЛ, описаны преимущества и недостатки их применения, в том числе при использовании как средств доставки лекарственных веществ. Представлены требования, предъявляемые к растворам для ухода за контактными линзами.

*Summary*

Andryukova L.M., Sidenko L.M., Fetisova O.G.,  
Kuznetsova K.M., Krasitchkova O.A.

**Contact lenses and care means for ones**

The article is based on the analysis of literature data on the modern types of contact lenses (CL) and care means for ones. The classification of CL is given and the advantages and shortcomings of using of ones, including the usage as the means of drug delivery, are discussed. The requirements to the solutions for care of contact lenses are given.

**Андрюкова Лариса Миколаївна.** Закінчила Харківський політехнічний інститут. Працює у ДНЦЛЗ (від 1982). Канд. фарм. наук (1994). Зав. лабораторією очних, вушних і назальних лікарських форм (ЛОВНЛФ).

**Сіденко Лариса Миколаївна.** Закінчила Українську фармацевтичну академію (УкрФА) (1998). Мол. наук. співробітник ЛОВНЛФ ДНЦЛЗ.

**Фетисова Олена Геннадіївна.** Закінчила Харківський державний університет (1995). Мол. наук. співробітник ЛОВНЛФ ДНЦЛЗ.

**Кузнєцова Катерина Миколаївна.** Закінчила УкрФА (1996). Працює у ДНЦЛЗ (від 1991). Мол. наук. співробітник ЛОВНЛФ ДНЦЛЗ (1997).

**Красічкова Олена Анатоліївна.** Закінчила УкрФА (1997). Мол. наук. співробітник ЛОВНЛФ ДНЦЛЗ.



Колектив Державного наукового центру лікарських засобів, редакція журналу "Фармаком" із великою скорботою повідомляють, що 5 жовтня 2002 року після тривалої тяжкої хвороби померла видатний учений-фармаколог, доктор фармацевтичних наук, професор

**Оболенцева Галина Володимирівна**

За 42 роки наукової діяльності у ДНЦЛЗ Г.В. Оболенцева дала перепустку у життя більше як 60 лікарським препаратам різних фармакотерапевтичних груп: препаратам для гастроентерології, протизапальним, антигіпертензивним, бронхолітичним, кровоспинним, седативним та ін., більшість із яких випускається промисловістю. Це такі відомі препарати, як "Плантаглюцид", "Ліквіритон", "Калефлон", "Флакарбін", "Алантон",

"Ораза", "Кафіол", "Ламінарид", "Сеналексин", "Раунатин", "Інгаліпт", "Мукалтин", "Аромелін" та ін.

Г.В. Оболенцева приділяла велику увагу педіатричній фармакології. За її активною участю розроблені основні медико-технічні вимоги до дитячих лікарських препаратів, створено більше 20 дитячих лікарських засобів (таблетки бутадіону, свічки з амінокапроновою кислотою, таблетки бензоналу, таблетки фенобарбіталу, таблетки глутамінової кислоти, гранули "Кальмагін", гранули "Калефлон", сироп "Калевіт", свічки з димедролом, гранули діазоліну тощо).

Більшість препаратів, розроблених Г.В. Оболенцевою, є оригінальними та захищені патентами й авторськими свідоцтвами, яких більше 50, нею опубліковано 260 наукових праць.

Г.В. Оболенцева підготувала шість кандидатів та двох докторів наук.

У нашій пам'яті Галина Володимирівна назавжди залишиться чуйною, доброзичливою, працездатною, вимогливою до себе та до інших людиною.

### Новое лекарство от сердечно-сосудистых болезней в ЮАР

В ЮАР, где ежедневно от сердечно-сосудистых заболеваний умирает 108 человек, появление нового доступного лекарства стало надеждой на продление жизни для многих людей.

Средство против образования тромбов в сосудах под названием клопидогрел принимается вместе с таблеткой аспирина. Доза этого препарата стоит в южноафриканских аптеках 1.5 доллара.

Как сообщил ведущий кардиолог Натальского университета в Дурбане профессор Абдул Сатер Мита, ЮАР участвовала в предварительных клинических испытаниях клопидогрела, и сочетание этих двух лекарств в стране уже широко практикуется. Однако он заметил, что врачи предписывают это средство только для «пациентов, входящих в группу повышенного риска». По его мнению, должно пройти достаточно времени, чтобы получить полную картину применения клопидогрела с аспирином.

Согласно заявлению директора Фонда изучения сердца Шан Висманн-Симмондс, большинство кардиологов положительно восприняли появление нового средства, которое очень дешево «и не имеет побочных эффектов».

Итоги исследования нового препарата опубликованы в научных медицинских журналах Великобритании и Канады. Один из его участников д-р Маркус Флатер назвал их «возможно одним из самых крупных успехов в лечении сердечно-сосудистых заболеваний». Осторожную оценку по этому поводу высказал всемирно известный южноафриканский хирург Кристиан Барнард, который не исключает того, что применение клопидогрела вместе с аспирином может вызывать кровотечение.

Integrum Techno

### Эстонские врачи из Тарту утверждают, что им удалось создать вакцину против СПИДа

Испытания вакцины начались год назад, когда четырнадцать ВИЧ-инфицированным начали вводить новый препарат. В течение года пациенты находились под наблюдением врачей. Нежелательных побочных эффектов действия вакцины установлено не было.

По информации РИА «Новости», в испытаниях участвовало только пять человек. У четверых из них выработался иммунитет к вирусу СПИДа, отмечает РИА.

Испытания проводила финская биотехнологическая фирма «Fitbiotech». Как уточнили представители компании, речь идет не о предохраняющем от вируса лекарстве, а о лечебном препарате.

По мнению профессора вирусологии Тартуского университета и вице-президента фирмы «Fitbiotech» Марта Устава, позитивное влияние на здоровье ВИЧ-инфицированных оказывает даже доза в тысячу раз меньше той, на эффективность которой рассчитывали ученые. В этом заключается главная неожиданность эксперимента. Фирма «Fitbiotech» намерена достичь соглашения с Эстонией о разработке специфической вакцины против вируса типа G, наиболее распространенного в стране. «Само по себе производство вакцины не является дорогим, дорогими являются эксперименты в клинике», - отметил профессор Устав.

Предположительно, вакцина против СПИДа появится на рынке через 5 лет.

Информационное Агентство Delfi со ссылкой на Балтийское агентство новостей

### Человек не создан для жизни в XXI веке

По мнению американских исследователей, заболевания развиваются из-за того, что наш организм не способен справиться с влиянием современной жизни.

Профессор Рэндольф Несс (Randolph Nesse) уверен в том, что сердечно-сосудистые патологии, ожирение и наркомания возникают из-за того, что человеческое тело не создано для XXI века. Он предположил, что большинство серьезных болезней возникают, потому что наш организм перестал развиваться и до сих пор приспособлен для более простых условий существования.

## • НОВИНИ СВІТОВОЇ ФАРМАЦІЇ • НОВИНИ СВІТОВОЇ ФАРМАЦІЇ •

Доктор Несс, профессор психиатрии Университета штата Мичиган, является сторонником так называемой эволюционной или дарвиновской медицины. С помощью теории эволюции Дарвина Несс пытается объяснить возникновение заболеваний. Он сообщил, что ожирение, наркомания и сердечно-сосудистые патологии развиваются в западных странах из-за несоответствия нашего организма условиям окружающей среды.

«Эти патологии не развиваются у людей, которые живут более простой жизнью. Более половины пациентов оказываются в современных западных больницах, потому что их организм не соответствует условиям окружающей среды. У них возникают болезни, которых не существовало десять тысяч лет назад, когда люди жили в более естественных условиях», - сообщил Несс BBC News.

Профессор Несс полагает, что западный режим питания является одной из ключевых проблем. «Наш организм не может развиваться в современном мире, где мы можем получить все, что пожелаем. Эта вседоступность убивает нас», - сообщил он.

«Наше тело - тело человека, который привык проходить 20 миль в день в поисках еды и питья. Пища была богата клетчаткой и практически не содержала жира. Никто не страдал от избыточного веса».

По мнению профессора Несса, наш организм создан таким образом, что мы испытываем тягу к вещам, которые вредны для нас: от сигарет до жирной пищи. Проще говоря, мы не созданы для того, чтобы следовать советам, которые заставляют нас изменить образ жизни.

Эволюционная медицина также объясняет, почему некоторые болезни до сих пор существуют. Согласно дарвиновской теории, выживает наиболее приспособленный, а слабые и больные должны погибнуть.

Тем не менее, профессор Несс уверен в том, что большинство патологий необходимы. Кашель, лихорадка и диарея способствуют очищению организма от токсинов. Если бы в ходе эволюции эти признаки были уничтожены, конкуренция среди человеческой расы стала бы ужасающей.

**Британцы изобрели лекарство для повышения интеллекта**

Британские ученые испытывают лекарство, которое увеличивает интеллектуальный потенциал человека и позволяет ему дольше обходиться без сна без нарушения внимания. Как рассказали исследователи из Кембриджского университета, тесты показали, что при приеме модафинила добровольцы лучше запоминают информацию и решают поставленные перед ними задачи.

Этот препарат был изначально предложен для лечения неврологического расстройства нарколепсии, при котором пациент может внезапно засыпать в любое время, нередко при выполнении ответственной работы. Ранее препарат исследовался в применении при подобных нарушениях, и только в последнее время начали говорить о том, что он улучшает работу мозга и позволяет дольше не спать.

По словам Даньелл Тернер (Danielle Turner) с кафедры психиатрии Кембриджского университета, применение модафинила может совершить революцию в понимании механизма возникновения и сохранения воспоминаний. По всей видимости, у этого препарата есть совершенно особая точка воздействия на происходящие в человеческом мозгу процессы.

«В ходе исследования добровольцы, принимавшие модафинил, показывали более высокие результаты в нейропсихологических тестах, связанных с краткосрочной памятью, показали менее выраженные импульсивные реакции и увеличение тенденции к обдумыванию представленных задач», - заявила она. Тесты в этом исследовании представляли собой специальные компьютерные игры.

Как полагают авторы исследования, применение модафинила откроет новые горизонты в лечении нейропсихических расстройств, таких как синдром дефицита внимания и гиперактивности, при котором отмечаются нарушения памяти, расстройства функции решения задач и планирования. Кроме того, исследователи смогут получить ответы на многие загадки работы мозга человека.

**• НОВИНИ СВІТОВОЇ ФАРМАЦІЇ • НОВИНИ СВІТОВОЇ ФАРМАЦІЇ •****Инсулиновые ингаляции заменят шприцы**

Новая технология, работа над которой сейчас полным ходом идет в лабораториях одной австралийской компании, позволит совершенно по-новому подойти к введению инсулина людям, страдающим сахарным диабетом. С помощью процесса, известного как наномизация, ученым удалось получить очень мелкие частицы инсулина, превратив его фактически в «инсулиновый дым».

Эта технология была разработана специалистами мельбурнской компании «Eiffel Technologies». Под крайне высоким давлением они получали «запредельный» газ, который приобретал свойства жидкости. В этой жидкости растворяли обычный инсулин, после чего, давление резко уменьшалось. В результате образовывались частицы инсулина менее 100 нанометров в диаметре, что недоступно обычными методами размельчения.

Как объяснили ученые, в обычных условиях молекулы инсулина собираются в класте-

ры по шесть молекул. При меньшем размере частиц они будут поступать в организм в мономерной форме, что облегчает использование инсулина клетками. Опыты, проведенные на крысах в Университете Дикина (Deakin) недалеко от Мельбурна, показали, что такого инсулина требуется в три раза меньше.

В ходе опытов дозировка в 0.15 единицы на килограмм позволяла добиться такого же эффекта, как 0.5 единицы при использовании обычного инсулина. Кроме того, как отметили исследователи, препарат, полученный в процессе наномизации, характеризуется большей длительностью действия. По мнению экспертов, технология может найти применение в разработке альтернативных методов введения инсулина, таких как пластыри и ингаляции.

---

New Scientist, <http://www.lenta.ru/health>